

COVID-19 – CHOROBA WYWOŁANA ZAKAŻENIEM WIRUSEM SARS-COV-2 GLOBALNYM ZAGROŻENIEM DLA ZDROWIA PUBLICZNEGO

Elżbieta Nowakowska^{1,2}, Sylwia Sulimiera Michalak¹

¹ Katedra Farmakologii i Toksykologii, Instytut Nauk o Zdrowiu, Collegium Medicum,
Uniwersytet Zielonogórski, ul. Zyty 28, 65-046 Zielona Góra

² Katedra i Zakład Farmakoekonomiki i Farmacji Społecznej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego,
ul. Rokietnicka 7, 60-806 Poznań

Wpłynęło w maju, zaakceptowano w sierpniu 2020 r.

Streszczenie: SARS-CoV-2 to nowy koronawirus wywołujący ciężki zespół niewydolności oddechowej. Celem licznych badań jest poszukiwanie możliwości leczenia choroby wywołanej przez SARS-CoV-2 nazwanej według zaleceń WHO – COVID-19. Koronawirusy należą do rodziny Coronaviridae, rzędu Nidovirales. Naukowcy zobrazowali za pomocą technik mikroskopowych wygląd SARS-CoV-2, który ma kształt zbliżony do korony i zawiera cztery białka strukturalne S, E, M i N. Receptorem, do którego wiążą się cząstki wirusa SARS-CoV-2 jest ACE2 (enzym konwertujący angiotensynę 2). Podstawowym testem diagnozującym zakażenie jest test RT-PCR (Real time RT-PCR). Trwają poszukiwania szczepionki przeciwko SARS-CoV-2 oraz nowych terapii, które mogłyby być zastosowane w leczeniu COVID-19.

1. Wprowadzenie. 2. Epidemiologia i patogeniza choroby. 3. Budowa molekularna, podział i pochodzenie koronawirusów. 4. Receptory wiążące koronawirusy. 5. Sposoby przenoszenia infekcji. 6. Objawy i przebieg infekcji. 7. Zalecenia profilaktyczne. 8. Charakterystyka testów stosowanych w diagnostyce zakażeń wywołanych przez koronawirus SARS-CoV-2. 9. Badania nad szczepionką przeciwko wirusowi SARS-CoV-2. 10. COVID-19 – wytyczne dotyczące leczenia – poszukiwania nowych terapii. 11. Podsumowanie

COVID-19 – DISEASE CAUSED BY SARS-COV-2 INFECTION – VACCINE AND NEW THERAPIES RESEARCH DEVELOPMENT

Abstract: Severe acute respiratory syndrome coronavirus is a new infectious disease caused by a novel coronavirus (SARS-CoV-2). In February 2020 WHO renamed the disease to coronavirus disease 2019 (COVID-19). Coronaviruses belong to the family of Coronaviridae, order Nidovirales. Scientists have visualized the appearance of the SARS-CoV-2 using microscopic techniques, which has a crown-like shape and contains four structural proteins – S, E, M and N. ACE2 (angiotensin converting enzyme 2) is a receptor to which SARS-CoV-2 virus particles bind. The primary test to diagnose infection is the RT-PCR (Real time RT-PCR). Research is underway to identify vaccine against SARS-CoV-2 and therapeutic treatments for COVID-19.

1. Introduction. 2. Epidemiology and pathogenesis of the disease. 3. Molecular structure, division and origin of coronaviruses. 4. Coronavirus binding receptors. 5. Ways of transferring infection. 6. Symptoms and course of infection. 7. Preventive recommendations. 8. Characteristics of tests used to diagnose infections caused by SARS-CoV-2 coronavirus. 9. Studies on a vaccine against SARS-CoV-2 virus. 10. COVID-19 – treatment guidelines – seeking new therapies. 11. Summary

Słowa kluczowe: badania nad szczepionką, COVID-19, epidemiologia choroby, nowe terapie, SARS-CoV-2

Key words: vaccine prognosis, COVID-19, epidemiology, therapeutic development, SARS-CoV-2

1. Wprowadzenie

Wybuch epidemii wywołany przez SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*) powodujący ostry zespół zapalenia płuc [41] skłania badaczy z wielu krajów do intensywnych badań nad rozpoznaniem biologii, patogenyzy oraz dróg transmisji tego wirusa. Trwają intensywne prace zmierzające do opracowania szczepionki, a także poszukiwania nowych leków stosowanych osobno lub w kombinacji, które mogłyby być skuteczne w zwalczaniu objawów choroby nazwanej według zaleceń WHO – COVID-19 (*Coronavirus Disease 2019*) [83].

2. Epidemiologia i patogeniza choroby

Pierwsze zachorowania wywołane nowym rodzajem koronawirusa SARS-CoV-2 pojawiły się w mieście Wuhan prowincji Hubei w Chinach w listopadzie 2019 r. Wirus okazał się wysoce zakaźny i szybko rozpowszechnił się w wielu rejonach świata osiągając rozmiary pandemii, którą Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) ogłosiła 11 marca 2020 r. [84]. W Polsce zidentyfikowano zakażenia w wielu miejscach równocześnie, a historia epidemiologiczna wskazuje na niezależny transfer wirusa z kilku krajów [63]. Aktualne dane dotyczące liczby potwierdzonych przypadków

* Autor korespondencyjny: prof. dr hab. Elżbieta Nowakowska, Katedra i Zakład Farmakoekonomiki i Farmacji Społecznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego, ul. Rokietnicka 7, 60-806 Poznań; tel. 61 845 26 80; e-mail: elapharm@poczta.onet.pl

i zgonów, dane demograficzne i epidemiologiczne dotyczące pandemii dostarcza strona internetowa Worldometers [88]. Międzynarodowy Komitet ds. Taksonomii Wirusów (ICTV) określił nowo rozpoznanego wirusa – koronawirusem zespołu ciężkiej niewydolności oddechowej 2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*): SARS-CoV-2.

Według raportów WHO, śmiertelność osób z rozpoznaniem COVID-19 częściej występuje u osób w podeszłym wieku, z chorobami współistniejącymi takimi jak przewlekła obturacyjna choroba płuc, cukrzyca, nadciśnienie tętnicze, choroba wieńcowa, wirusowe zapalenie wątroby typu B, otyłość, choroby nowotworowe, przewlekła choroba nerek [26]. Zakażenia wirusem SARS-CoV-2 są wyjątkowo niebezpieczne dla osób z obniżoną odpornością [6]. Niektóre dane wskazują, że osoby palące gorzej przechodzą infekcję, niż osoby niepalące [26], chociaż ostatnio tego rodzaju doniesienia są kwestionowane. Prawdopodobnie częściej na COVID-19 chorują i umierają mężczyźni niż kobiety. Badania opublikowane w *European Heart Journal* [65] wykazały, że mężczyźni mają wyższe stężenie we krwi enzymu konwertującego angiotensynę (ACE2 – który jest receptorem dla wirusa) niż kobiety, stąd mogą być bardziej narażeni na zakażenie wirusem SARS-CoV-2. Warto dodać, że ACE2 jest aktywnym homologiem ACE utrzymującym równowagę układu renina-angiotensyna. Doniesienia literaturowe wskazują, że zmiany dotyczące ACE2 mogą być odpowiedzialne za występowanie wielu chorób m.in. nadciśnienia tętniczego [90]. Inne badania wskazały na jego rolę prewencyjną. Imai [37] stwierdził, że ACE2 chroni myszy przed ciężkim, ostrym uszkodzeniem płuc wywołanym przez aspirację kwaśnej treści, czy sepsę. Natomiast badania Kuba [40] przeprowadzone na mysim modelu infekcji wirusem SARS-CoV wskazały na obniżony poziom ACE2 w tkance płuc myszy. Autorzy sugerują, że obserwowany obniżony poziom ACE2 może być również przyczyną ostrych objawów płucnych występujących u pacjentów zakażonych wirusem SARS-CoV-2. Wiadomo, że ACE2 występuje w płucach, sercu, nerkach, tkance wyściełającej naczynia krwionośne, a także w jądrach [20]. Potwierdzono istotnie wyższe stężenie ACE2 w osoczu mężczyzn niż kobiet [65], co może sugerować większą podatność mężczyzn na zakażenie SARS-CoV-2. Należy jednak dodać, iż opisanych oznaczeń dokonano w osoczu, a nie w tkance płucnej. Różnice dotyczące przebiegu choroby COVID-19 u mężczyzn i kobiet można także tłumaczyć obecnością genu kodującego receptor ACE2 na chromosomie X. Kobiety mają dwa chromosomy X, stąd mogą być może zrekompensować ciężki przebieg choroby. Badania przeprowadzone na myszach wskazały także na prewencyjne działanie estrogenów na zakażenie wywołane wirusem SARS-CoV-2 [70]. Cytowane wyżej kontrowersyjne doniesienia wskazują jak wiele wyników

dotyczących zakażenia wirusem SARS wymaga potwierdzenia i dalszych obserwacji klinicznych.

U dzieci zakażenie wirusem SARS-CoV-2 może przebiegać bezobjawowo, ale mogą one przenosić zakażenie [1]. W Stanach Zjednoczonych w ostatnim czasie stwierdzono śmierć 5 letniego dziecka z powodu tajemniczych objawów nazwanych „pediatrycznym wieloukładowym zespołem zapalnym”. Podobne przypadki obserwowano także w Wielkiej Brytanii, Włoszech i Hiszpanii. Zdaniem amerykańskich medyków tajemnicze schorzenie uszkadza wiele narządów, zaburza czynność serca. Lekarze próbują ustalić, czy obserwowany u dzieci syndrom jest powiązany z zakażeniem wirusem SARS-CoV-2. Epidemiolodzy nie potwierdzają również, że przechorowanie COVID-19 pozostawia odporność. Dotychczas opisano trzy przypadki powtórnego wystąpienia infekcji u pacjentów uznanych za wyleczonych [20]. Eksperci w dziedzinie chorób zakaźnych uważają, że u ludzi zakażonych koronawirusem powtórna infekcja wirusowa nie powinna się zdarzyć. Może się jednak okazać, że pacjent nie wytwarza wystarczającej liczby przeciwciał, co powoduje, że jest bardziej podatny na ponowną infekcję. Istnieją również ograniczone dowody naukowe na temat ciężkiego przebiegu choroby COVID-19 u kobiet w ciąży oraz brak dowodów na to, że zakażenie tą chorobą ma negatywny wpływ na płód. Do tej pory niewiele wiadomo o wpływie infekcji na przebieg ciąży i nienarodzone dziecko [9].

Lekarze zadają sobie także pytanie, dlaczego osoby młode bez chorób przewlekłych radzą sobie lepiej z infekcją niż osoby starsze, jednakże to pytanie w obecnej chwili pozostaje również bez odpowiedzi. Tego rodzaju doniesienia wskazują jak wiele jest jeszcze niewiadomych jeśli chodzi o chorobę wywołaną zakażeniem wirusem SARS-CoV-2.

Dotychczas potwierdzono, że koronawirus SARS-CoV-2 wywołuje zespół ciężkiej, ostrej niewydolności oddechowej oraz powoduje uszkodzenia wielu narządów (płuc, mięśnia sercowego, nerek). Zakażenie może wywołać objawy chorobowe ze strony układu pokarmowego (zapalenie żołądka, jelit), czy też zmiany w układzie nerwowym [77]. Dotychczasowe badania wskazują, że wirus może zainfekować konkretne komórki w nosie, płucach, czy w jelitach. Okazało się, że w jamie nosowej komórkami, w których dochodzi do ekspresji RNA dla ACE2 i TMPRSS2 (Transmembrane Serine Protease 2) są komórki kubkowe. W płucach ekspresja RNA do obu protein zachodzi w pneumocytach typu 2. Natomiast w jelitach do ekspresji RNA dochodzi w erytrocytach, które obok komórek kubkowych i endokrynowych budują nabłonek błony śluzowej jelita cienkiego [94]. U chorych z COVID-19 często obserwuje się wysoki poziom cytokin, interleukin, obniżony poziom limfocytów oraz zaburzenia krzepliwości i uszkodzenia naczyń krwionośnych [89].

3. Budowa molekularna, podział i pochodzenie koronawirusów

Wirus SARS-CoV-2 należy do grupy koronawirusów [96], które są jednymi z największych wirusów RNA. Koronawirusy wykazują tropizm do komórek nabłonkowych dróg oddechowych [73]. Genomem SARS-CoV-2 jest jednociowy RNA zapisany w sekwencji 29891 nukleotydów, które kodują 9860 aminokwasów. Koronawirusy należą do rodziny Coronaviridae rzędu Nidovirales i dzielą się na 4 rodzaje [53] alfa-, beta-, gamma- i delta-koronawirusy [12]. W obrębie poszczególnych rodzajów wyodrębniono na podstawie różnic genetycznych niektóre podgrupy np. w obrębie beta koronawirusów różnicuje się podgrupy A, B, C, D [1]. Uważa się, że wariant A jest najwcześniejszy, genetycznie najbliższy koronawirusowi bytującemu w nietoperzach. Obecnie twierdzi się, że rezerwuarem ludzkich koronawirusów są nietoperze [29, 77]. Od nich zakażenie przeniosło się prawdopodobnie na łaskuny palmowe, a następnie wirus przeniósł się na człowieka i wywołał epidemię w Wuhanie [25, 72]. Natomiast Gliński twierdzi, że wirus może przenosić się z nietoperzy na ludzi i nie musi wykorzystywać gatunków pośrednich (cywety) [23]. Aktualnie uważa się, że koronawirus SARS-CoV-2 jest rekombinacją dwóch wirusów, jednego podobnego genomem do RaTG13 wyizolowanego z nietoperzy, drugiego odkrytego u łuskowców [95].

Podgrupy A, B, C – to odmiany SARS-CoV-2, które wywołały pandemię choroby COVID-19.

Dr Xiaolu Tang [71] z uniwersytetu w Pekinie badając genomy wirusów pobranych od osób zakażonych SARS-CoV-2 stwierdził istnienie dwóch typów wirusa. Typ L (nazwa pochodzi od leucyny) replikuje szybciej, jest bardziej agresywny, rozprzestrzenia się szybko i podlega mutacji. Uważa się, że typ L to pochodna starszego typu S. Typ S (nazwa pochodzi od seryny) jest mniej agresywny, namnażał się prawdopodobnie przy słabszej presji selekcyjnej i być może przeniósł się ze zwierząt na ludzi. Możliwe, że oba typy są odpowiedzialne za obecną pandemię. Pierwsze koronawirusy wywołujące infekcje u ludzi zidentyfikowano już w latach 60 XX wieku, ale nie prowadzono szczegółowych badań nad poznaniem ich biologii.

W 2002 r. w chińskiej prowincji Guangdong zidentyfikowano wirus SARS-CoV, który był odpowiedzialny za wywołanie ciężkiej niewydolności oddechowej i spowodował dużą liczbę zgonów [60]. W 2012 r. odkryto nowe przypadki choroby układu oddechowego wywołanej przez koronawirus MERS-CoV, który był pierwszym patogenem człowieka należącym do linii C-beta koronawirusów i odpowiadał za ciężkie, zagrażające życiu objawy zapalenia płuc [1].

Liczne badania naukowe potwierdziły, że zachorowania u ludzi wywołują alfa (HCoV-229E, HCoV-

-NL63) i beta koronawirusy (HCoV-OC43, HCoV-HKU1, HCoV-2) [36, 81]. Nowy beta koronawirus SARS-CoV-2 jest spokrewniony z wirusem SARS-CoV, jak również MERS-CoV [22, 93], ale obraz kliniczny choroby COVID-19 wywołanej przez wirus SARS-CoV-2 jest odmienny [58].

Naukowcy z Rocky Mountain Laboratory zobrazowali za pomocą technik mikroskopowych wygląd koronawirusa SARS-CoV-2, który jest odpowiedzialny za wystąpienie choroby COVID-19. Stwierdzono, że ma kształt zbliżony do kulistego, z białkową otoczką z wypustkami, wyglądem przypomina koronę słoneczną [74]. Korona wirusa zawiera wystające na powierzchni „kolce” składające się z glikoproteiny S, która zawiera dwa typy podjednostek S1 i S2. Od glikoproteiny S zależy wnikanie wirusa do wnętrza komórek nabłonkowych dróg oddechowych [81]. Koronawirus zbudowany jest z czterech białek strukturalnych [1, 77, 87] – białka szczytowego – „spike” (S), białka otoczki (E), białka błonowego (M) i białka nukleokapsydu (N). Białko fuzyjne S – „spike”, zwane białkiem kolca jest odpowiedzialne za interakcję cząstek wirusa z receptorem, za fuzję z błoną pęcherzyków endocytarnych [1] oraz odgrywa istotną rolę w procesie wnikania wirusa do komórek gospodarza [1, 49]. Białko nukleokapsydu (N) chroni cząsteczkę RNA, która bierze udział w modyfikacji procesów komórkowych i replikacji wirusa. Białko E odpowiada za formowanie wirionów. Białko błonowe, inaczej membranowe (M) odpowiedzialne jest za kształtowanie osłonki wirusowej. Receptorem, do którego wiążą się cząstki wirusa SARS-CoV-2 jest enzym konwertujący angiotensynę 2 (ACE2) [17]. Po połączeniu się SARS-CoV-2 z receptorem ACE2, wirus wnika do komórki gospodarza na drodze endocytozy [14, 15, 35, 43–48, 82].

Jak wspomniano białko fuzyjne S wirusa odgrywa kluczową rolę w procesie wnikania wirusa SARS-CoV-2 do komórek gospodarza [49]; glikoproteina S1 łączy się z receptorem ACE2, w wielu tkankach, głównie w płucach [91], natomiast proces wewnątrzkomórkowej fuzji osłonki wirusa wymaga aktywacji glikoproteiny S2 za pomocą cięcia enzymatycznego przez TMPRSS2, katepsynę lub furynę [55].

Wielu badaczy sądzi, że jeśli uda się zablokować enzym proteazy serynowej kodowany przez gen TMPRSS2, to być może okaże się to jednym ze sposobów pozwalających leczyć pacjentów zakażonych SARS-CoV-2 [31, 33]. Tą hipotezę mogą potwierdzać dotychczasowe wyniki badań dotyczące mesylanu kamostatu – leku zatwierdzonego do stosowania w Japonii u ludzi w przewlekłym zapaleniu trzustki [17], który jest inhibitorem TMPRSS2 i blokuje komórkowe wejście wirusa SARS-CoV-2. Poszukiwanie inhibitorów TMPRSS2 może budzić nadzieję na ich zastosowanie w blokowaniu zakażenia SARS-CoV-2.

4. Receptory wiążące koronawirusy

Koronawirusy wykorzystują różne receptory komórkowe, co stało się podstawą do ich podziału na grupy, np. alfakoronawirus – HCoV-229E wykorzystuje aminopeptydazę N, betakoronawirusy – HCoV-SARS ludzką ACE2, a HCoV-MERS – dipeptylopeptydazę 4 [1]. Receptorem dla SARS-CoV-2 jest białko ACE2 – enzym konwertujący angiotensynę typu 2 [73, 77, 86, 91]. Częstka koronawirusa SARS-CoV-2 wiąże się z receptorem ACE2 celem wniknięcia do komórek gospodarza powodując zakażenie. Ostatnio wykazano wysoki poziom ekspresji ACE2 w przewodach nasiennych jąder [50] oraz w jelicie grubym pacjentów z aktywnym, nieswoistym zapaleniem jelit. Wykazano też większą ekspresję ACE2 w drogach oddechowych aktualnych palaczy i osób z POChP [42]. Białko ACE2 najliczniej jest reprezentowane w płucach na pneumocytach typu II [91], co tłumaczy ciężki przebieg choroby w przypadku zakażenia SARS-CoV-2. Obecność receptorów ACE2 w komórkach mięśnia sercowego, w komórkach nerek, czy śródbłonku naczyń, może uzasadniać uszkodzenia tych narządów w przebiegu choroby COVID-19. Należy rozważyć, czy u pacjentów zakażonych wirusem SARS-CoV-2, którzy stosują leki z grupy inhibitorów konwertazy angiotensyny lub blokery receptora angiotensyny zakażenie wirusem może mieć cięższy przebieg. Zakładając, że wirus SARS-CoV-2 wiąże się z receptorem ACE2 [13, 21], a leki stosowane w niewydolności serca czy w nadciśnieniu tętniczym (inhibitory konwertazy angiotensyny i sartany) powodują wzrost ekspresji mRNA, oraz wzrost aktywności ACE2 w komórkach mięśnia sercowego, to pacjenci stosujący wymienione terapie są w grupie ryzyka, a zakażenie wirusem mógłby powodować cięższy przebieg COVID-19 [19]. Analizę poglądów na temat stosowania inhibitorów konwertazy angiotensyny oraz sartanów dostarczają prace prof. Franza Messerli [5]. Badania na modelach zwierzęcych wykazały, że zastosowanie inhibitorów konwertazy angiotensyny oraz sartanów może powodować zwiększoną ekspresję ACE2 w różnych tkankach [5], co stało się podstawą spekulacji, że zwiększona ekspresja ACE2 może ułatwić wnikanie wirusa SARS-CoV-2 do komórek i powodować cięższy przebieg COVID-19. Warto dodać, że mechanizm potencjalnego wpływu inhibitorów konwertazy angiotensyny i sartanów na ekspresję ACE2 nie został jak dotychczas zadawalająco wyjaśniony, a cytowane doniesienia dotyczą badań *in vitro* i nie znalazły potwierdzenia w obserwacjach klinicznych. Uważa się wręcz, że odstąpienie sartanów czy inhibitorów konwertazy angiotensyny, które są podstawowymi lekami stosowanymi w niewydolności serca czy nadciśnieniu tętniczym zagraża życiu pacjenta. Jak dotychczas brak także danych, które pozwalają ocenić zmiany ekspresji ACE2 w płucach chorych leczonych

inhibitorami konwertazy angiotensyny czy sartanami, a dotychczasowe wyniki nie wskazują, aby terapia wymienionymi lekami wpływała też na stężenie białka ACE2 wydalanego z moczem [69]. Obecnie nie ma wystarczających danych naukowych świadczących o tym, że nadciśnienie tętnicze wiąże się ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na COVID-19, stąd leczenie z użyciem inhibitorów konwertazy angiotensyny należy kontynuować zgodnie z wytycznymi. Warto zwrócić uwagę na związek polimorfizmu genu ACE2 z chorobami układu krążenia [79]. Polimorfizm insercyjno-delecyjny (I/D) genu kodującego konwertazę angiotensyny może w istotny sposób wpływać na rozwój choroby niedokrwiennej serca [39]. Można przypuszczać, że współistniejące inne czynniki ryzyka np. czynniki środowiskowe, mogą mieć też znaczenie dla ryzyka zakażenia wirusem SARS-CoV-2 i ciężkiego przebiegu choroby COVID-19. Ostatnie doniesienia wskazują, że antagoniści receptora angiotensyny (losartan, walsartan) mogą blokować przyłączanie cząstki wirusa SARS-CoV-2 do komórek ekspresyjujących ACE2, hamując w ten sposób możliwość infekcji gospodarza [18, 30].

5. Sposoby przenoszenia infekcji

Uważa się, że koronawirus SARS-CoV-2 przenosi się drogą kropelkową z człowieka na człowieka. Najnowsze wyniki badań sugerują, że koronawirus SARS-CoV-2 może przenosić się również drogą fekalno-oralną [92]. Zakażenie COVID-19 jest możliwe przez dotknięcie powierzchni, czy przedmiotu, na którym znajduje się wirus i w następstwie dotknięcie ust, nosa, czy oczu. Koronawirusy mogą pozostać zakaźne na powierzchniach nieożywionych nawet 3 dni [38, 75]. Stwierdzono, że najwyższe ryzyko transmisji choroby to wczesny etap infekcji. Okres inkubacji SARS-CoV-2 wynosi od 2–14 dni przed wystąpieniem objawów, mediana okresu inkubacji choroby 5,1 dnia [54], a pacjenci mogą pozostawać zakaźni do dwóch tygodni od ustąpienia objawów, stąd zalecany przez WHO 14 dniowy okres izolacji można uznać za wystarczający.

6. Objawy i przebieg infekcji

Do typowych objawów choroby należą: gorączka, suchy kaszel, duszność, zmęczenie, ból mięśni [8]. W ciężkich przypadkach obserwowano odkształcenie krwi, biegunkę, nudności i wymioty, niewydolność nerek, uszkodzenie wątroby. Mogą też wystąpić nietypowe objawy takie jak zaburzenia węchu i smaku [26]. W poważnych przypadkach rozwija się ARDS (acute respiratory distress syndrome – zespół ostrej niewydolności oddechowej) często prowadzący do śmierci.

W badaniach laboratoryjnych stwierdza się spadek liczby leukocytów, podwyższone stężenia CRP, ALAT, ASPAT, kinazy kreatynowej, D-dimerów. Około 80% zakażeń ma łagodny przebieg, u 5% stwierdza się stan ciężki (niewydolność oddechowa, wstrząs septyczny), u 2% przypadków zakażenie wirusem SARS-CoV-2 kończy się śmiercią. Przyczyną zgonu jest najczęściej ciężka niewydolność oddechowa powstająca w wyniku ostrej reakcji zapalnej organizmu – walki pomiędzy wirusem, a układem odpornościowym [4].

7. Zalecenia profilaktyczne

Do podstawowych metod prewencji należą – właściwa higiena, częste mycie rąk, noszenie maseczek, utrzymanie dystansu z osobami manifestującymi objawy grypopodobne. Koronawirusy są wrażliwe na większość środków dezynfekcyjnych [73], stąd ich stosowanie powinno być powszechne. W przypadku kontaktu z osobami, u których potwierdzono COVID-19, należy poddać się bezwzględnej kwarantannie.

8. Charakterystyka testów stosowanych w diagnostyce zakażeń wywołanych przez koronawirus SARS-CoV-2

Biorąc pod uwagę nieswoiste objawy kliniczne często towarzyszące COVID-19 rozpoznanie zakażenia wirusem SARS-CoV-2 bez badań laboratoryjnych nie jest możliwe. Obecnie wykorzystuje się testy molekularne (genetyczne) oraz testy serologiczne (immunologiczne). Standardową metodą diagnozowania zakażenia zalecaną przez WHO jest test reakcji łańcuchowej polimerazy z odwróconą transkrypcją RT-PCR „real-time RT-PCR”. Test jest wykonywany z wymazu nosowo gardłowego lub z próbki płwociny. W toku badania przeprowadza się amplifikację dwóch lub trzech genów wspólnych dla podrodzaju Sarbecovirus (gen E) oraz charakterystycznych wyłącznie dla SARS-CoV-2 (N, RdRp lub ORF1ab). Celem potwierdzenia obecności koronawirusa należy wykazać ekspresję genów [85]. Opisana metoda jest czuła ze względu na wykrywanie sekwencji kwasu nukleinowego istotnego dla wirusa SARS-CoV-2. Testy genetyczne, mimo że są specyficzne mogą dać wynik ujemny we wczesnym stadium infekcji, ponieważ wynik zależy od fazy zakażenia, od sposobu pobrania materiału i jego rodzaju. Należy pamiętać, że maksymalna czułość metody jest uzyskiwana po 7 dniach od kontaktu człowieka z SARS-CoV-2 [62].

Innymi metodami pozwalającymi na wykrycie zakażenia SARS-CoV-2 są testy serologiczne oparte na wykrywaniu w surowicy ludzkiej przeciwciał swoistych klasy IgM, IgG, IgA, które zostały wyprodukowane przez

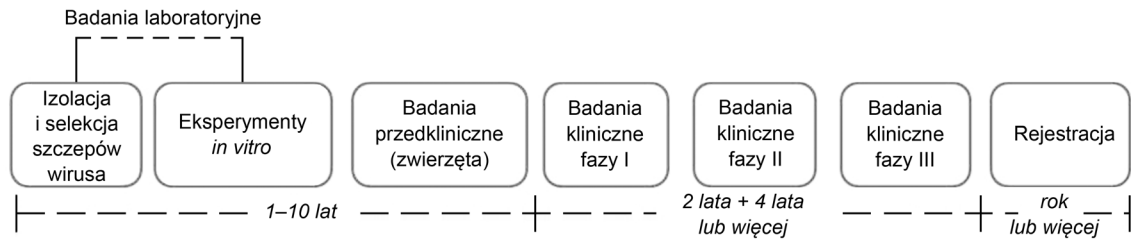
organizm człowieka po kontakcie z antygenami wirusa. Przydatność testów serologicznych wykrywających przeciwciała warunkowana jest dynamiką pojawiania się odpowiedzi humoralnej. Wykrycie przeciwciał anty-SARS-CoV-2 klasy IgM jest możliwa po 10 dniach od wystąpienia pierwszych objawów klinicznych, a przeciwciał klasy IgG jeszcze później [76], stąd we wczesnej diagnostyce zakażenia SARS-CoV-2 testy serologiczne są mniej przydatne niż testy typu RT-PCR ze względu na okres potrzebny do wygenerowania serokonwersji, natomiast mogą znaleźć zastosowanie w retrospektywnych badaniach epidemiologicznych. Obecnie dostępnych jest także szereg testów immunochromatograficznych, chemiluminescencyjnych oraz testów immunoenzymatycznych ELISA różnych producentów przeznaczonych do diagnostyki COVID-19. Do tej pory testy serologiczne nie mają rekomendacji WHO [62].

Warto zaznaczyć, iż 200 ośrodków na świecie prowadzi badania nad niekomercyjnym testem immunologicznym nazwanym testem Krammera, który ma wykazać czy osoba miała kontakt z wirusem SARS-CoV-2. Prototyp tego testu stworzył austriacki wirusolog prof. Florian Krammer z Icahn School of Medicine at Mount Sinai w Nowym Jorku i przekazał klucz 200 ośrodkom naukowym na całym świecie w celu stworzenia repliki [3]. Ten test prawdopodobnie pozwoli określić, czy przeszliśmy zakażenie, nawet jeśli było ono bezobjawowe, czy jesteśmy podatni na zachorowanie i czy stanowimy potencjalne źródło zakażenia dla innych. Warto zaznaczyć, że zarówno testy genetyczne jak i immunologiczne są wobec siebie komplementarne i absolutnie niezbędne dla skutecznej walki z pandemią.

9. Badania nad szczepionką przeciwko wirusowi SARS-CoV-2

Dotychczas brak jest szczepionki przeciw SARS-CoV-2, żadna szczepionka nie została w pełni przetestowana pod kątem skuteczności i bezpieczeństwa. Opracowanie szczepionki jest procesem długim i złożonym obejmującym wiele etapów (izolacja i selekcja szczepów wirusa, eksperymenty *in vitro*, badania przedkliniczne na zwierzętach, próby kliniczne i procedury rejestracyjne). Ryc. 1 przedstawia uproszczony proces opracowywania szczepionek [opracowanie własne na podstawie 53]

W Unii Europejskiej nadzór nad szczepionkami prowadzi Europejska Agencja Leków (EMA), która wydaje zalecenia dotyczące produktów biologicznych stosowanych na arenie międzynarodowej. W Polsce za kontrolę i nadzór nad szczepionkami odpowiada Główny Inspektorat Farmaceutyczny (GIF) oraz Główny Inspektorat Sanitarny (GIS).



Ryc. 1. Uproszczony proces opracowywania szczepionek

Szczepionki podlegają stałemu nadzorowi, także po wprowadzeniu do obrotu rynkowego. Jak dotąd bada się 115 szczepionek kandydackich na COVID-19, dla 5 rozpoczęto badania kliniczne I–II fazy z udziałem ochotników, a dla 6 badania fazy I [32]. Jak dotychczas rozpoznano miejsca wnikania wirusa SARS-CoV-2 do komórki gospodarza, które mogą być ewentualnie wykorzystane do opracowania szczepionki [2].

Naukowcy z Chin, USA, Australii pracują nad szczepionką, która ma celować w białko S, które jak wiadomo jest odpowiedzialne za łączenie się wirusa z receptorem ACE2, czyli ma zapobiegać jego fuzji do komórek gospodarza hamując infekcję przez stymulację układu odpornościowego. Amerykański National Instytut of Health rozpoczął pierwszą fazę badań klinicznych nad szczepionką zawierającą mRNA-1273 opartą o zsyntetyzowany mRNA, który zbliżony jest do mRNA wirusa SARS-CoV-2. Po podaniu szczepionki powinno dojść do ekspresji białka S i produkcji przeciwciał przeciwko temu białku. Nad szczepionką pracuje zespół naukowców z National Institute of Allergy and Infectious Diseases przy współpracy z firmą biotechnologiczną Moderna z siedzibą w Cambridge [51]. Ministerstwo Nauki i Technologii Chińskiej Republiki Ludowej [10] powołało krajowe jednostki celem prowadzenia badań w ramach kilku równoległych szlaków technologicznych: szczepionki inaktywowanej, rekombinowanej, szczepionki zmodyfikowanej genetycznie. Do badań klinicznych dopuszczono kandydata na szczepionkę Ad5-nCoV, którą opracowało chińskie konsorcjum Cansino Biological. Preparat opiera się na zmodyfikowanym genetycznie szczepie adenowirusa typu 5, w którego genom wkomponowano sekwencję kodującą białko S [56].

Inne szczepionki weszły już w fazę badań nad bezpieczeństwem i skutecznością na modelach zwierzęcych, ale tylko nieliczne będą wprowadzone w fazę badań klinicznych.

10. COVID-19 – wytyczne dotyczące leczenia – poszukiwania nowych terapii

Dotychczas brak celowanych metod leczenia COVID-19. U chorych stosuje się terapię przeciwwirusową oraz leczenie objawowe i wspomagające (środki

przeciwgorączkowe, przeciwzapalne i rozszerzające oskrzela), terapię płynową, a w obecności współzakażenia bakteryjnego stosuje się antybiotyki. W ciężkich przypadkach chorym podaje się tlen i stosuje się podłączenie do respiratorów. Trwają poszukiwania leków lub ich kombinacji, które mogą być przydatne w leczeniu COVID-19. W 2020 r. badacze z Chin [27, 28, 66] opublikowali wyniki badań wskazujące na możliwą skuteczność niektórych leków przeciwwirusowych i dokonali ich podziału ze względu na mechanizm działania – camostat mesilate (hamowanie uwalniania wirusa z kapsydu), chlorochina, hydroksychlorochina (o działaniu przeciwzapalnym i immunomodulującym), arbidol (zapobieganie interakcji wirusa z powierzchnią komórki), rybawiryna, remdesivir i fawipirawir (hamowanie wirusowego RNA), tocilizumab, sarilumab (hamowanie odpowiedzi immunologicznej przez wiązanie z receptorami IL-6 lub z czynnikiem TNF-beta), lopinawir/rytonawir (współdziałanie z wytwarzaniem peptydów tworzących kapsyd) [80]. Należy jednak rozważyć dalszą ocenę ewentualnej skuteczności terapeutycznej oraz bezpieczeństwa stosowania rekomendowanych leków w badaniach klinicznych.

Jak dotychczas najmniej skuteczne okazały się rybawiryna i fawipirawir [59]. Badania przedkliniczne wskazały na duży potencjał remdesiviru, analogu adenozyiny – leku przeciwwirusowego, który był stosowany w infekcjach wywołanych przez MERS-CoV i SARS-CoV. Badania przeprowadzane na myszach zarażonych wirusem MERS-CoV wykazały, że remdesivir poprawiał zmiany w płucach wywołane wirusem, ale nie wpływał na zmniejszenie replikacji wirusa [67, 68]. Obecnie zakończono III fazę badań klinicznych dotyczącą stosowania remdesiviru w gorączce Ebola. Jak dotychczas opublikowano pojedyncze badania sugerujące poprawę stanu pacjentki z COVID-19 po zastosowaniu remdesiviru [34]. Natomiast badania Graina [24] nie potwierdziły danych o jego skuteczności. Obecnie nie zaleca się jego rutynowego stosowania [54], chociaż 18 maja 2020 r. Europejska Agencja Leków zapewniła, że remdesivir zostanie zatwierdzony w ramach tzw. szybkiej ścieżki rejestracyjnej i może okazać się standardem w leczeniu COVID-19 [16, 57].

Niektóre badania wskazywały, że chlorochina (Arechin) i hydroksychlorochina (Plaquenil), które dotych-

czas stosowano jako leki przeciwmalaryczne w leczeniu chorób autoimmunologicznych oraz w reumatoidalnym zapaleniu stawów mogą być skuteczne w leczeniu zakażenia SARS-CoV-2 [21]. W Chinach włączono hydrochlorochinę do zaleceń dotyczących zapobiegania i leczenia choroby wywołanej przez koronawirusa SARS-CoV-2.

W Polsce Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych wydał pozytywną decyzję dla produktu leczniczego Arechin (*Chloroquini phosphas*) polegającą na dodaniu nowego wskazania terapeutycznego „leczenie wspomagające w zakażeniach koronawirusami typu beta” i jest obecnie stosowany tylko u chorych hospitalizowanych. Ostatnio eksperci WHO przestrzegają przed stosowaniem chlorochiny i hydrochlorochiny u pacjentów z COVID-19, zaznaczając, że skuteczność tych środków przeciwko koronawirusowi nie została dotąd udowodniona. FDA odradza stosowania chlorochiny lub hydroksychlorochiny w przypadku zakażenia COVID-19 z wyjątkiem przypadków ograniczonych do leczenia szpitalnego lub prowadzenia badań klinicznych.

Niektóre doniesienia wykazały, że azytromycyna dodana do hydroksychlorochiny poprawiła jej skuteczność w eliminacji wirusa [21]. Azytromycyna jest antybiotykiem stosowanym w leczeniu zakażeń dróg oddechowych, wykazuje działanie przeciwzapalne. Przypuszcza się, że azytromycyna może tłumić nadmierną odpowiedź immunologiczną na zakażenie. Najnowsze badania nie potwierdziły jednak korzyści klinicznych ze stosowania tych kombinacji leków [16], a ich stosowanie może być wręcz niebezpieczne (zaburzenia rytmu serca).

Na dzień dzisiejszy nie zaleca się również powszechnego stosowania favipiraviru, ograniczając jego użycie tylko do badania klinicznego [54]. Duże nadzieje pokładano na stosowanie w terapii COVID-19 kombinacji leków lopinawir + rytonawir (Kaletra). Złożony preparat zawiera inhibitory proteazy HIV i dotychczas stosowany był w zakażeniu wirusem HIV [52]. Inne doniesienia sugerują, że dodanie do tej kombinacji leków interferonu beta [36] może być jedną z terapii antywirusowych, która obecnie jest testowana jako potencjalnie skuteczna w zakażeniu wirusem SARS-CoV-2. Wydaje się jednak, że wykorzystanie interferonu do leczenia COVID-19 może budzić wątpliwości, ponieważ interferon prawdopodobnie aktywuje geny, które pozwalają komórkom zwalczać infekcje, ale może także między innymi wywołać zapalenie płuc. Konieczne więc jest przeprowadzenie wielośrodkowych badań klinicznych potwierdzających skuteczność interferonu w COVID-19. Opublikowano też wiele badań obserwacyjnych dotyczących zastosowania kortykosteroidów w leczeniu zapalenia płuc wywołanych przez koronawirusy, ale dotyczyło to pacjentów o ciężkim przebiegu choroby. Stwierdzono

m.in. iż włączenie u pacjentów z ostrym syndromem zapalenia płuc dexametazonu może złagodzić objawy choroby i zmniejszyć śmiertelność [78].

Li [43] badał wpływ glikokortykoidów na klirens wirusa, twierdząc że niskie i średnie dawki glikokortykoidów nie skracały mediany czasu eradykacji kwasu nukleinowego wirusa i mediany czasu potrzebnego do poprawy obrazu klinicznego płuc chorych na COVID-19 [61]. Należy wyraźnie podkreślić, że dotychczas nie ma potwierdzonych badań klinicznych z grupą kontrolną odnoszących się do stosowania kortykosteroidów u pacjentów z COVID-19 [54].

Nie ma także przekonujących dowodów naukowych, że terapia dużymi dawkami witaminy C ma znaczenie w leczeniu pacjentów z COVID-19 [11].

Kolejny sugerowany typ terapii, który pozostaje jeszcze w fazie projektowania to zastosowanie leków blokujących działanie proteazy (M^{pro} main protease) wirusa SARS-CoV-2. Badania nad inhibitorami tego enzymu prowadzą aktualnie międzynarodowe grupy badawcze [64].

Ostatnio Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków (Food and Drug Administration) zatwierdziła do leczenia COVID-19 preparaty z osocza pozyskane od osób, które przeszły zakażenie koronawirusem. Plazmaferaza rekonwalescencyjna (CPT) ma umożliwić pacjentowi uzyskanie biernej odporności i usunięcie patogenów z krążenia [7]. FDA rekomenduje wykorzystanie CPT tylko w przypadku ostrego przebiegu COVID-19.

Obecnie trwają intensywne badania kliniczne w Chinach nad nowymi lekami – głównie preparatami tradycyjnej medycyny chińskiej, lekami przeciwwirusowymi, lekami do immunoterapii (interferon, tymozyna, immunoglobulina, inhibitory PD-1) [54].

Europejska Agencja Leków zapowiada w przyspieszonym tempie rejestrację substancji przydatnych w leczeniu COVID-19 bazujących między innymi na przeciwciałach monoklonalnych. WHO ogłosiła, że obecnie nie ma leku przebadanego klinicznie, który byłby skuteczny w leczeniu zakażeń koronawirusem SARS-CoV-2.

11. Podsumowanie

SARS-CoV-2 to nowy wirus z grupy koronawirusów wywołujący ostry zespół niewydolności oddechowej. Dotychczas ukazało się wiele doniesień naukowych na temat pochodzenia wirusa SARS-CoV-2, jego ewolucji, wpływu zakażenia na przebieg choroby COVID-19, a także diagnostyki choroby, prewencji czy metod stosowanych w łagodzeniu infekcji. Niestety na chwilę obecną brak szczepionki, oraz celowanego, potwierdzonego klinicznie leczenia COVID-19.

Trwają intensywne poszukiwania nowych terapii, które mogłyby być zastosowane w leczeniu zakażenia wywołanego przez SARS-CoV-2. Ostatnie doniesienia wskazały na duży potencjał remdesiviru, leku przeciwwirusowego, który jest analogiem nukleotydów, a działa przez mechanizm powodujący zmniejszenie wytwarzania wirusowego RNA, tym samym uniemożliwia dalszą replikację wirusa. FDA udzieliła zezwolenia na jego stosowanie u pacjentów z COVID-19, którzy znajdują się w stanie krytycznym, uznając jego potencjalne korzyści terapeutyczne nad ewentualnym ryzykiem związanym z występowaniem działań niepożądanych. Uważa się, że szybkie diagnozowanie chorych m.in. przez stosowanie specyficznych i czułych testów daje możliwość ograniczenia transmisji zakażenia wywołanego przez wirus SARS-CoV-2.

Wprawdzie koronawirus SARS-CoV-2 powodujący chorobę COVID-19 jest coraz lepiej poznany, ale ciągle potrzebujemy dalszych kompleksowych poszukiwań w zakresie danych genomowych, epidemiologicznych, doniesień klinicznych o objawach choroby oraz odpowiedzi na pytanie dlaczego nowy koronawirus jest odporny na dotychczas stosowane leki.

Piśmiennictwo

- Abramczuk E., Pancer K., Gut W., Litwińska B.: Niepandemiczne koronawirusy człowieka – charakterystyka i diagnostyka. *Post. Mikrob.* **56**, 205–213 (2017)
- Ahmed S.E., Quadeer A.A., McKay M.R.: Preliminary Identification of Potential Vaccine Targets for the COVID-19 Coronavirus (SARS-CoV-2) Based on SARS-CoV Immunological Studies. *Viruses*, **12**, 254 (2020)
- Amanat F., Moran T. i wsp.: A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. *medRxiv*, DOI: 10.1101/2020.03.17.20037717 (2020)
- AOTiM: Zalecenia w COVID-19, 25.04.2020, http://www.aotm.gov.pl/www/wp-content/uploads/covid_19/2020.04.25_zalecenia%20covid19_v1.1.pdf (7.06.2020)
- Bavishi C., Maddox T.M., Messerli F.H.: Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Infection and Renin Angiotensin System Blockers. *JAMA Cardiol.* DOI: 10.1001/jamacardio.2020.1282 (2020)
- Belouzard S., Millet J.K., Licitra B.N., Whittaker G.R.: Mechanisms of coronavirus cell entry mediated by the viral spike protein. *Viruses*, **4**, 1011–1033 (2012)
- Chen L., Xiong J., Bao L., Shi Y.: Convalescent plasma as a potential therapy for COVID-19. *Lancet Infect. Dis.* **20**, 398–400 (2020)
- Chen N., Zhang L. i wsp.: Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*, **395**, 507–513 (2020)
- Chen Y., Peng H., Wang L., Zhao Y., Zeng L., Gao H., Liu Y.: Infants Born to Mothers With a New Coronavirus (COVID-19). *Front. Pediatr.* DOI: 10.3389/fped.2020.00104 (2020)
- ClinicalTrials.gov: Phase I Clinical Trial of a COVID-19 Vaccine in 18–60 Healthy Adults (CTCOVID-19), 19.05.2020, <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04313127> (07.06.2020)
- ClinicalTrials.gov: Use of Ascorbic Acid in Patients With COVID-19, 26.03.2020, <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04323514> (08.06.2020)
- Danielsson N., Catchpole M.: Novel coronavirus associated with severe respiratory disease: Case definition and public health measure. *Euro Surveill.* DOI: 10.2807/ese.17.39.20282-en (2012)
- Day M.: COVID-19: ibuprofen should not be used for managing symptoms, say doctors and scientists. *BMJ*, DOI: 10.1136/bmj.m1086 (2020)
- Du L., He Y., Zhou Y., Liu S., Zheng B. J., Jiang S.: The spike protein of SARS-CoV-a target for vaccine and therapeutic development. *Nat. Rev. Microbiol.* **7**, 226–236 (2009)
- Du L., Li F. i wsp.: Introduction of neutralizing immunogenicity index to the rational design of MERS coronavirus subunit vaccines. *Nat. Commun.* **7**, 13473 (2016)
- Eichler H.G., Cavaleri M., Enzmann H., Scotti F., Sepodes B., Sweeney F., Vamvakas S., Rasi G.: Clinical Trials for Covid-19: Can We Better Use the Short Window of Opportunity? *Clin. Pharmacol. Ther.* DOI: 10.1002/cpt.1891 (2020)
- Etemad B., Whitcomb D.C.: Chronic pancreatitis: diagnosis, classification, and new genetic developments. *Gastroenterology*, **120**, 682–707 (2001)
- European Respiratory Society: ACE2 receptor blockers: a novel therapeutic approach for COVID-19, 14.04.2020, <https://www.ersnet.org/covid-19-blog/ace2-receptor-blockers--a-novel-therapeutic-approach-for-covid-19> (17.05.2020)
- Fang L., Karakiulakis G., Roth M.: Are Patients With Hypertension and Diabetes Mellitus at Increased Risk for COVID-19 Infection? *Lancet Respir. Med.* DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30116-8 (2020)
- Forbes: What Do Testicles Have To Do With COVID-19 Coronavirus?, 30.04.2020, <https://www.forbes.com/sites/brucelee/2020/04/30/what-do-testicles-have-to-do-with-covid-19-coronavirus/#3c4037691690> (17.05.2020)
- Gautret P., Raoult D. i wsp.: Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. *Int. J. Antimicrob. Agents.* DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105949 (2020)
- GenBank: Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 isolate Wuhan-Hu-1, complete genome, 18.03.2020, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/MN908947.3> (17.05.2020)
- Gliński Z., Ciołek J.: Nietoperze rezerwuarami i wektorami wirusów chorobotwórczych dla człowieka i zwierząt. *Życie Weterynaryjne*, **95**, 11–16 (2020)
- Grain J., Flanigan T. i wsp.: Compassionate Use of Remdesivir for Patients with Severe Covid-19. *N. Engl. J. Med.* **382**, 2327–2336 (2020)
- Guan Y., Poon L.L. i wsp.: Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. *Science*, **302**, 276–278 (2003)
- Guan W.J., Zhong N. i wsp.: Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N. Engl. J. Med.* **382**, 1708–1720 (2020)
- Guangdi L., De Clercq E.: Therapeutic options for the 2019 novel coronavirus (2019-nCoV). *Nat. Rev. Drug Discovery*, **19**, 149–150 (2020)
- Guo Y.R., Cao Q.D., Hong Z.S., Tan Y.Y., Chen S.D., Jin H.J., Tan K.S., Wang D.Y., Yan Y.: The Origin, Transmission and Clinical Therapies on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak – An Update on the Status. *Mil. Med. Res.* DOI: 10.1186/s40779-020-00240-0 (2020)
- Han H.J., Wen H.L., Zhou C.M., Chen F.F., Luo L.M., Liu J.W., Yu X.J.: Bats as reservoirs of severe emerging infectious diseases. *Virus Res.* **205**, 1–6 (2015)

30. Harmer D., Gilbert M., Bormann R., Clark K.L.: Quantitative mRNA Expression Profiling of ACE 2, a Novel Homologue of Angiotensin Converting Enzyme. *FEBS Lett.* **532**, 107–110 (2002)
31. Harrison C.: Coronavirus puts drug repurposing on the fast track. *Nat. Biotechnol.* **38**, 379–381 (2020)
32. Harvard Health Publishing: Treatments for COVID-19, 24.04.2020, <https://www.health.harvard.edu/diseases-and-conditions/treatments-for-covid-19> (19.05.2020)
33. Hoffmann M., Pöhlmann S. i wsp.: SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*, **181**, 271–280 (2020)
34. Holshue M.L., Pillai S.K. i wsp.: First Case of 2019 Novel Coronavirus in the United States. *N. Engl. J. Med.* **382**, 929–936 (2020)
35. Horby P.: New data on clinical features, incubation period, and case fatality rate of SARS in Hong Kong and Canada. *Euro Surveill.* **7**, DOI: 10.2807/esw.07.19.02223-en (2003)
36. Huang C., Cao B. i wsp.: Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*, **395**, 497–506 (2020)
37. Imai Y., Penninger J.M. i wsp.: Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure. *Nature*, **436**, 112–116 (2005)
38. Kampf G., Todt D., Pfaender S., Steinmann E.: Persistence of coronavirus on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents, *J. Hosp. Infect.* **3**, 246–251 (2020)
39. Kosobudzki M., Bortkiewicz A.: Genetyczne uwarunkowania chorób układu krążenia. *Forum Medycyny Rodzinnej*, **6**, 1–13 (2012)
40. Kuba K., Penninger J.M. i wsp.: A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. *Nature Medicine*, **11**, 875–879 (2005)
41. Lai M.M.C., Holmes K.V.: Coronaviridae and their replication (w) In *Fields Virology*, red. D.M. Knipe, P.M. Howley, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2001, s. 1163–1185
42. Leung J.M., Yang C.X., Tam A., Shaipanich T., Hackett T.L., Singhera G.K., Dorscheid D.R., Sin D.D.: ACE-2 Expression in the Small Airway Epithelia of Smokers and COPD Patients: Implications for COVID-19. *Eur. Respir. J.* DOI: 10.1183/13993003.00688-2020 (2020)
43. Li F.: Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins. *Annu. Rev. Virol.* **3**, 237–261 (2016)
44. Liu S., Chan T.C., Chu Y.T., Wu J.T.S., Geng X., Zhao N., Cheng W., Chen E., King C.C.: Comparative epidemiology of human infections with Middle East Respiratory Syndrome and Severe Acute Respiratory Syndrome Coronaviruses among healthcare personnel. *PLoS One*, DOI: 10.1371/journal.pone.0149988 (2016)
45. Liu S., Jiang S. i wsp.: Interaction between heptad repeat 1 and 2 regions in spike protein of SARS-associated coronavirus: implications for virus fusogenic mechanism and identification of fusion inhibitors. *Lancet*, **363**, 938–947 (2004)
46. Lokugamage K.G., Narayanan K., Nakagawa K., Terasaki K., Ramirez S.I., Tseng C.K., Makino S.: Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus nsp1 inhibits host gene expression by selectively targeting mRNAs transcribed in the nucleus while sparing mRNAs of cytoplasmic origin. *J. Virol.* **89**, 10970–10981 (2015)
47. Lu L., Jiang S. i wsp.: Structure-based discovery of Middle East respiratory syndrome coronavirus fusion inhibitor. *Nat. Commun.* **5**, 3067 (2014)
48. Lui P.Y., Wong L.Y.R., Fung C.L., Siu K.L., Yeung M.L., Yuen K.S., Chan C.P., Woo P.C.Y., Yuen K.Y., Jin D.Y.: Middle East respiratory syndrome coronavirus M protein suppresses type I interferon expression through the inhibition of TBK1-dependent phosphorylation of IRF3. *Emerging Microbes Infect.* **5**, 1–9 (2016)
49. Lundin A., Trybala E. i wsp.: Targeting membrane-bound viral RNA synthesis reveals potent inhibition of diverse coronaviruses including the Middle East respiratory syndrome virus. *PLoS Pathog.* DOI: 10.1371/journal.ppat.1004166 (2014)
50. Ma L., Xie W., Li D., Shi L., Mao Y., Xiong Y., Zhang Y., Zhang M.: Effect of SARS-CoV-2 infection upon male gonadal function: A single center-based study. *medRxiv*, DOI: 10.1101/2020.03.21.20037267 (2020)
51. Mahase E.: Covid-19: what do we know so far about a vaccine? *BMJ*, DOI: 10.1136/bmj.m1679 (2020)
52. Marczyńska M.: Zalecenia terapeutyczne dla dzieci zakażonych HIV. *HIV & AIDS Review*, **12**, 116–118 (2013)
53. Medicover: Sposoby walki z COVID-19 – leki, osocze rekonwalescencyjne, a może szczepionka?, 19.05.2020, <https://www.medicover.pl/o-zdrowiu/sposoby-walki-z-covid-19-leki-osocze-rekonwalescencyjne-a-moze-szczepionka>, 6916,n,192 (21.05.2020)
54. Międzynarodowa Federacja Farmaceutyczna: COVID-19: Informacje kliniczne i wytyczne dotyczące leczenia, 26.03.2020, <https://www.nia.org.pl/wp-content/uploads/2020/04/FIP-Przewodnik-COVID-19-PL-002.pdf> (18.05.2020)
55. Mousavizadeh L., Ghasemi S.: Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, DOI: 10.1016/j.jmii.2020.03.022 (2020)
56. Mrukowicz J., Ściubisz M.: Wyścig po szczepionkę przeciwko SARS-CoV-2. Wielkie nadzieje i wielkie znaki zapytania. *Med. Prakt.* **5**, 36–48 (2020)
57. Nejm Journal Watch: Lack of Efficacy of Hydroxychloroquine or Azithromycin on COVID-19 Clinical Course, <https://www.jwatch.org/na51549/2020/05/13/lack-efficacy-hydroxychloroquine-or-azithromycin-covid-19> (07.06.2020)
58. Nextstrain: Phylogeny of SARS-like betacoronaviruses including novel coronavirus from Wuhan using data generated by the Shanghai Public Health Clinical Center & School of Public Health, the National Institute for Viral Disease Control and Prevention, the Institute of Pathogen Biology, and the Wuhan Institute of Virology shared via GISAID, 26.02.2020, <https://nextstrain.org/groups/blab/sars-like-cov> (17.05.2020)
59. Puls Medycyny: Leki na koronawirusa SZAR-CoV-2: skuteczne mogą być już znane substancje, 23.03.2020, <https://pulsmedycyny.pl/leki-na-koronawirusa-sars-cov-2-skuteczne-moga-byc-juz-znane-substancje-984865> (09.06.2020)
60. Pyrc K.: Ludzkie koronawirusy. *Post. Nauk Med.* **28**, 48–54 (2015)
61. Qin N., Kaijin X. i wsp.: Retrospective study of low-to-moderate dose glucocorticoids on viral clearance in patients with novel coronavirus pneumonia. *Chinese Journal of Clinical Infectious Diseases*, DOI: 10.3760/cma.j.cn115673-20200225-00072 (2020)
62. Rastawicki W., Rokosz-Chudziak N.: Charakterystyka oraz ocena przydatności serologicznych testów w diagnostyce zakażeń wywołanych przez koronawirus SARS-CoV-2 na podstawie dostępnych danych producentów i przeglądu piśmiennictwa. *Przegl. Epidemiol.* **74**, 113–132 (2020)
63. Reuters: Poland reports first coronavirus case – health minister, 4.03.2020, <https://www.reuters.com/article/us-health-coronavirus-poland/poland-reports-first-coronavirus-case-health-minister-idUSKBN20R0U7> (05.06.2020)
64. Rut W., Groborz K., Zhang L., Sun X., Zmudzinski M., Hilgenfeld R., Drag M.: Substrate specificity profiling of SARS-CoV-2

- M^{pro} protease provides basis for anti-COVID-19 drug design. *bioRxiv*, DOI: 10.1101/2020.03.07.981928 (2020)
65. Sama I.E., Voors A.A. i wsp.: Circulating Plasma Concentrations of Angiotensin-Converting Enzyme 2 in Men and Women With Heart Failure and Effects of Renin-Angiotensin-Aldosterone Inhibitors. *Eur. Heart J.* **41**, 1810–1817 (2020)
 66. Sanders J.M., Monogue M.L., Jodlowski T.Z., Cutrell J.B.: Pharmacologic Treatments for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). A Review. *JAMA*, **323**, 1824–1836 (2020)
 67. Sheahan T.P., Baric R.S. i wsp.: Broad-spectrum antiviral GS-5734 inhibits both epidemic and zoonotic coronaviruses. *Sci. Transl. Med.* DOI: 10.1126/scitranslmed.aal3653 (2017)
 68. Sheahan T.P., Baric R.S. i wsp.: Comparative therapeutic efficacy of remdesivir and combination lopinavir, ritonavir, and interferon beta against MERS-CoV. *Nat. Commun.* DOI: 10.1038/s41467-019-13940-6
 69. Soro-Paavonen A., Gordin D., Forsblom C., Rosengard-Barlund M., Waden J., Thorn L., Sandholm N., Thomas M.C., Groop P.H., FinnDiane Study Group.: Circulating ACE2 Activity Is Increased in Patients With Type 1 Diabetes and Vascular Complications. *J. Hypertens.* **30**, 375–383 (2012)
 70. Stilhano R.S., Costa A.J., Nishino M.A., Shams S., Bartolomeo C.S., Breithaupt-Faloppa A.C., Silva E.A., Ramirez A.L., Prado C.M., Ureshino R.P.: SARS-CoV-2 and the Possible Connection to ERs, ACE2 and RAGE: Focus on Susceptibility Factors. *Preprints*, DOI:10.20944/preprints202005.0178.v1 (2020)
 71. Tang X., Lu J. i wsp.: On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2. *Natl. Sci. Rev.* **7**, 1012–1023 (2020)
 72. Tu C., Wang L.F. i wsp.: Antibodies to SARS coronavirus in civets. *Emerging Infect. Dis.* **10**, 2244–2248 (2004)
 73. Vabret A., Dina J., Brison E., Brouard J., Freymuth F.: Human coronaviruses. *Pathol. Biol. (Paris)* **57**, 149–160 (2009)
 74. van der Hoek L., Pyrc K., Berkhout B.: Human coronavirus NL63, a new respiratory virus. *FEMS Microbiol. Rev.* **30**, 760–773 (2006)
 75. van Doremalen N., Munster V.J. i wsp.: Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared With SARS-Cov-1. *N. Engl. J. Med.* **382**, 1564–1567 (2020)
 76. Vashist S.K.: In Vitro Diagnostic Assays for COVID-19: Recent Advances and Emerging Trends. *Diagnostics*, DOI: 10.3390/diagnostics10040202 (2020)
 77. Vijaykrishna D., Smith G.J.D., Zhang J.X., Peiris J.S.M., Chen H., Guan Y.: Evolutionary insights into the ecology of coronaviruses. *J. Virol.* **81**, 4012–4020 (2007)
 78. Villar J., Gonzales-Martin J.M. i wsp.: Dexamethasone treatment for the acute respiratory distress syndrome: a multicentre, randomised controlled trial. *Lancet Respir. Med.* **8**, 267–276 (2020)
 79. Waliszewski K., Słomski R., Jura J., Oszkini G., Gabriel M., Strauss E., Pawlak A.: Zmiany częstości alleli i rozkładu genotypów genu ACE w populacji chorych na tętniaka aorty brzusznej. *J. Med. Sci.* **12**, 169–175 (2003)
 80. Wang M., Cao R., Zhang L., Yang X., Liu J., Xu M., Shi Z., Hu Z., Zhong W., Xiao G.: Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell Res.* **30**, 269–271 (2020)
 81. Wang N., Shang J., Jiang S., Du L.: Subunit Vaccines Against Emerging Pathogenic Human Coronaviruses. *Front. Microbiol.* DOI: 10.3389/fmicb.2020.00298 (2020)
 82. Wang Q., Wong G., Lu G., Yan J., Gao G.F.L.: MERS-CoV spike protein: targets for vaccines and therapeutics. *Antiviral Res.* **133**, 165–177 (2016)
 83. World Health Organization: Coronavirus disease (COVID-19) Pandemic, <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019> (16.05.2020)
 84. World Health Organization: Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19, 11.03.2020, <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020> (16.05.2020)
 85. World Health Organization: Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases, 2.03.2020, <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/331329/WHO-COVID-19-laboratory-2020.4-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>, (17.05.2020)
 86. World Health Organization: Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV). Summary of current situation, literature update and risk assessment. 07.07.2015, http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/179184/2/WHO_MERS_RA_15.1_eng.pdf (16.05.2020)
 87. World Health Organization: Summary of probable SARS cases with onset of illness from 1 November 2002 to 31 July 2003, 31.12.2003, https://www.who.int/csr/sars/country/table2004_04_21/en/ (16.05.2020)
 88. Worldometer: COVID-19 Coronavirus pandemic, 19.05.2020, <https://www.worldometers.info/coronavirus> (20.05.2020)
 89. Wu D., Yang X.O.: TH17 responses in cytokine storm of COVID-19: An emerging target of JAK2 inhibitor Fedratinib. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* **53**, 368–370 (2020)
 90. Wysocki J., Gonzales-Pacheco F.R., Battle D.: Angiotensin-converting enzyme 2: Possible role in hypertension and kidney disease. *Current Hypertension Reports*, **10**, 70–77 (2008)
 91. Xiao F., Hiremath S., Knoll G., Zimpelmann J., Srivatharajah K., Jadhav D., Fergusson D., Kennedy C.R., Burns K.D.: Increased urinary angiotensin-converting enzyme 2 in renal transplant patients with diabetes. *PLoS One*, DOI: 10.1371/journal.pone.0037649 (2012)
 92. Xiao F., Tang M., Zheng X., Liu Y., Li X., Shan H.: Evidence for gastrointestinal infection of SARS-CoV-2. *Gastroenterology*, **158**, 1831–1833 (2020)
 93. Xinhuanet: New-type coronavirus causes pneumonia in Wuhan: expert, 09.01.2020, http://www.xinhuanet.com/english/2020-01/09/c_138690570.htm (16.05.2020)
 94. Zhang H., Li H.B., Lyu J.R., Lei X.M., Li W., Wu G., Lyu J., Dai Z.M.: Specific ACE2 expression in small intestinal enterocytes may cause gastrointestinal symptoms and injury after 2019-nCoV infection. *Int. J. Infect. Dis.* **96**, 19–24 (2020)
 95. Zhou P., Shi Z.L. i wsp.: A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, **579**, 270–273 (2020)
 96. Zhu N., Tan W. i wsp.: A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N. Engl. J. Med.* **382**, 727–733 (2020)