ISSN: 2538-5887; Pathobiology Research. 2020;23(4)

# A review on SARS-CoV-2: virology aspects, therapy, and vaccine development

## ARTICLE INFO

***Article Type***
Original Research

***Authors***
Pooria Safarzadeh Kozani [1], Fatemeh Rahbarizadeh [1, 2*], Pouya Safarzadeh Kozani [3], Zeinab Sadeghi [1], and Elham Darzi Eslam [1]

1. Department of Medical Biotechnology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2. Research and Development Center of Biotechnology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
3. Department of Medical Biotechnology, Faculty of Paramedicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran.

***Correspondence**
Address: Department of Medical Biotechnology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. P.O. Box: 14115-331. Email address: rahbarif@modares.ac.ir

**Article History**
Received: october 23, 2020
Accepted: March 10, 2021
ePublished: March: 18, 2021

## ABSTRACT

Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) is a severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2)-induced pneumonia. SARS-CoV-2 is the third disease-causing coronavirus after severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) and the Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) which has been known in the human population in the 21st century. To this date (October 11, 2020), more than thirty-four million people have been infected by this virus and more than a million have lost their lives because of it, which further signifies the importance of COVID-19 prevention and treatment. In this review article, we first take a look at the history of the famous coronaviruses and then introduce the genetic and pathophysiology of SARS-CoV-2 in a detailed manner. After discussing the clinical manifestations of the infected individuals, we shed light on the treatments that have been assessed to this date. Ultimately, we will briefly discuss the vaccines that are currently being developed and highlight their success rate, so far. It is delightful to assert that our research team is currently developing an oral and/or respiratory vaccine against SARS-CoV-2 which is composed of chitosan nanoparticles surface-decorated with SARS-CoV-2's Spike protein..

**Keywords:** SARS-CoV-2; Clinical manifestations; Vaccine; Antiviral drugs; Monoclonal antibodies; Serum therapy; Cytokine release syndrome

*Copyright© 2020, TMU Press. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms.*

# مروری بر SARS-CoV-2: جنبه های ویروس شناسی، درمان و توسعه واکسن

**پوریا صفرزاده کوزانی**[۱] ،
تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه بیوتکنولوژی پزشکی
**فاطمه رهبری زاده**[۲*]
تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه بیوتکنولوژی پزشکی
تهران، دانشگاه تربیت مدرس، مرکز تحقیقات و توسعه ی زیست فناوری
**پویا صفرزاده کوزانی**[۳]
گیلان، رشت، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دانشکده ی پرستاری، مامائی، و پیراپزشکی
**زینب صادقی**[٤] ،
تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه بیوتکنولوژی پزشکی
**الهام درزی اسلام**[٥]
تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه بیوتکنولوژی پزشکی

***نویسنده ی مسئول**
**آدرس: تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه بیوتکنولوژی پزشکی. کد پستی: 14115-331**
**تلفن: 021-82883884**
**فکس: 021-82884555**

**چکیده:** بیماری ویروس کرونا ۲۰۱۹ (کووید-۱۹) نوعی ذات الریه ویروسی است که در اثر سندرم حاد تنفسی کرونا ویروس-۲ (SARS-CoV-2) ایجاد می شود. SARS-CoV-2 بعنوان سومین ویروس کرونا بسیار بیماری زا پس از کرونا ویروس سندرم حاد تنفسی (SARS-CoV) و کرونا ویروس سندرم تنفسی خاورمیانه (MERS-CoV) در جمعیت انسانی در قرن بیست و یکم مشخص شده است. تا به امروز (۲۰ مهر ۱۳۹۹) بصورت رسمی بیش از سی و چهار میلیون نفر به این ویروس مبتلا و بیش از یک میلیون نفر جان خود را در اثر ابتلا به این ویروس از دست داده اند که نشان دهنده ی اهمیت پیشگری و درمان بیماری کووید-۱۹ است. در این مقاله ی مروری ما ابتدا نیم نگاهی به تاریخچه ی کروناویروس های معروف داریم و سپس به معرفی جزئی تر SARS-CoV-2 از لحاظ ژنتیکی و پاتوفیزیولوژی می پردازیم. پس از معرفی تظاهرات بالینی افراد مبتلا، بر روش های درمانی مختلف که تا به امروز امتحان شده اند، تمرکز میکنیم. در انتها هم مروری بر واکسن های در حال توسعه و نتایج بدست آمده از آنان داریم. لازم به ذکر است که تیم تحقیقاتی ما در حال حاضر مشغول تحقیق و توسعه ی واکسنی خوراکی/تنفسی علیه SARS-CoV-2 است که مشتکل از نانوذرات کیتوزانی است که در سطح با پروتئین Spike این ویروس تزئین شده است.

**کلمات کلیدی:** کووید-۱۹، سارس-کو-۲، تظاهرات بالینی، واکسن، داروهای ضد ویروسی، آنتی بادی مونوکلونال، سرم درمانی، طوفان سایتوکاین

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۸/۰۲
تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۱/۲۰
*نویسنده مسئول: **rahbarif@modares.ac.ir**

## ۱. مقدمه

پیش از قرن بیست و یکم، کرونا ویروس ها به عنوان پاتوژن هایی با اهمیت زیاد در دامپزشکی در نظر گرفته می شدند که تاثیر چندانی بر سلامت انسان ها نداشتند [۱, ۲]. . با این حال، نگرانی جهانی بیشتر برای کرونا ویروس ها در سلامت انسان با اپیدمی سندرم حاد تنفسی حاد (SARS) در ۲۰۰۲-۲۰۰۳ و سندرم تنفسی خاورمیانه (MERS) در سال ۲۰۱۲ آغاز شد [۳, ٤]. علاوه بر این، در پایان دسامبر ۲۰۱۹، شیوع کروناویروس جدیدی مشاهده شد، که باعث نگرانی در سطح جهانی شد [۵, ٦]. خانواده Coronaviridae شامل ویروس های پوشش داری است که ژنوم RNA تک رشته ای با اندازه تقریبی ۳۰ کیلوباز دارند. در نتیجه، آنها بزرگترین ژنوم را در بین ویروسهای RNA دار دارند. کروناویروس ها بر اساس خصوصیات آنتی ژنیک و ژنتیکی خود به چهار جنس طبقه بندی میشوند: آلفاکروناویروس ها، بتاکروناویروس ها، گاماکروناویروس ها و دلتاکروناویروس ها. SARS-CoV و MERS-CoV از

جنس بتاکروناویروس ها هستند [۷]. اخیراً، توالی کامل ژنوم و تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک SARS-CoV-2 (قبلاً با نام ۲۰۱۹-nCoV شناخته می شد) آن را در همان جنس گروه بندی کرده است [۸]. لازم به ذکر است که بیماری ایجاد شده توسط این ویروس تحت عنوان کووید-۱۹ شناخته میشود [۸]. چهار پروتئین اصلی توسط ژنوم کروناویروس ها ترجمه می شوند: اسپایک (S) ، پوشش (E) ، غشا (M) و نوکلئوکپسید (N). هر پروتئین نقش جداگانه ای در ساختار ذره ویروسی دارد، اما در سایر عملکردهای چرخه تکثیر نیز نقش دارد [۷]. SARSCoV-2، SARS-CoV، MERS-CoV، HCoV-229E و HCoVNL63 احتمالاً از خفاش ها سرچشمه گرفته اند ، در حالی که HCoV-OC43 و HKU1 احتمالاً از جوندگان سرچشمه میگیرند [۹]. لازم به ذکر است که خفاش ها، که میزبان اولیه محسوب می شوند، می توانند جمعیت ویروسی مختلفی در گونه های مختلف داشته باشند ، این امر باعث تسهیل ظهور انواع جدید ویروس می شود [۱۰]. از همان ابتدای خبر پیدا شدن ویروسی جدید در چین توالی نوکلئوتیدی آن سریع شناخته شد. امروز اطلاعات زیادی در مورد فیلوژنتیک SARS-CoV-2 در دسترس است. دو زیر گروه مختلف S و L برای SARS-CoV-2 شناخته شده که از لحاظ پراکندگی جغرافیایی متفاوت هستند. علت پیدایش زیر گروه های مختلف در ویروس های بر پایه ی RNA پلیمراز مانند SARS-CoV-2، خطای RNA پلیمراز مذکور در زمان همانند سازی ژن آنهاست [۱۱]. سهولت و استعداد بالای ایجاد جهش میتواند روی بیماری زایی و میزان سرایت این گونه ویروس ها تاثیر مثبت یا منفی بگذارد. خاستگاه SARS-CoV-2 هوبی در چین است و میزان مرگ و میر آن در مقایسه با MERS-CoV و SARS-CoV بسیار کمتر و در حدود 2.3% تخمین زده شده است. SARS-CoV-2 میتواند از طریق قطرات تنفسی، تماس نزدیک با بیمار مبتلا و احتمالا ذرات ریز موجود در هوا (آیروسول ها) از فرد بیمار به فردی سالم انتقال پیدا کند. علاوه بر این، دوره ی نهفتگی افراد آلوده به این ویروس طبق گفته های مرکز کنترل و پیشگیری بیماری امریکا (CDC) از ۲ تا ۱۴ روز تخمین زده شده است [۱۲]. گمانه زنی های بسیاری در مورد شیوه ی بیماری زایی SARS-CoV-2 در افراد مختلف انجام گرفته. پررنگ ترین مکانیسمی که SARS-CoV-2 به واسطه ی آن باعث مرگ افراد مبتلا میشود، طوفان سایتوکاینی است که در ریه افراد مبتلا به راه میاندازد. انسداد ریوی و نارسایی اکسیژن باعث نارسایی بسیاری از ارگان های افراد بیمار و در نهایت مرگ میشود [13]. تظاهرات بالینی معمول کووید-۱۹ شامل تب، سرفه، تنگی نفس، درد عضلات و حتی گلودرد، آبریزش بینی، سردرد و سرگیجه میباشد که به همراه بسیاری دیگر از علائم مربوط به کووید-۱۹ میتوانند در تشخیص هم کمک کنند [28]. تشخیص کووید-۱۹ میتواند بر اساس تکنولوژی تشخیص نوکلئیک اسید، سی تی اسکن و دیگر روش های تشخیصی همچون ELISA باشد [28]. به دلیل سود بالایی که در فروش کیت های تشخیصی این حوزه وجود دارد، کیت های زیادی تا به امروز به بازار وارد شده اند که به تشخیص سریع و جلوگیری از پراکندگی بیشتر این بیماری کمک کرده اند. تلاش های زیادی برای درمان کووید-۱۹ صورت گرفته که شامل ترکیب لوپیناویر و ریتوناویر، استفاده از فاویپیراویر (فاویلاویر یا آویگان)، استفاده از کلروکین و یا هیدروکسی کلروکین، رمدیسیویر (GS-5734)، SNG001، و ایورمکتین میباشد [40]. برخی کشور ها شیوه های درمانی دیگری همچون درمان با پلاسمای بهبودیافتگان، استفاده از فرم محلول ACE2، و استفاده از آنتی بادی های مونوکلونال همچون توسیلیزوماب و میلازوماب و حتی بازدارنده ها را پیش گرفته اند. شرکت ها و دانشگاه های زیادی هم در حال توسعه و آزمایش بالینی واکسن های مختلفی هستند که نتایج امیدوار کننده ای هم تا به امروز کسب کرده اند.

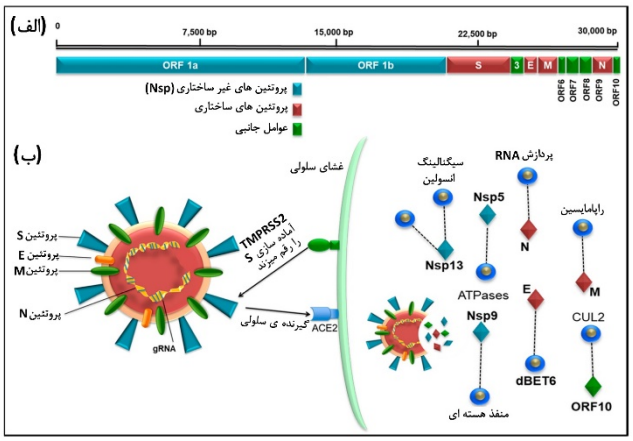
## ۲. معرفی SARS-CoV-2

### ۲-۱اطلاعات ژنومی SARS-CoV-2

SARS-CoV-2 یک بتا-کروناویروس شبیه به ویروس های ایجاد کننده SARS (سندرم حاد تنفسی) و MERS (سندرم تنفسی خاورمیانه) است. کروناویروس های انسانی جدید نیستند و از اواخر دهه ۱۹۶۰ در جمعیت ها شناسایی شده اند و باعث علائم خفیفی مانند سرماخوردگی می شوند . از هفت گونه ویروس شناخته شده ، چهار مورد دستگاه تنفسی فوقانی را آلوده کرده و علائم خفیفی را نشان می دهند ، در حالی که سه مورد از جمله SARS-CoV، MERS-CoV و اکنون SARS-CoV-2 با دستگاه تنفسی تحتانی در ارتباط هستند و باعث بیماری های شدید

می شوند . SARS-CoV-2 مانند سایر کروناویروس ها، یک ویروس برپایه ی RNA تک رشته ای است که دارای ژنومی تک قطعه ای به اندازه ۳۰ کیلوباز است (شکل ۱) [۱۴]. ژنوم ویروسی ۱۶ پروتئین غیر ساختاری (Nsps) مورد نیاز برای تکثیر ویروس و پاتوژنز، چهار پروتئین ساختاری از جمله پوشش (E)، غشا (M)، نوکلئوکپسید (N) و گلیکوپروتئین اسپایک (S) که برای پاسخ ویروس به واکسنها مهم هستند را درکنار نه فاکتورمهم کمکی دیگر، کد میکند . اولین بار ژنوم SARS-CoV-2 در ۲۴ ژانویه سال ۲۰۲۰ منتشر شد، تنها چند هفته پس از شیوع بیماری، و شباهت ژنومی و فیلوژنتیکی بالایی که با SARS-CoV، به ویژه در ژن S و دومین متصل شونده به گیرنده (RBD) از خود به نمایش گذاشت، نشانگر قابلیت بالای انتقال مستقیم آن از انسان به انسان بود [۱۵]. توالی ژنومی SARS-CoV-2 نشان می دهد که، اگرچه ۷۵-۸۰ درصد با SARS-CoV یکسان است ، حتی دارای شباهت بیشتری با چندین کروناویروس خفاشی از جمله کرونا ویروس SARS-CoV RaTG13 [۱۵] است. تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک ژنوم های متعلق به SARS-CoV-2، به دلیل وجود شباهت بالای توالی (۹۶/۲٪) بین ژنوم های BatCoV و SARS-CoV-2، خفاش ها را به عنوان مخزن اصلی کروناویروس های SARS معرفی میکند [۱۶]. تجزیه و تحلیل توالی پروتئین اسپایک ویروسی بیشتر نشان می دهد که جهش های جدید در RBD آن نه تنها محدوده میزبان بلکه تروپیسم سلولی ویروس را نیز تعیین می کند . چند ماه قبل از ظهور SARS-CoV-2، کل توالی ژنومی Pangolin-CoV استخراج شده از یک پنگولین مرده (با نام علمی Manis javanica)، به ترتیب ۹۱,۰۲ و ۹۰,۵۵ درصد شباهت توالی ژنومی با SARS-CoV-2 و BatCoV RaTG13 نشان داد [۱۱]. تجزیه و تحلیل توالی همچنین نشان داد که پروتئین S1 از Pangolin-CoV بسیار شبیه به SARS-CoV-2 بوده، نسبت به RaTG13. در حالی که این یافته ها گونه Pangolin را به عنوان مخزنی از کروناویروس ها نشان می دهند، تجزیه و تحلیل های بیشتر پتانسیل Pangolin را به عنوان میزبان واسطه SARS-CoV-2 اثبات نمی کند.

**شکل ۱. (الف)** تصویری از تمام ژنوم SARS-CoV-2 که محل قرارگیری فریم های باز a۱ و b۱ را برای رمزگذاری پروتئین های غیر ساختاری Nsp (آبی) ، پروتئین های ساختاری (قهوه ای) و عوامل جانبی نشان می دهد (سبز). اعداد نمایش داده شده در بالا به RNA ژنومی اشاره دارد. **(ب)** نمایش شماتیک ذرات ویروس SARS-CoV-2 و تعامل آن با گیرنده سلولی میزبان، ACE2. مسیر عفونت نشان میدهد که پس از اتصال ذرات ویروس بر روی سطح سلول، پروتئاز سلولی TMPRSS2 پروتئین ویروسی S را فعال می کند و اجازه ورود SARS-CoV-2 به سلولهای انسانی را می دهد. پروتئین رمزگذاری شده توسط ژن های ویروسی و برخی از فعل و انفعالات قابل توجه (خط های تیره) با سایر پروتئین های میزبان نشان داده شده است که می توانند به طور بالقوه توسط داروها (دایره های آبی) هدف قرار گیرد . بازنشر و ترجمه شده با اجازه از [۱۹].




توالی های نوکلئوتیدی SARS-CoV-2 اکنون از بسیاری از نقاط جهان گزارش شده اند، و این داده ها در ردیابی چگونگی شیوع جهانی ویروس مفید بوده اند (جدول ۱ را برای اطلاعات مربوط به ژنوم SARS-CoV-2 مشاهده کنید). به عنوان مثال ، تجزیه و تحلیل اولیه از ۱۰۳ ژنوم SARS-CoV-2 ، دو زیرگروه اصلی (که با L و S مشخص شدند) را شناسایی کرد که به خوبی توسط دو پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی مجزا (SNP) تعریف شده اند. ویروس های برپایه ی RNA دارای RNA پلیمراز هایی هستند که به طور مکرر مستعد به خطا و ایجاد جهش در حین رونویسی هستند . این پدیده ممکن است نقشی در تکامل SARS-CoV-2 بازی کند. در ووهان، چین، نوع L درنزدیک به ۷۰ درصد موارد ابتلا مشاهده شده که در مقایسه با نوع S، تهاجمی تر و مسری تر گزارش شده است [۱۲]. ویروس بیشتر در سویه ها و دسته های متعدد جهش و گسترش یافته است (جدول ۱) [۱۷]. تنوع جغرافیایی سویه های مختلف ممکن است بر شدت، میزان مرگ و میر و گزینه درمانی مربوط به کووید-۱۹ تاثیر بگذارد. به عنوان مثال، اخیرا مطالعه ای با استفاده از یک روش تجزیه و تحلیل شبکه فیلوژنتیک متشکل از ۱۶۰ ژنوم کامل انجام شده و نشان می دهد که احتمالا این ویروس در سه خوشه مجزا در حال تکامل باشد،

بطوری که نوع A، نوع اجدادی نزدیک به ژنوم خفاش است و به همراه نوع C بیشتر در آمریکا و اروپا پیدا میشود، در حالی که B رایج ترین نوع در آسیای شرقی است [۱۸]. اپیدمیولوژی ژنومی SARS-CoV-2 همچنین باید در مورد منشأ شیوع منطقه ای، پراکندگی جهانی و تاریخچه اپیدمیولوژیک ویروس شفاف سازی کند (جدول ۱) [۱٤].

**۲-۲ بیماری زایی کووید-۱۹**

بیماران مبتلا به کووید-۱۹ تظاهرات بالینی از جمله تب ، سرفه غیرمولد ، تنگی نفس ، درد عضله ، خستگی ، تعداد لکوسیت های طبیعی یا کاهش یافته و شواهد رادیوگرافی از ذات الریه را نشان می دهند، که مشابه علائم عفونت های SARS-CoV و MERS- CoV است [19]. از این رو ، اگرچه پاتوژنز کووید-۱۹ به خوبی درک نشده است ، اما مکانیسم های مشابه SARS-CoV و MERS-CoV هنوز می توانند اطلاعات بسیاری در مورد پاتوژنز عفونت SARS-CoV-2 به ما بدهند تا ما بتوانیم شناخت خود از کووید-۱۹ را افزایش دهیم.

**جدول ۱** - مقایسه ویژگی های اپیدمیولوژیکی ، بالینی و بیماری های ناشی از SARS-CoV، MERS-CoV و SARS-CoV-2.

| ویروس | SARS-CoV | MERS-CoV | SARS-CoV-2 |
|---|---|---|---|
| بیماری | سارس | مرس | کووید-۱۹ |
| انتقال | • قطرات تنفسی<br>• تماس نزدیک با بیمار مبتلا<br>• مدفوع-دهانی<br>• آئروسل | • قطرات تنفسی<br>• تماس نزدیک با بیمار یا شتر مبتلا<br>• مصرف شیر شتر | • قطرات تنفسی<br>• تماس نزدیک با بیمار مبتلا<br>• احتمالا مدفوع-دهانی<br>• احتمالا آئروسل |
| نهفتگی | ۲ تا ۷ روز | ۲ تا ۱۴ روز | ۹۷،۵ درصد از بیماران طی ۲ تا ۱۴ روز علایم نشان میدهند |
| دوره ی واگیری | ۱۰ روز پس از شروع بیماری | تا زمانی که ویروس می تواند از بیماران آلوده جدا شود | ناشناس |
| مخزن | خفاش ها | خفاش ها | خفاش ها |
| میزبان تصادفی | زباد نخلی نقاب‌دار | شتر یک‌کوهانه | پنگولین |
| خاستگاه | گوانگ‌دونگ در چین | عربستان سعودی | هوبی در چین |
| میزان مرگ و میر (تقریبی) | %۱۰ | 36% | 2.3% |
| تظاهرات بالینی | از بیماری بدون علامت یا خفیف گرفته تا بیماری حاد دستگاه تنفسی فوقانی و نارسایی چندگانه ارگان ها که منجر به مرگ می شود. بین افراد متفاوت است. استفراغ و اسهال نیز گزارش شده است. | | |

## ورود و تکثیر کروناویروس

پروتئین اسپایک کروناویروس به عنوان یک عامل مهم ورود ویروس به سلول های میزبان گزارش شده است. گلیکوپروتئین اسپایک به گیرنده سلولی خود که ACE2 باشد متصل میشود (ACE2 به عنوان گیرنده ی SARS-CoV و SARS-CoV-2، پروتئین CD209L به عنوان گیرنده ای دیگر برای SARS-CoV و DPP4 به عنوان گیرنده ی MERS-CoV شاخته می شوند) . در همان ابتدا مشخص شد که ورود SARS-CoV به سلول هدف با همجوشی مستقیم بین غشای ویروس و غشای پلاسمایی محقق می شود. بلوزارد و همکاران دریافتند که یک رخداد مهم پروتئولیتیک درموقعیت S20 پروتئین اسپایک متعلق به SARS-CoV، واسطه فیوژن غشایی میشود و عفونت ویروسی را رقم میزند. MERS-CoV همچنین در طی تکامل به یک فعال سازی دو مرحله ای فورین غیر طبیعی برای همجوشی غشا دست یافته است [20]. علاوه بر همجوشی غشایی، آندوسیتوز وابسته به کلاترین و مستقل از کلاترین نیز در ورود SARS-CoV نقش دارند . پس از ورود ویروس به سلول، ژنوم ویروسی برپایه ی RNA در سیتوپلاسم آزاد می شود و به دو پلی پروتئین و پروتئین ساختاری ترجمه می شود ، پس از آن ژنوم ویروسی شروع به تکثیر می کند . گلیکوپروتئین های پوششی تازه تشکیل شده به غشای شبکه ی آندوپلاسمی یا دستگاه گلژی وارد می شوند و سپس نوکلئوکپسید با ترکیبی از RNA ژنومی و پروتئین نوکلئوکپسیدی تشکیل می شود. پس از آن، ذرات ویروسی در محفظه میانی شبکه ی آندوپلاسمی-دستگاه گلژی (ERGIC) جوانه می زنند. سرانجام، وزیکولهای حاوی ذرات ویروس با غشای پلاسمایی ترکیب می شوند تا ویروس آزاد شود [21].

## نمایش آنتی ژن در عفونت کروناویروس

وقتی ویروس وارد سلول میشود، آنتی ژن آن بر سطح سلول های ارائه دهنده آنتی ژن (APC)، که جزئی از ایمنی ضد ویروسی بدن است، ارائه می شود. پپتید های آنتی ژن توسط مجموعه سازگاری بافتی اصلی (MHC) یا آنتی ژن لکوسیت انسانی (HLA)در انسان ارائه می شوند و سپس توسط لنفوسیت های T سیتوتوکسیک

اختصاصی (CTL) ویروس شناخته می شوند. از این رو ، درک ارائه آنتی ژن SARS-CoV-2 به درک ما از پاتوژنز کووید-۱۹ کمک می کند. متأسفانه ، هنوز گزارشی در این مورد وجود ندارد ، و ما فقط می توانیم از تحقیقات قبلی درباره SARS-CoV و MERS-CoV اطلاعاتی کسب کنیم. ارائه آنتی ژن SARS-CoV به طور عمده به مولکولهای MHC I بستگی دارد ، اما MHC II نیز در ارائه آن نقش ایفا می کند. تحقیقات قبلی نشان می دهند که تعداد زیادی از پلی مورفیسم های HLA مانند HLA-B*4601، HLA-B*0703، HLA-DR B1*1202، HLA-Cw*0801، با حساسیت نسبت به SARS-CoV در ارتباط است ، در حالی که الل های HLA-DR0301، HLA-Cw1502، HLA-A*0201 در محافظت در برابر عفونت SARS مسئول هستند [22]. در عفونت MERS-CoV، مولکولهای MHC II، مانند HLA-DRB1*11:01 و HLA-DQB1*02:0 با حساسیت به عفونت MERS-CoV همراه هستند . علاوه بر این، پلی مورفیسم ژن MBL (لکتین اتصال یابنده به مانوز) که مربوط به ارائه آنتی ژن است با خطر ابتلا به عفونت SARS-CoV در ارتباط می باشد [23]. این تحقیقات سرنخ های ارزشمندی را برای پیشگیری، درمان و شناخت مکانیسم کووید-۱۹ ارائه می دهند.

## ایمنی هومورال و سلولی

ارائه آنتی ژن متعاقباً ایمنی هومورال و سلولی بدن را تحریک می کند که توسط سلول های B و T مخصوص ویروس کنترل می شوند و عمل می کنند. در حالتی مشابه عفونت های متداول حاد ویروسی، مشخصات (Profile) آنتی بادی در برابر ویروس SARS-CoV یک الگوی معمولی از تولید IgM و IgG دارد. آنتی بادی های IgM اختصاصی SARS در پایان هفته ۱۲ از بین می رود، در حالی که آنتی بادی IgG می تواند برای مدت طولانی ادامه یابد که نشان می دهد آنتی بادی IgG ممکن است به طور عمده نقش محافظتی را بر عهده داشته باشد [24]. لازم به ذکر است که آنتی بادی های IgG مخصوص SARS در ابتدا اختصاصی برای S و N هستند [21]. در مقایسه با پاسخ های هومورال، تحقیقات بیشتری در مورد ایمنی سلولی کروناویروس وجود دارد. آخرین گزارش نشان می دهد که تعداد سلولهای های لنفوسیت T CD4+ و CD8+ در خون محیطی بیماران آلوده به SARS-CoV-2 کاهش می یابد، در حالی که شواهد از فعال سازی بیش از حد آن که توسط میزان نسبت های جفت مثبت های (double-positive) HLA-DR (CD4 3.47%) و CD38 (CD8 39.4%) مشهود است خبر می دهد . به طور مشابه، پاسخ فاز حاد در بیماران مبتلا به SARS-CoV با کاهش شدید سلول های T CD4+ و T CD8+ همراه است. حتی اگر آنتی ژنی هم وجود نداشته باشد، سلول های T خاطره CD4+ و CD8+ می توانند به مدت چهار سال در بخشی از افراد بهبود یافته از SARS-CoV باقی بمانند و تکثیر سلول T ، پاسخ DTH و تولید IFN-γ را انجام دهند . در یک گزارش، شش سال پس از عفونت SARS-CoV، پاسخهای اختصاصی سلول های T خاطره به کتابخانه پپتید SARS-CoV S هنوز هم می توانست در ۱۴ بیمار از ۲۳ بیمار بهبود یافته SARS شناسایی شود. سلولهای اختصاصی T CD8+ نیز اثر مشابهی در از بین بردن و پاک سازی MERS-CoV در موشها نشان می دهند [25]. این یافته ها می توانند اطلاعات ارزشمندی را برای طراحی واکسن علیه SARS-CoV-2 فراهم کند.

## طوفان سایتوکاین در کووید-۱۹

گزارشِ مجله ی لنست نشان می دهد که سندروم حاد تنفسی (ARDS یا Acute respiratory distress syndrome) عامل اصلی مرگ ناشی از کووید-۱۹ است. از ۴۱ بیمار آلوده به SARS-CoV-2 که در مراحل اولیه شیوع بیماری بستری بودند، شش نفر به خاطر ARDS جان خود را از دست دادند [13]. ARDS یک مورد شایع ایمونوپاتولوژیک درعفونت های SARS-CoV-2، SARS-CoV و MERS-CoV است. یکی از اصلی ترین سازوکارهای ARDS طوفان سایتوکاین است که یک پاسخ التهابی سیستمیک و کنترل نشده است که از انتشار مقادیر زیادی سایتوکاین ( IFN-a، IFN-g، IL-1b، IL-6، IL-12، IL-18، IL-33، TNF-a، TGFb و غیره) و کموکاین (CCL2، CCL3، CCL5، CXCL8، CXCL9، CXCL10 و غیره) های ضد التهابی توسط سلولهای مؤثر سیستم ایمنی (immune effector cells) در عفونت SARS-CoV به وجود می آید [13]. مشابه افراد مبتلا به SARS-CoV، افراد

مبتلا به عفونت شدید MERS-CoV میزان بالای IL-6، IFN-a و CCL5، CXCL8، CXCL-10 در سرم خون را در مقایسه با افراد دارای همین بیماری با شدتی خفیف/متوسط نشان می دهند . طوفان سایتوکاین باعث حمله شدید سیستم ایمنی بدن به خود، ARDS و نارسایی اندام های متعدد و در نهایت منجر به مرگ در موارد شدید عفونت SARS-CoV-2 می شود، دقیقاً مانند آنچه در عفونت SARS-CoV و MERS-CoV رخ می دهد [26].

## فرار کروناویروس از سیستم ایمنی

برای زنده ماندن بهتر در سلول های میزبان، SARS-CoV و MERS-CoV از چندین استراتژی برای فرار از پاسخ ایمنی استفاده می کنند. ساختارهای تکاملی میکروبی محافظت شده به نام الگوهای مولکولی مربوط به پاتوژن (PAMPs) می توانند توسط گیرنده های تشخیص الگو (PRRs) شناخته شوند. با این حال، SARS-CoV و MERS-CoV می توانند تولید وزیکولهای با غشای دو لایه که فاقد PRRs هستند را القا کنند و سپس در این وزیکولها تکثیر شوند و از این طریق از تشخیص dsRNA آنها توسط میزبان جلوگیری کنند . IFN-I (IFN-a و IFN-b) دارای اثر محافظتی در برابر عفونت های SARS-CoV و MERS-CoV است ، اما مسیر IFN-I در موش های آلوده به ویروس مهار می شود . علاوه بر این، ORF4a، ORF4b، ORF5 و پروتئین های غشایی MERS-CoV مانع حمل و نقل فاکتور تنظیم کننده IFN۳ (IRF3) به هسته و فعال سازی پروموتر IFN b می شوند . ارائه آنتی ژن همچنین می تواند توسط ویروس کرونا تحت تأثیر قرار گیرد. به عنوان مثال، بیان ژن مربوط به ارائه آنتی ژن پس از عفونت MERS-CoV کم می شود [27]. بنابراین، از بین بردن راه فرار SARSCoV-2 از سیستم ایمنی در درمان آن و تولید داروهای خاص ضروری است.

## ۳. بیماری کووید-۱۹

### ۳-۱ تظاهرات بالینی معمول کووید-۱۹

علائم معمول کووید-۱۹ شامل تب (۸۳-۹۸٪)، سرفه (۸۲-۸۴٪)، تنگی نفس (۵۵- ۱۹٪) و درد عضلات (۱۱-۴۴٪) است که شباهت زیادی به علائم SARS و MERS دارند [28]. برخی از بیماران ممکن است چند روز قبل از شروع تب، گلودرد، آبریزش بینی، سردرد و سرگیجه داشته باشند، که این امر

نشان می دهد که تب یک علامت مهم است، اما اولین علامت وجود عفونت نیست [28]. الگوی تب هنوز کاملاً درک نشده است. تعداد کمی از بیماران کووید ۱۹ دارای hemoptysis هستند ، و تعدادی از موارد نسبتاً بدون علامت هستند [۵]. بیماران مبتلا به کووید-۱۹ ممکن است افزایش سطح پروتئین C-reactive، تعداد گلبولهای سفید خون نرمال یا پایین، لنفوپنی یا ترومبوسیتوپنی را تجربه کنند [28]. افرادی که دارای تب و علائم بیماری در دستگاه تنفسی فوقانی همراه با لکوپنی یا لنفوپنی هستند باید مشکوک به ابتلا به ابن بیماری باشند، خصوصاً برای بیمارانی که سابقه مسافرت به ناحیه پاندمی یا سابقه قرار گرفتن در معرض افراد مبتلا این بیماری را دارند.

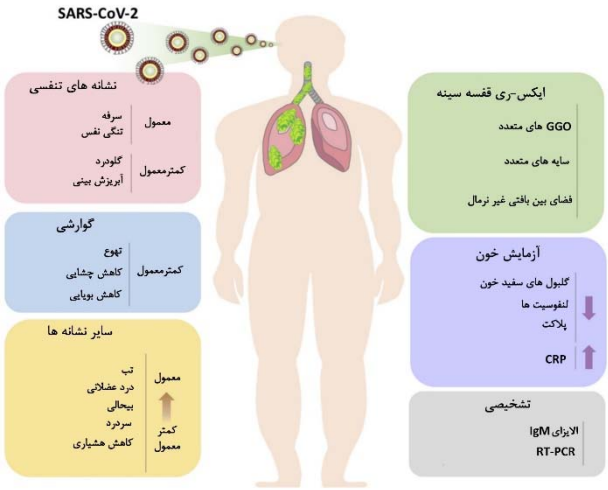
با این حال، دوره بالینی پنومونی کووید-۱۹ طیف گسترده ای از الگوهای شدت و پیشرفت را نشان می دهد. در بعضی از بیماران ، تنگی نفس متوسط ۸ روز پس از شروع بیماری (رنج بین ۵ تا ۱۳ روز) ایجاد می شود، در حالی که در برخی دیگر، ممکن است تنگی نفس وجود نداشته باشد . حدود ۳ تا ۲۹٪ از بیماران ممکن است نیاز به بستری در بخش مراقبت های ویژه داشته باشند. بیماران با شدت بیماری بالا ممکن است دوره ای از بیماری با پیشرفت سریع که به اختلال عملکرد اندام ها و حتی مرگ منجر میشود را تجربه کنند [28]، و کسانی که تنگی نفس و هیپوکسیمی دارند می توانند به سرعت و در طی یک هفته به سندرم حاد دیسترس تنفسی (ARDS)، سپسیس شدید همراه با شوک، و حتی اختلال عملکردی اندام ها دچار شوند [8]. ARDS تقریباً ۸ روز پس از شروع علائم بیماری، در ۱۷ تا ۲۹ درصد از بیماران بستری در بیمارستان دیده شده است .

همچنین شایان ذکر است که علائم گوارشی کووید-۱۹ ممکن است ناشی از آسیب مستقیم ویروسی به روده باشد نه ناشی از پاسخ ایمنی بدن به عفونت ریه درمیزبان. از آنجا که آنزیم تبدیل کننده آنژیوتنسین-۲ (ACE2)، گیرنده اصلی سلولی SARS-CoV-2 در سلول های اپیتلیال دستگاه گوارش انسان بیان می شود، اعتقاد براین است که shedding ویروسی در دستگاه گوارش و انتقال مدفوع-دهانی بسیار محتمل باشد . در واقع،

گزارش شده است که سواپ های تهیه شده از رکتوم حتی زمانی که تست های نازوفارنژیال منفی بوده، نتایج مثبت را نشان می دادند [29]. علاوه بر این، ویروس زنده در نمونه مدفوع بیماران مبتلا نیز شناسایی شده است. این شواهد قویا نشان می دهد که مدفوع می تواند برای مدت طولانی پس از ترخیص بیماران هنوز مسری باشد. بنابراین، افزودن سواپ رکتوم به معیارهای ترخیص بیماران باید برای جلوگیری از انتشار بیماری از بیمارستان ها و گسترش آن در اجتماع در نظر گرفته شود [۳۰].

علاوه بر علائم بیماری دردستگاه گوارش، یک مطالعه بر روی ۲۱٤ بیمار در چین گزارش داده است که ۵,٦٪ از بیماران hypogeusia و ۵,۱٪ hyposmia را تجربه کردند [31]. اگرچه از بین رفتن بویایی در زمان عفونت SARS-CoV-2 را می توان با تورم مخاط بینی توضیح داد، جمعیت بیشتری از بیماران برای مطالعه نیاز است تا بتوان با قطعیت گفت که hypogeusia و hyposmia ازعلائم عصبی رایج کووید-۱۹ هستند. به هر حال، این نشانه ها از علائم هشدار اولیه برای قرنطینه ی زودرس فردی به حساب می آیند. شکل ۲ نشان دهنده ی مقایسه ای از تظاهرات بالینی افراد مبتلا به SARS-CoV-2 است.

**شکل ۲.** مقایسه شدت تظاهرات بالینی افراد مبتلا به SARS-CoV-2. ترجمه و بازنشر با اجازه از [۳۴]




### ۳-۲ تشخیص کووید-۱۹

تشخیص بالینی کووید-۱۹ عمدتاً مبتنی بر تاریخچه اپیدمیولوژیک، تظاهرات بالینی و برخی معاینات کمکی از جمله تشخیص اسید نوکلئیک، سی تی اسکن، فناوری شناسایی ایمنی (تست نقطه مراقبت IgM / IgG (POCT))، روش الایزا (ELISA) و کشت سلول های خونی است. با این حال، علائم و نشانه های بالینی بیماران آلوده به SARS-CoV-2 از جمله علائم تنفسی، سرفه، تب، تنگی نفس و ذات الریه به شدت غیر اختصاصی است. بنابراین، معاینه های کمکی برای تشخیص کووید-۱۹، دقیقاً مانند تاریخچه اپیدمیولوژیک، ضروری است.

### تکنولوژی تشخیص نوکلئیک اسید

دو فن آوری متداول برای تشخیص اسید نوکلئیک SARS-CoV-2 واکنش زنجیره ای پلیمراز کمی RT-qPCR و تعیین توالی با توان بالا یا high-throughput sequencing است. روش شناسایی معتبر برای SARS-CoV-2 تعیین توالی با توان بالا کل ژنوم است. با این حال، استفاده از فناوری تعیین توالی با توان بالا در تشخیص بالینی به دلیل وابستگی به تجهیزات و هزینه بالایی که دارد، محدود است. بنابراین، RT-qPCR رایج ترین، موثر ترین و راحت ترین راه برای تشخیص ویروس های بیماری زا در ترشحات دستگاه تنفسی و خون است [32]. پس از شیوع SARS-CoV-2 در چین، شرکت های زیادی کیت های تست RT-qPCR را برای تشخیص بالینی بیماری وارد بازار کردند. مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری ها در چین (CDC) استفاده از پرایمرها و پروب های خاص در مناطق ژنی ORF1ab و N را برای تشخیص SARS-CoV-2 توسط RT-qPCR توصیه می کند. وقتی هر دو هدف این آزمایش مثبت باشد، عفونت بیمار به صورت آزمایشگاهی تایید شده می شود (http://ivdc.chinacdc.cn/kyjz/202001/t20200121_211337.html). چو و همکاران یک روش RTqPCR دو مرحله ای (سیگنال فلورسانس مبتنی بر TaqMan) را برای شناسایی جداگانه دو ناحیه مختلف (ORF1b و N) ژنوم ویروس طراحی کرده اند [33]. با استفاده از این روش، نمونه های کنترل منفی همگی به عنوان نمونه های منفی مورد تأیید قرار گرفتند، در حالی که نمونه های تنفسی دو بیمار آلوده به SARS-CoV-2 به عنوان نمونه مثبت تأیید شدند. یک مطالعه دیگر نشان داد که میزان جواب مثبت آزمایش SARS-CoV-2 در بزاق جمع آوری شده از بیماران با استفاده از RTqPCR (سیگنال فلورسانس مبتنی برSYBR غیر پروب) ۹۱,۷٪ (۱۱/۱۲) بوده، که نشان می دهد که بزاق میتواند یک نمونه

خوب و فراگیر برای تشخیص و کنترل عفونت بیماران مبتلا به این ویروس باشد . لازم به ذکر است که تشخیص RT-qPCR همچنین برای عفونت SARS-CoV و MERS-CoV حساسیت و ویژگی بالایی نشان داده بود . با این حال، یک مطاله گزارش داده است که پنج بیمار با نتایج منفی RT-qPCR کووید-۱۹ دارای نشانه های مثبت CT در قفسه

سینه بودند و آزمایش مکرر سواب (RT-qPCR) سرانجام تأیید کرد که تمام بیماران آلوده به SARS-CoV-2 هستند [34]. تشخیص SARS-CoV با استفاده از RT-qPCR تنها می تواند حساسیت ۵۰٪ تا ۷۹٪ بسته به پروتکل مورد استفاده از نوع نمونه و تعداد نمونه های بالینی جمع آوری شده، داشته باشد . بنابراین، بهبود سطح تشخیص RT-qPCR برای عفونت SARS-CoV-2 ضروری است. علاوه بر این، RT-qPCR نواقص دیگری نیز دارد، از جمله برخی از خطرات ایمنی بیولوژیکی ناشی از نگهداری و بهره برداری از نمونه های بیمار، عملیات تشخیص اسید نوکلئیک دست و پا گیر و مدت زمان انتظار طولانی برای نتایج.

## سی تی اسکن و دیگر روش های تشخیصی

اگرچه RT-qPCR برای تشخیص کووید اختصاصی است، اما نتایج منفی کاذب این روش به دلیل عواقب شدید ناشی از موارد تشخیص داده نشده قابل چشم پوشی نیست. بنابراین بسیاری از پزشکان پیشنهاد کردند که اسکن CT باید یکی از روشهای تشخیصی کمکی باشد زیرا این روش حساس تر و دقیق تر است. برای افرادی که علایم بالینی آنها با تردید همراه است و نتیجه ی غربالگری RT-qPCR آنها منفی بوده، ممکن است ترکیبی از آزمایشات RT-qPCR مکرر و سی تی اسکن قفسه سینه مفید باشد. به خصوص CT با وضوح بالا (HRCT) برای قفسه سینه برای تشخیص زودرس و ارزیابی شدت بیماری بیماران مبتلا به SARS-CoV-2 ضروری است [35]. مطالعات متعددی تصاویر CT قفسه سینه بیماران آلوده به SARS-CoV-2 را مورد تجزیه و تحلیل قرار داده است . تصاویر CT معمولی، کدورت های دو طرفه پارانشیمی با زمینه ی شیشه ای گاه با یک مورفولوژی گرد و توزیع به سمت اطراف ریه را نشان می دهند. درگیری محیط ریه در بیماران مبتلا به عفونت های SARS-CoV و MERS-CoV نیز مشاهده شده است و CT اسکن قفسه سینه نشان داده که این بیماران دارای کدورت های گرد شیشه ای عمیق ریوی که شبیه به عفونت SARS-CoV-2 است، هستند [36]. براساس این یافته ها ، سی تی اسکن روش تشخیص بالینی بسیار خوبی برای کووید-۱۹ به ویژه در منطقه شیوع بالای عفونت SARS-CoV-2 دارد. با این حال، اسکن CT نیز دارای کاستی هایی است از جمله، عدم تشخیص دیگر پنومونی های ویروسی. با توجه به کاستی های موجود در تشخیص اسید نوکلئیک و CT اسکن برای تشخیص کووید-۱۹، آزمایشگاه های بالینی باید کیت های تشخیص ایمنی برای تشخیص آنتی ژن های ویروسی با آنتی بادی ها را در اسرع وقت به کار گیرند. در حال حاضر،کیت های POCT بر پایه ی IgM/IgG و ELISA برای SARS-CoV-2 توسط برخی شرکت ها تهیه و تحت آزمایشات پیش کلینیکی قرار گرفته اند و نسبت به روش تشخیص اسید نوکلئیک میزان تشخیص بالاتری را نشان داده اند، اما هنوز هیچ محصولی یا مقاله منتشر شده ای از آن ها وجود ندارد. حساسیت روش الایزا مبتنی بر IgG بر پایه ی N برای ویروس SARS-CoV به طور قابل توجهی بالاتر از روش الایزا مبتنی بر IgG بر پایه ی S برای همین ویروس است [37]، اما حساسیت IgG/IgM برای SARS-CoV-2 همچنان مورد مطالعه است. از این رو، توسعه سایر روشهای کمکی حساس و خاص برای تشخیص کووید-۱۹ ضروری و فوری است.

## ۳ درمان ها

### ۳-۱ بازبینی مجدد دارو برای کووید-۱۹

با توجه به نیاز به یافتن درمان موثر برای بیمارانی که از خود علایم نشان میدهند، روش استفاده مجدد از داروهای ضد ویروسی قدیمی و یا عوامل مورد تأیید یا تحت بررسی در مورد سایر عفونتهای ویروسی اتخاذ شده است. در نبود واکسن، WHO اخیراً آزمایش SOLIDARITY را شروع کرده است که یک آزمایش بالینی بین المللی برای رفع این چالش است. داروهای گنجانده شده در این آزمایش لوپیناویر و ریتوناویر، لوپیناویر و ریتوناویر به علاوه اینترفرون بتا و همچنین کلروکین و رمیدسیویر است. نقش داروها و مسیرهای ضد ویروسی موجود در درمان کووید-۱۹ به شرح زیر است (شکل ۳):

ترکیب لوپیناویر (LPV) -ریتوناویر(RTV) (کالترا):

این داروی مورد تایید FDA برای درمان HIV-1 است. لوپیناویر یک مهار کننده پروتئاز است که بلوغ ذرات ویروس که یک مرحله نهایی در تکثیر HIV-1 است را مهار می کند، این در حالی است که ریتوناویر با مهار آنزیم های CYP3A که سرعت تجزیه لوپیناویر در کبد را کاهش می دهد، به افزایش فعالیت لوپیناویر کمک می کند [38]. یافته های حاصل از مطالعات in vitro و حیوانات علیه SARS و MERS نشان دهنده پتانسیل آن در درمان کووید-۱۹ است [38]. Lopinavir-Ritonavir یا به صورت جداگانه یا در ترکیب با آلفا اینترفرون (در چین) یا کلروکین/هیدروکسی کلروکین ( درکره جنوبی) با موفقیت نسبی برای درمان کووید-۱۹ استفاده شده اند [39]. با این حال، داده های جدید از چین در مورد تأثیر مفید این داروها بر بیماران کووید-۱۹ که به طور جدی بیمار هستند تردید ایجاد می کند [40]. بنابراین ، نتایج حاصل از آزمایشات بالینی بیشتری برای تایید اثربخشی این روش درمانی برای کووید-۱۹ که هم اکنون در حال انجام است، مورد نیاز است

**فاویپیراویر (فاویلاویر یا آویگان):**

فاویپیراویر (FPV) یک مهار کننده ی RNA پلیمراز وابسته به RNA است که توسط Fujifilm Toyama Chemical در ژاپن ساخته شده که در سایر عفونت های ویروسی از جمله آنفلوانزا نیز موثر بوده است. اکنون نشان داده شده است که این دارو در آزمایشات بالینی اولیه انجام شده در ووهان و شنژن در برابر SARS-CoV-2 مفید بوده است [41]. در این مطالعه، اثرات FPV در مقابل LPV/RTV در طول درمان بیماران کووید-۱۹ مقایسه شد. بیماران تحت درمان با FPV پاسخ درمانی بسیار بهتری را نشان دادند بخصوص با توجه به کلیرنس ویروسی سریعتر و سرعت بهبود مشخص شده با تصویربرداری از قفسه سینه. بر اساس این نتایج دلگرم کننده، فاویپیراویر به عنوان اولین داروی ضد کووید-۱۹ در کشور چین توسط اداره ملی داروهای پزشکی چین تأیید شد [42] .

**کلروکین/هیدروکسی کلروکین:**

کلروکین یک داروی ارزان قیمت برای درمان مالاریا است که موجود در لیست داروهای اساسی WHO است. همچنین از آن به عنوان یک عامل ضد التهاب برای درمان بیماری های خود ایمنی استفاده می شود. تصور می شود که کلروکین با افزایش pH اندوزوم میتواند بسیاری از ویروسها مانند ابولا و ماربورگ که برای تکثیر موفقیت آمیز به محیط اسیدی اندوزوم احتیاج دارند، را مهار کند [۴۳]. با این حال، یک مطالعه اخیرا نشان داد که اثرات ضد التهابی کلروکین از طریق افزایش بیان مهار کننده کیناز وابسته به سایکلین، p21 انجام میگیرید [44]. با این حال مطالعات in vitro اثر ضد ویروسی قوی آن در برابر SARS-CoV-2 را نشان داده اند . یک کارآزمایی بالینی چند مرکزه در چین، اثربخشی کلروکین در بهبود ذات الریه با حاشیه ایمنی قابل قبول برای درمان کووید-۱۹ را گزارش کرده است [45]. هیدروکسی کلروکین یک آنالوگ کلروکین است که مشخصات ایمنی بالینی بهتری همراه با پایدارتری بیشترنشان میدهد و دارای فعالیت ضد SARS-CoV-2 است. اخیرا نشان داده شده است که برای بهبود و پاکسازی ویروس در بیماران کووید-۱۹ سریعتر عمل می کند و با موفقیت در ترکیب با آنتی بیوتیک ماکرولید آزیترومایسین استفاده می شود [46]. با این حال، یک آزمایش بالینی اخیر نتایج ناامید کننده ای را با ترکیب آزیترومایسین با هیدروکسی کلروکین در بیماران مبتلا به کووید-۱۹ که به شدت بیمار هستند نشان داده است، که نشان می دهد قبل از توصیه های قطعی در مورد کلروکین/هیدروکسی کلروکین در درمان کووید-۱۹، آزمایشات بیشتری نیاز است [47]. جالب توجه است که کلروکین و هیدروکسی کلروکین یونوفورهای روی هستند و نشان داده شده است که روی آنزیم های RNA پلیمراز وابسته به RNA در ویروس های کرونا اثرمهاری میگذارند . بنابراین، یک دلیل برای موفقیت محدود برخی از این آزمایشات بالینی می تواند به دلیل عدم وجود مکمل روی باشد که برای مشاهده اثرات درمانی این داروها بر SARS-CoV-2 و سایر عفونت های ویروس های RNA ای ممکن است لازم باشد [48].

**رمدیسیویر (GS-5734)**

Remdesivir یک داروی آنالوگ نوکلئوتیدی با فعالیت ضد ویروسی با طیف گسترده در برابر بسیاری از ویروس های RNA دار است [49]. این دارو مانند فاویپیراویر، RNA پلیمراز وابسته به RNA، آنزیمی که ژنوم ویروسی را تکثیر می کند، را هدف قرار میدهد و مانع مرحله اولیه تکثیر ویروس می شود. همچنین نشان داده شده است که این دارو از تکثیر MERSCoV، SARS-

CoV و SARS-CoV-2 در مدل های حیوانی جلوگیری می کند [49]. تاکنون از رمدیسیویر به عنوان داروی تحقیقاتی برای درمان ابولا ، MERS-CoV و SARS-CoV2 و سایر ویروسهای RNA ای استفاده شده است [49]. در استفاده از رمدیسیویر در گروهی از بیماران بستری شده به خاطر کووید-۱۹ شدید، توسعه دهندگان دارو (Gilead Sciences) بهبود بالینی در ۶۸٪ (۳۶ از ۵۳) بیماران را گزارش کردند [50]. نتایج اولین آزمایش بالینی تصادفی کنترل شده با دارونما ، متعلق به رمدسیویر که در ۲۳۷ بیمار از هوبئی، چین انجام گرفت، به تازگی منتشر شده است [51]. متأسفانه این مزایای بالینی از نظر آماری معنی دار نبودند [51]. بعلاوه، درمان با رمدیسیویر در بعضی از بیماران به دلیل اثرات نامطلوب، باید زود تر از انتظار متوقف میشد. در مورد چندین آزمایش بالینی رمدیسیویر در چندین کشور، نتایج بیشتری در آینده منتشر خواهند شد تا رهنمودهای قطعی تری در مورد استفاده از آن در بیماران کووید-۱۹ داشته باشیم.

**:SNG001**

SNG001 یک داروی تجربی استنشاقی (اینترفرون بتا) است که توسط شرکت بیوتکنولوژی Synairgen تولید شده است. توانایی استنشاق دارو به بیماران این امکان را می دهد تا "با استفاده از یک نبولایزر کوچک دستی" آن را "به خود تجویز کنند". این دارو برای بیماری شدید اختلال انسدادی مزمن ریوی (COPD) ساخته شده است، اما به دلیل بحران کووید-۱۹ فعلی، برای استفاده در یک آزمایش بالینی فاز II در انگلستان سریعاً مورد استفاده قرار گرفته است (https: //adisinsight. springer.com/drugs/800024480) (EudraCT2020-001023- 14) ، که انتظار میرود نتایج آن به زودی منتشر شود.

**ایورمکتین (Ivermectin):**

ایورمکتین (avermectin B1a و avermectin B1b) یک داروی ضد انگل است که فعالیت ضد ویروسی با طیفی گسترده را در شرایط in vitro نشان داده است. در فیبروبلاست های آلوده به SARS-CoV-2 (سلول های Vero-hSLAM) ، یک بار افزودن ایورمکتین ۲ ساعت پس از عفونت باعث کاهش ۵۰۰۰ برابریِ RNA ویروسی در طی ۴۸ ساعت شد [52]. با این حال، غلظت پلاسمایی ایورمکتین، حتی در دوز ۱۰ برابر بیشتر از دوز تایید شده توسط سازمان غذا و دارو (ایالات متحده آمریکا)، به IC50 تعیین شده در شرایط in vitro نرسید. از این رو احتمال یک آزمایش بالینی موفق با استفاده از ایورمکتین کم است [53].

**۳-۲ درمان با پلاسمای بهبودیافتگان (CP)**

این روش یک نوع ایمونوتراپی تطبیقی کلاسیک است که بیش از یک قرن برای پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری های عفونی اعمال شده است. نشان داده شده است که CP طی دو دهه گذشته در برابر عفونت SARS، MERS و H1N1 موفق آمیز بوده است [54]. در این روش درمانی، پلاسما (با آنتی بادی های خنثی کننده) از اهدا کننده ای که از عفونت بهبود یافته است استخراج می شود و به دنبال آن برای بیماران آلوده تجویز می شود. نتایج مقدماتی در مورد تجویز CP برای افراد به شدت بیمار کووید-۱۹، بهبود قابل توجهی را گزارش کرده اند و آزمایشات بالینی در مقیاس بزرگ ادامه دارند [55]. علاوه بر این رویکرد کلاسیک، دیگران در تلاشند تا آنتی بادی های خاص تولید شده توسط بیماران در حال بهبود را شناسایی و تعیین خصوصیت کنند تا ببینند آیا می توان از آنها به عنوان آنتی بادی های موثر در درمان کووید-۱۹ استفاده کرد یا خیر [42]. به عنوان مثال، AbCellera، یک کمپانی بیوتکنولوژی کانادایی (ونکوور، کانادا)، بیش از ۵۰۰ آنتی بادی منحصر به فرد از سرم یک بیمار بهبود یافته کووید-۱۹ کشف کرده است و با همکاری Eli Lilly، در حال توسعه درمان های مبتنی بر آنتی بادی های مونوکلونال IgG1 برای ویروس کرونا است. علاوه بر این، InflaRx (جنا ، آلمان) و شرکت بیوتکنولوژی پکن دفنگری (پکن ، چین) از آنتی بادی های مونوکلونال IgG1 انسانی در برابر فاکتور کمپلمان a۵ به عنوان درمان استفاده می کنند، زیرا C5 دلیل اصلی آسیب بافتی در بیماران است. این قبیل آنتی بادی ها قبلاً برای آزمایشات بالینی در چین تأیید شده اند.

**۳-٤ فرم محلول Human Angiotensin-Converting Enzyme 2 (ACE2)**

ACE2 گیرنده میزبان ویروس SARS-CoV-2 است که برای ورود به سلولهای انسانی با پروتئین اسپایک ویروسی در تعامل است. بنابراین، پیشنهاد شده است که جلوگیری از این تعامل می تواند به طور بالقوه به عنوان یک درمان موثر برای بیماران کووید-۱۹ استفاده شود [56]. مطابق با این فرضیه، اخیرا یک مطالعه

آزمایشگاهی نشان داده است که ACE2 محلول نوترکیب انسانی در سطح بالینی (hrsACE2)، می تواند همانندسازی SARS-CoV-2 را کاهش دهد، در نتیجه بار ویروسی به طوروابسته به دوز به شدت در سلولهای Vero کاهش می یابند [57]. علاوه بر این، آنها ادعا میکنند که hrsACE2 می تواند باعث مهار عفونت ویروسی در رگهای خونی مهندسی شده انسان و ارگانوئیدهای کلیه شود. این مشاهدات امیدوارکننده است و دریچه جدیدی از فرصت را برای استفاده از hrsACE2 برای جلوگیری از عفونت SARS-CoV-2 در مراحل اولیه با جلوگیری از ورود آن به سلولهای هدف، باز می کند، بنابراین به طور بالقوه از بیماران در برابر آسیب ریه محافظت می کند.

### ٤-٤ آنتی بادی های مونوکلونال و بازدارنده ها

**توسیلیزوماب:**

توسیلیزوماب یک آنتی بادی مونوکلونال انسانی شده برعلیه گیرنده اینترلوکین-٦ (IL-6R) است که برای درمان بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید، آرتریت ایدیوپاتیک سیستمیک نوجوانان و آرتریت سلول غول پیکر مورد تأیید FDA است . نشان داده شده است که IL-6 یک واسطه اصلی طوفان آزادسازی سایتوکاین (CRS) است که دربیماران کووید-۱۹ بسیار مشاهده می شود [58]. بنابراین، به عنوان یک درمان بالقوه برای درمان چنین بیمارانی پیشنهاد شده است [59]. علاوه بر این، اخیراً توسیلیزوماب به عنوان یک عامل سرکوب کننده سیستم ایمنی در طی CRS مشاهده شده در بیماران کووید-۱۹ به شدت مریض در چین و ایتالیا، نتایج امیدوار کننده ای ازخود نشان داده است [60]. بیماران کووید-۱۹ تحت درمان با توسیلیزوماب در چین بهبود چشمگیری نشان دادند که نشان می دهد توسیلیزوماب به طور بالقوه می تواند در درمان بیماران مبتلا به عفونت شدید بسیار موثر باشد. مطابق با این، تجویز توسیلیزوماب در یک بیمار کووید-۱۹ مبتلا به ذات الریه در ایتالیا تغییرات مطلوبی در یافته های CT در طی ١٤ روز از درمان نشان داده است [61].

**میلازوماب:**

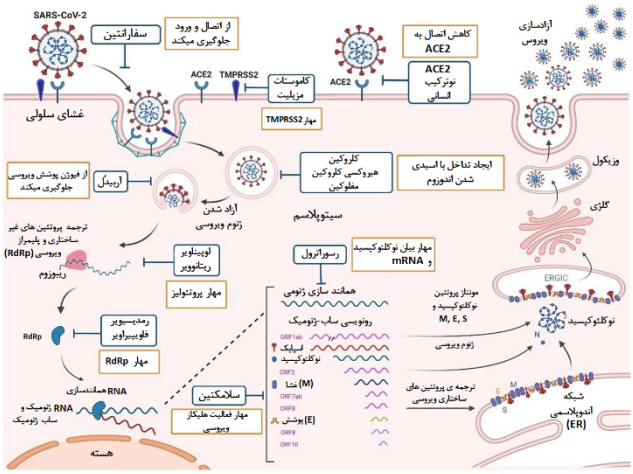
میلازوماب یک آنتی بادی مونوکلونال انسانی برعلیه CD147 است که شواهد حاکی از تاثیر گذار بودن آن در جلوگیری از عفونت SARS-CoV-2 در فیبروبلاست هاست (سلول های VeroE6) [62]. در حال حاضر، شواهد کافی برای نتیجه گیری در مورد مزایای میلازوماب برای درمان بیماران کووید-۱۹ وجود ندارد. در یک مطالعه که در چین انجام گرفته، بزرگسالان مبتلا به کووید-۱۹ که با ذات الریه بستری شده اند (۱۷ نفر) و تحت درمان با تزریق وریدی میلازوماب به عنوان یک درمان افزودنی قرار گرفتند، میزان بهبودی بالاتری در مقایسه با گروه شاهد (۱۱ نفر) نشان داده اند [63]. با این حال، این نتایج باید با احتیاط تفسیر شوند زیرا آنها در یک مطالعه بدون طبقه بندی و غیرقطعی، با حجم نمونه کوچک بدست آمده اند. برای ارزیابی اثر بخشی و ایمنی میلازوماب به عنوان یک درمان بالقوه برای کووید-۱۹، مطالعات گسترده تری لازم است.

## کینازها:

مطالعات متعدد نشان داده است که کیناز های متعددی از جمله، PAK1، نقش مهمی در ورود، تکثیر و انتشار چندین ویروس مهم، از جمله آنفلوانزا و HIV دارد . ویروس های کرونا از ماکروپینوسیتوز برای ورود به سلول ها استفاده می کنند و نشان داده شده است که این روند به فعالیت PAK1 وابسته است [64]. هدف قرار دادن PAK1 برای جلوگیری از میکروپینوسیتوز میتواند در مداخله درمانی نقش مهمی ایفا کند . این امر به شدت نشان می دهد که مهار کننده های PAK1 می توانند برای درمان عفونت کووید-۱۹ با ارزش باشند. مهار کننده های PAK-1 شامل اسید کافئیک و استر های آن، بره موم، کتورولاک و تریپتولید هستند. متأسفانه، همه اینها مشکلاتی در حلالیت و نفوذ به سلول دارند. با این حال، مهارکننده های جدید PAK-1، مانند K۱۵ (استر ۱،۲،۳-تریازولیلی کتورولاک) که ۵۰۰ برابر قویتراز ماده اصلی در مهار PAK1 عمل میکند، مینلاید (که در آن یک گروه هیدروکسیل از تریپتولید فسفریله می شود و حلالیت آن درآب را بیش از ۳۰۰۰ برابر افزایش می دهد) و frondoside A بسیار قوی تر هستند و ممکن است در سرکوب اثرات این ویروس با موثر باشند [65].

**شکل ۳** – اتصال، ورود و چرخه تکثیر SARS-CoV-2 در سلولهای اپیتلیال و تأثیر انواع عوامل ضد ویروسی. اتصال پروتئین اسپایک SARS-CoV-2 (S) به آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین-۲ (ACE2) واسطه اندوسیتوز ویروس به سلول میزبان می شود. ورود ویروس به سلول به اتصال پروتئین های ویروسی S به گیرنده های سلولی و آغاز آماده سازی پروتئین S توسط پروتئیناز غشایی، سرین ۲ (TMPRSS2) بستگی دارد. *سفارانتین/ACE2 نوترکیب انسانی و*

*مسیلات کاموستات* مهارکننده های ورود ویروس هستند که به ترتیب از اتصال پروتئین S به ACE2 و آماده سازی آن جلوگیری می کنند. در مرحله جداسازی پوشش، ویروس ها توسط اندوسیتوز وابسته به گیرنده وارد می شوند و pH کم در آندوزوم باعث همجوشی غشاهای ویروسی و آندوزومی می شود و RNA تک رشته ای در سیتوپلاسم آزاد می شود. *آربیدول، کلروکین، هیدروکسی کلروکین و مفلوکین* مانع مرحله جداسازی پوشش می شوند. رونویسی از ژنوم ویروسی و تجزیه پروتئولیتیک پلی پروتئین replicase و پروتئین های ترجمه شده در نتیجه به پردازش RNA پلی مراز وابسته به RNA ( که به طور مختصر به آن RdRp گفته میشود) ختم میشود. *لوپیناویر، ریتوناویر، رمدسیویر و فاویپیراویر* از پروتئولیز و فعالیت RdRp جلوگیری می کنند. پروتئین های ساختاری و غیرساختاری، از جمله پروتئین های نوکلئوکپسید به عنوان RNA های ساب-ژنومیک بیان می شوند. *سلمکتین و رسوراترول* ممکن است فعالیت هلیکاز ویروسی، سنتز mRNA ویروسی و بیان پروتئین های نوکلئوکپسید را مهار کنند. مونتاژ و جوانه زدن پروتئین های ویروسی و نوکلئوکپسید در غشای شبکه آندوپلاسمی (ER)، محفظه میانی ER-Golgi (ERGIC) و/یا مجموعه گلژی رخ می دهد. ویروس های جدید SARSCoV-2 در اثر برون گسیختگی (اگزوسیتوز) آزاد می شوند. ترجمه و بازنشر با اجازه از [68].



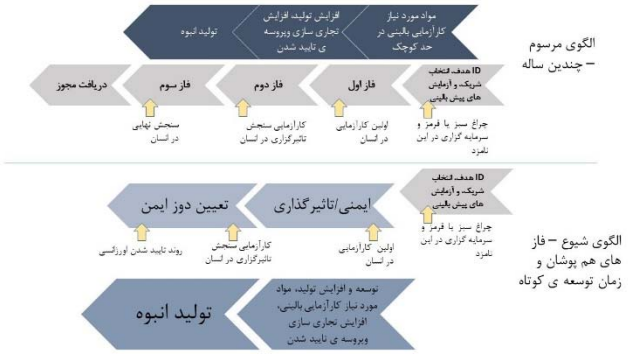

## ۵ واکسن

### تولید واکسن علیه SARS-CoV-2 :

نیاز به تولید سریع واکسن علیه SARS-CoV-2 در زمان انفجار اطلاعات علمی ، از جمله در زمینه های ژنومیک و زیست شناسی ساختاری صورت گرفت که دوره جدیدی را در تولید واکسن پشتیبانی می کند. در دهه اخیر جامعه علمی و صنعت واکسن سعی در پاسخگویی به نیاز فوری به اپیدمی های آنفلوانزای $H_1N_1$ ، ابولا، زیکا و در حال حاضر SARS-CoV-2 دارند. چندین پلتفرم برای ایجاد واکسن در حال توسعه است که در این میان استفاده از DNA و RNA و به دنبال آنها واکسنهای نوترکیب زیرواحدی دارای بیشترین پتانسیل در ایجاد سریع واکسن هستند.

توسعه واکسن یک روند طولانی و گران قیمت است و به طور معمول به کاندیداهای متعدد و سالهای زیادی برای تولید واکسن دارای مجوز نیاز است. توسعه سریع واکسن نیازمند یک پارادایم جدید پاندمی است با یک شروع سریع و مراحلی که به صورت موازی قبل از تایید نتایج موفقیت آمیز مرحله قبل امتحان می شوند و در نتیجه منجر به خطرات اقتصادی زیادی می شوند (شکل ٤) [٦٦].

**شکل ۴** – تفاوت بین توسعه واکسن سنتی و توسعه با استفاده از یک پارادایم همه گیر




در حالی که تولید واکسن ها علیه کووید-۱۹ در حال انجام است ، تعریف آنچه از این واکسن ها یا واکسن هایی برای ویروس های نوظهور در آینده انتظار داریم مهم است. نیازی به گفتن نیست که واکسن باید ایمن و موثر باشد و نباید باعث ابتلا به بیماری در پی عفونت متعاقب ، چه از طریق بیماری تنفسی تقویت شده مرتبط با واکسن و چه افزایش وابسته به آنتی بادی شود ، همانطور که در برخی از واکسن های SARS CoV در مدل های حیوانی در گذشته مشاهده شده است.

به منظور جلوگیری از بیماری شدید بعد از عفونت ، واکسیناسیون باید منجر به (۱) لغو کامل یا کاهش قابل توجه انتقال در جمعیت با القا مصونیت جمعیت یا (۲) پیشگیری از بیماری شدید در همه افراد واکسینه شده شود. هر دو روش نیاز به تولید مقادیر زیادی واکسن ، توزیع شده در سراسر جهان دارد. یک واکسن با دوز منفرد که به زنجیره سرما احتیاج نداشته باشد ، در بازه زمانی مشخص می تواند به رسیدن به واکسیناسیون جهانی در مقیاس بزرگ کمک کند. در حالت ایده آل ، واکسیناسیون باعث ایمنی طولانی مدت می شود ، اما بر اساس تجربیات مربوط به واکسن سالانه آنفلوانزا ، واکسیناسیون سالانه امکان پذیر است. اقدامات واکسیناسیون که باعث ایجاد ایمنی جمعیت می شوند یا از

افراد واکسینه شده در برابر بیماری شدید محافظت می کنند ، با چالش های مختلفی روبرو هستند [٦٧].

ایمنی یکی از مهمترین نگرانی های واکسنها است که در طی مراحل ساخت باید مورد توجه قرار گیرد. در غیر این صورت ، عدم تأیید توسط یک سازمان تنظیم کننده نتیجه این فرآیند است. کمبودها و عدم ثبات در نتایج مربوط به آسیب شناسی ریه ، آسیب کبدی و ADE (Antibody-dependent enhancement) مشاهده شده در عفونت های CoV در مدل های حیوانی ، درک بهتر مبانی بیولوژیکی برای وقوع آنها و شناخت بهتر ایمونولوژی انسانی را برای جلوگیری از واکنش های مشابه در انسان ضروری می کند. به عنوان مثال، ADE یک مانع طولانی مدت در تولید واکسن علیه CoV است. این ADE با پروتئین S تمام طول مشاهده شده است و در نظر گرفته می شود که با تولید آنتی بادی های اختصاصی پروتئین S همراه باشد [٦٨].

## انواع واکسن ها و روش های نوآورانه برای تولید واکسن

رویکردهای مختلفی برای تولید واکسن وجود دارد. ساده ترین روش تولید واکسن ، استفاده از ویروس غیرفعال شده با مواد شیمیایی ، حرارت و یا اشعه ی گاما است . در این شکل از واکسن ها، پروتئین هایی که روی سطح این ویروس غیرفعال شده وجود دارند ، در بدن میزبان به عنوان آنتی ژن شناسایی می شوند و می توانند تولید آنتی بادی های خنثی کننده را تحریک نمایند. از جمله این واکسن ها می توان به واکسن فلج اطفال اولیه اشاره کرد [٦٩]. روش دیگر تولید واکسن ، استفاده از اشکال ضعیف شده ویروس ها است. علی رغم آن که این شکل از ویروس ها تکثیر آهسته ای را در سلول دارند، اما می توانند مقادیر کافی از آنتی ژن های ویروسی را برای القای پاسخ سیستم ایمنی فراهم نمایند. از این دسته از واکسن ها می توان به واکسن هاری و واکسن BCG اشاره کرد. تزریق واکسن های حاوی ویروس های ضعیف شده خالی از اشکال نیست، اما به دلیل آن که این نوع واکسن ها می توانند یک عفونت خفیف ایجاد کنند، از نظر تحریک پاسخ ایمنی اکتسابی موفقیت بیشتری نسبت به واکسن های حاوی ویروس ها یا ارگانیسم های غیرفعال شده خواهند داشت. با وجود موفقیت آمیز بودن استفاده از واکسن های حاوی ویروس ها و ارگانیسم های ضعیف شده ، تولید آنها در شرایط همه گیری فعلی که نیاز اساسی به تولید واکسن در مدت زمانی کوتاه احساس می شود، به سادگی انجام نمی شود زیرا برای تولید آن ها باید با انجام چندین دوره کشت در آزمایشگاه ، به سویه ی غیربیماری زا و یا ضعیف دست یافت ، همچنین گاهی شدت و نوع ایمنی اکتسابی ایجاد شده توسط این واکسن ها ارتباط مستقیمی با سویه ی مورد استفاده دارد. در نتیجه با توجه به دانش کم امروز در رابطه با عوامل ویرولانس کرونا ویروس ها و خصوصا ویروس SARS-CoV-2 دستیابی به این امر با چالش های مختلفی رو به رو است [٧٠]. با این حال موسسه Sinovac Biotech در چین در حال توسعه ی نوعی واکسن بر پایه کرونا ویروس غیرفعال شده با فرمالدئید است، همچنین موسسه Codagenix در ایالات متحده آمریکا و انستیتو سرم سازی هند، در یک همکاری مشترک ، اقدام به توسعه واکسنی برپایه کرونا ویروس اصلاح شده ژنتیکی و ضعیف کرده اند[٧٠].

نوع دیگری از واکسن ها بر پایه ایجاد ایمنی اکتسابی با استفاده از قطعات پروتئینی ویروسی است. این قطعات پروتئینی در بدن به عنوان عوامل آنتی ژنی شناخته شده و منجر به تحریک ایجاد پاسخ های ایمنی هومورال و سلولی می شوند[٧٠]. شباهت میان SARS-CoV، MERS و SARS-CoV-2 از نظر فیلوژنتیک منجر شده تا با توجه به مطالعات انجام شده روی سایر کرونا ویروس ها ، از جمله SARS-CoV و MERS، از پروتئین های مختلفی مانند پروتئین های N (پروتئین نوکلئوکپسید ویروس)، S (spike) و E (پروتئین Envelope) برای تولید واکسن های برپایه پروتئین ها استفاده کرد. پروتئین اسپایک را با اطمینان می توان به عنوان قوی ترین کاندید برای تولید این شکل از واکسن ها در نظر گرفت [٧٠]. در واکسن های بر پایه پروتئین اسپایک، آنتی بادی های ایجاد شده علیه این پروتئین سطحی ویروسی، منجر به مسدود شدن اتصال پروتئین به رسپتور ACE-2 می شود . اشکال استفاده از این پروتئین ها ، ناپایداری آنها است ، به طوری که در طی مدت زمان کمی پس از تزریق ، ساختار مولکولی خود را از دست داده و منجر به شکست استراتژی تحریک تولید سلول های ایمنی بدن برای تولید آنتی بادی های اختصاصی علیه ویروس SARS-CoV-2 می شوند. علاوه بر آن ، ممکن است پروتئین ویروسی به حالت آزاد ، شکل پایداری که در سطح ویروس از خود به نمایش می گذاشت را از دست بدهد و با شکلی متفاوت به

سیستم ایمنی بدن معرفی شود. برای جلوگیری از این مشکلات می توان از روش گیره های مولکولی یا Molecular clamps استفاده کرد. در این روش برای تحریک ایجاد پاسخ ایمنی قوی تر ، از پلی پپتیدهای کلیدی ساختاری موجود در مناطق مختلف پروتئین استفاده می شود [۷۰].

یکی از روش های نوآورانه در تولید واکسن های پروتئین / زیرواحد ، استفاده از وکتورهای اصلاح شده ژنتیکی است که با نام وکتورهای تکثیر شونده (Replicating vectors) معروف هستند. از جمله این وکتورها می توان به انواع بر پایه آدنوویروس ها، ویروس سرخک، پاکس ویروس و ویروس وزیکولار استوماتیت (VSV) اشاره کرد[۷۰]. ژنوم این ویروس ها تحت فرایندهای اصلاح ژنتیکی قرار گرفته و ماهیت بیماری زایی آن ها از بین رفته است. بنابراین به راحتی می توان توالی کد کننده پروتئین / زیرواحد را به توالی ژنی این وکتورهای ویروسی متصل کرد تا پس از انجام فرایند تکثیر در سلول میزبان ، پروتئین مورد نظر در میزبان ، بیان گردد. به عنوان مثال وکتورهای مبتنی بر ویروس سرخک ، به علت توانایی آلوده سازی سلول های دندریتیک و ماکروفاژ ها ، می توانند ایمنی مادام العمر ایجاد کنند ، در نتیجه می توان آن ها را برای تولید واکسن علیه SARS در نظر گرفت [۷۱].

ارائه ی آنتی ژن در پایدار ترین و موثرترین حالت ، یکی از عمده ترین مشکلات استفاده از واکسن های مبتنی بر پروتئین / زیرواحد است. برای حل این مشکل می توان از پارتیکل های شبهه ویروسی Virus-like particles (VLPs) استفاده کرد. پارتیکل های شبهه ویروسی ، متشکل از پروتئین های ساختاری متعددی هستند که می توانند پروتئین های کپسید را همراه با خود در نانوساختارها محصور نمایند [۷۲].

انواع وکتورهای غیر تکثیر شونده (Non-replicating) شامل آدنوویروس هایی می شود که ژن های ضروری برای تکثیر آن ها حذف شده و ژن های کد کننده پروتئین آنتی ژنیک هدف برای تولید واکسن ، جایگزین آن ها می شود [۷۳]. محبوب ترین این وکتورها ، نسخه ای ضعیف شده از پاکس ویروس ها به نام ویروس واکسینیا آنکارا اصلاح شده (MVA) است . وکتورهای آدنووایرال نسل سوم، برای تولید واکسن علیه بیماری های عفونی مثل ابولا، زیکا، مالاریا، HIV و ویروس هپاتیت C استفاده شده اند [۷٤].

همانند واکسن های DNA ، واکسن های مبتنی بر mRNA ، از روش های نوینی هستند که به دلیل ماهیت mRNA با خطر اینتگره شدن (ادغام شدن) در ژنوم میزبان مواجه نبوده و این مسئله باعث شده تا نسبت به واکسن های مبتنی بر DNA ارجح باشند. این واکسن ها با استفاده از مکانیسم های رونویسی سلول میزبان ، پروتئین هدف را تولید کرده و منجر به تحریک ایمنی اکتسابی بدن می شوند [۷۰].

تیم تحقیقاتی ما مدتی است که کار برای تحقیق و توسعه ی واکسنی خوراکی/تنفسی موثر برعلیه SARS-CoV-2 را شروع کرده است. این واکسن از ذرات کیتوزانی بهره میبرد که در سطح خود با پروتئین Spike این ویروس تزئین شده اند. کیتوزان پلی ساکاریدی است که از سازمان غذا و داروی آمریکا برای مصارف خوراکی مجوز دریافت کرده است. این واکسن در صورت موفقیت در فاز های پیش بالینی، توان ورود به فاز بالینی را هم دارد و در صورت موفقیت میتواند با رقبای خارجی این حوزه رقابت کند. علاوه بر این، خوراکی/تنفسی بودن این واکسن استفاده ی آن را حتی برای افراد مسن و کودکان راحت میکند.

## واکسنهای SARS-CoV و MERS-CoV :

با نگاهی به دیگر بیماریهای کروناویروسی دارای شیوع (MERS و SARS ) که منجر به اپیدمی های منطقه ای در کشورهای مختلف شد ، انگیزه برای تولید واکسن در ابتدا قوی بود اما به صورت خود به خودی از بین رفتند. اگرچه نامزدهای واکسن برای هر دو ویروس SARS-CoV-1 و MERS مطرح شده بودند و پروژه ها ادامه دارد ، هنوز هیچ واکسن تأیید شده ای برای عامل عفونی به ترتیب طی ۱۷ و ٦ سال از زمان شروع شیوع آنها وجود ندارد [۷۵].

**جدول ۲** – واکسن های SARS و MERS [۷۹, ۸۰]

| کاندید برای غیر کرونا ویروس | مرحله کارآزمایی بالینی | تولید کننده | نوع کاندیدای واکسن | اساس |
|---|---|---|---|---|
| **MERSواکسن های** | | | | |
| Lassa, Nipah (CEPI) HIV Filovirus HPVCancer indications Zika Hepatitis B | فاز ۱ | Inovio Pharmaceuticals | واکسن پلاسمDNA یدی که گلیکوپروتئین ویروس S MERS CoV را کد می کند، به روش الکتروپوریشن | DNA |
| CHIK, Ebola, Lassa,Marburg, Zika, influenza | فاز ۱ | IDT Biologika GmbH | MVA-MERS-S | وکتور ویروسی غیرتکثیر شونده |
| Malaria, Influenza, CHIK, RABV, TB, RVFV | فاز ۱ | University of Oxford | ChAdOx1 MERS | |
| **SARSواکسن های** | | | | |
| Ebola, HIV | فاز ۱ | National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) | واکسن DNA VRC-SRSDNA 015-00VP ، استفاده از بایوجکتور | DNA |

## واکسنهای SARS-CoV :

بعد از اپیدمی SARS در سال ۲۰۰۲–۲۰۰۳، آزمایشگاههای تحقیقاتی بسیاری در جهان مطالعاتی را برای تهیه واکسن برای جلوگیری از این بیماری شروع کردند. بیشتر واکسنهای subunit گلیکوپروتئین اسپایک (S) ویروس را مورد هدف قرار دادند. ویروس SARS-CoV با استفاده از این گلیکوپروتئین به سلولهای هدف متصل شده و وارد سلولها می شود. بنابراین ، واکسنی که پاسخهای ایمنی شدیدی را در برابر این پروتئین ایجاد کند ، تأثیر مهمی در جلوگیری از ورود ویروس به سلولهای میزبان در طی عفونت طبیعی خواهد داشت [۷۶]. واکسنهای بر اساس ویروس زنده ضعیف شده یا ویروس غیرفعال شده، وکتورهای ویروسی نوترکیب، DNA، ذرات شبه ویروسی (VLP) و پروتئینهای محلول مورد مطالعه قرار گرفته اند و اکثرا در فاز پیش بالینی هستند و تنها یک DNA واکسن در فاز ۱ بالینی قرار دارد (جدول ۲ ). در زمینه تولید واکسن مطلوب است که بدانید آیا واکسن می تواند از عفونت ویروس و علائم بالینی محافظت کند یا خیر. این کار معمولاً با قرار دادن افراد واکسینه شده (مدل های حیوانی) در معرض ویروس مورد نظر (به چالش کشیدن) انجام می شود. با توجه به حدت کروناویروس SARS ، مطالعات چالش بر روی انسان انجام نشد. بنابراین ، اثر محافظتی واکسن ها ارزیابی نشده است.

## واکسنهای MERS-CoV :

چندین واکسن برای ویروس کرونا ویروس MERS از زمان ظهور آن در سال ۲۰۱۲ ساخته شده است. همانطور که در مورد واکسن های SARS وجود دارد ، بیشتر واکسن های زیر واحد MERS بر اساس گلیکوپروتئین S ساخته شده اند. واکسنهای مبتنی بر ویروسهای ضعیف شده و زنده ضعیف شده ، وکتورهای ویروسی نوترکیب ، نانوذرات (کنگلومرا پروتئینهای آنتی ژنیک با اندازه نانو) ، DNA و پروتئینهای محلول ساخته شده و بیشتر در مدلهای حیوانی آزمایش شده اند (جدول ۲ ). از این میان یک واکسن DNA و دو واکسن وکتور ویروسی غیر تکثیرشونده در فاز ۱ کارآزمایی بالینی قرار دارند.

## پتانسیلهای تولید واکسن در SARS-CoV-2 :

واکسن ها موثرترین و اقتصادی ترین وسیله برای پیشگیری و کنترل بیماری های عفونی هستند. تهیه واکسن موثر علیه عفونت SARS-CoV-2 به سرعت مورد نیاز است. تاکنون بیش از ۴۰ شرکت دارویی و موسسه دانشگاهی برنامه های خود را در زمینه تولید واکسن علیه SARS-CoV-2 آغاز کرده اند. در این قسمت، پتانسیلهای موجود در ویروس که می توانند مورد هدف برای تهیه واکسن باشند به طور خلاصه مورد بررسی قرار می گیرند:

### آنتی ژنهای کل سلول (Whole Cell Antigen ):

آنتی ژن های کل سلول (WCA) حاوی تمام عناصر ویروس از جمله پروتئین ها ، لیپیدها ، پلی ساکارید ، اسیدهای نوکلئیک و برخی از اجزای دیگر هستند. از WCA برای تولید واکسنهای کشته

شده و سلولهای زنده ضعیف شده استفاده شده است . با توجه به ترکیبات پیچیده WCA ، مواجهه با مشکلات بیشتری در کنترل کیفیت و ارزیابی پایداری اجتناب ناپذیر است. تا کنون ، چندین موسسه با موفقیت سویه های ویروس SARS CoV-2 را جدا کرده و تولید واکسن کشته شده سلول کامل یا ضعیف شده را آغاز کرده اند. با این حال ، تحقیقات در مورد نوع واکسن نیاز به غربالگری دقیق برای به دست آوردن سویه هایی با بیماری زایی مطمئن یا بدون بیماری زایی دارد [۷۷].

### پروتئین اسپایک (پروتئین S ):

این پروتئین مطمئن ترین آنتی ژن برای تحقیقات واکسن SARS-CoV-2 است. این پروتئین در سطح ویروس قرار دارد و میان کنش بین ویروس و سلول میزبان را از طریق اتصال به رسپتور ACE2 باعث می شود و همولوگ این پروتئین در واکسنهای علیه SARS و MERS مورد استفاده قرار گرفته است [۷۸]. مونومر این پروتئین ۱۲۷۳ اسیدآمینه و ۱۴۰ کیلودالتون است و از طریق تجمع خودبخودی تشکیل هموترایمر می دهد. این پروتئین دارای دو زیرواحد $S_1$ و $S_2$ می باشد. زیرواحد $S_1$ دارای دو دومین N–انتهایی و C–انتهایی است و دومین متصل شونده به رسپتور (RBD ) در بخش انتهای C (CTD) واقع شده است. بخش RBD به طور مستقیم با گیرنده ACE2 بر روی سلولهای میزبان واکنش می دهد. زیرواحد $S_2$ دارای عناصر اساسی مورد نیاز برای فیوژن غشاء است که عبارتند از پپتید فیوژن غشای داخلی ( internal membrane fusion protein )، دو تکرار ۷ پپتیدی (7-peptid repeats (HR))، ناحیه MPER ( Membrane proximal external region )و یک ناحیه گذرکننده از غشاء (Transmembrane) [۷۹]. تاکنون ، قطعات احتمالی پروتئین S برای استفاده به عنوان آنتی ژن در تولید واکسن شامل پروتئین S کامل ، دامنه RBD ، زیر واحد S1، NTD و FP است.

### پروتئین نوکلوئوکپسید (پروتئین N ):

این پروتئین، پروتئین غالب در کروناویروس است و به طور معمول بسیار محافظت شده است. این پروتئین دارای وزن مولکولی ۵۰ کیلودالتون می باشد و عملکردهای آن عبارتند از : تشکیل نوکلئوکپسید، هدایت پیام برای جوانه زدن ویروس، همانند سازی RNA و رونویسی RNA . مطالعاتی مبنی بر ایجاد ایمنی و عدم ایجاد ایمنی انجام شده است که استفاده از این پروتئین را برای تولید واکسن مورد بحث قرار می دهد ولی به عنوان یک مارکر در تستهای تشخیصی می تواند مورد استفاده قرار گیرد [۸۰].

### پروتئین غشایی (پروتئین M ):

این پروتئین یک گلیکو پروتئین ترانس ممبرین با وزن مولکولی ۲۵ کیلودالتون است و در سرهم بندی ویروس نقش دارد و پروتئین غالب در سطح ویروس است. این پروتئین با طول کامل در بیماران SARS تولید آنتی بادی های خنثی کننده کرده است. قسمت گذرنده از غشای آن دارای یک دسته اپی توپ سلولهای T است که می تواند پاسخ سلولی قوی ایجاد کند [۸۱].

### پروتئین پوشش ( پروتئین E ):

این پروتئین در مقایسه با پروتئینهای S، M و N به عنوان یک ایمونوژن مناسب نیست. دارای ۷۶ تا ۱۰۰ اسید آمینه با فعالیت کانالی در کروناویروسهای مختلف است و دارای ایمونوژنیسته محدود می باشد [۸۲].

### واکسنهای زیرواحد پروتئینی (protein subunit) :

از آنجا که پروتئین S و قطعات آن ، مانند RBD، SARS-CoV و MERS-CoV اهداف اصلی برای تولید واکسن های زیر واحدی در برابر این دو CoV انسانی بسیار بیماریزا هستند ، انتظار می رود که مناطق مشابه nCoV-۲۰۱۹ نیز به عنوان اهداف کلیدی برای تولید واکسن علیه این ویروس کرونا به کار رود. به طور مشابه ، مناطق دیگر nCoV-۲۰۱۹ ، از جمله زیر واحد های S1 و S2 پروتئین S و پروتئین N ، می توانند به عنوان اهداف جایگزین برای تولید واکسن استفاده شوند [۸۳].

واکسن های زیر واحد شامل یک یا چند آنتی ژن با ایمنی زایی قوی هستند که قادر به تحریک کارآمد سیستم ایمنی میزبان هستند. به طور کلی ، تولید این نوع واکسن ایمن تر و آسان تر است ، اما اغلب نیاز به افزودن ادجوانت برای ایجاد پاسخ ایمنی محافظتی قوی است. تاکنون چندین موسسه برنامه هایی را برای واکسن زیر واحد SARS-CoV آغاز کرده اند و تقریباً همه آنها از پروتئین S به عنوان آنتی ژن استفاده می کنند. به عنوان مثال ، دانشگاه کوئینزلند در حال ساخت واکسن زیر واحد بر اساس فناوری "گیره مولکولی" است. Clover Biopharmaceuticas Inc نشان داد که آنها در حال توسعه یک کاندید واکسن علیه SARS CoV-2

با استفاده از فناوری "Trimer-Tag" هستند و کاندید واکسن زیر واحد پروتئین S trimeric از طریق سیستم بیان سلول پستانداران تولید شد. شرکت نواواکس ، اعلام کرد که آنها چندین کاندید واکسن نانوذره را بر اساس پروتئین S تولید کرده اند ، و اکنون در حال ارزیابی کارآیی در مدل های حیوانی برای شناسایی کاندیدای واکسن بهینه برای آزمایش انسان است [۷۷]. واکسنهایی که تا به امروز بر پایه پروتئین علیه SARS-CoV-2 مورد مطالعه قرار گرفته اند در جدول ۳ آمده است. از این میان ۹ واکسن وارد مرحله کارآزمایی بالینی شده اند و بقیه در مرحله پیش بالینی قرار دارند.

**جدول ۳** – کاندیداهای واکسن بر پایه پروتئین در مرحله کارآزمایی بالینی [۸۹]

| شرکتهای تولید کننده واکسن COVID-19 | نوع کاندیدای واکسن | تعداد دوز | روزها دریافت دوز | نحوه تزریق | مراحل کلینیکی | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | فاز ۱ | فاز۱/۲ | فاز۲ | فاز۳ |
| Novavax | واکسن نانوپارتیکل گلیکوپروتئین S ویروس SARS-CoV-2 نوترکیب با طول کامل به همراه ادجوانت Matrix M | ۲ | روز ۰ و ۲۱ | عضلانی | | NCT04368988 Study Report | NCT04533399 (phase 2b) | 2020-004123-16 |
| Anhui Zhifei Longcom Biopharmaceutical/Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences | پروتئین نوترکیب به همراه ادجوانت (RBD-Dimer) | ۲ یا ۳ | روزهای ۰،۲۸ یا ۰،۲۸،۵۶ | عضلانی | NCT04445194 | NCT04550351 | NCT04466085 | |
| Kentucky Bioprocessing, Inc | بر اساس RBD | ۲ | ۰،۲۱ | عضلانی | | NCT04473690 | | |
| Sanofi Pasteur/GSK | پروتئین S (تولید در baculoviruses) | ۲ | ۰،۲۱ | عضلانی | | NCT04537208 | | |
| Clover Biopharmaceuticals Inc./GSK/Dynavax | واکسن پروتئین اسپایک ترایمر شبه حالت اصلی (Native like trimeric) | ۲ | ۰،۲۱ | عضلانی | NCT04405908 | | | |

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Vaxine Pty Ltd/Medytox | پروتئین نوترکیب اسپایک به همراه ادجوانت ™Advax | ۱ | | عضلانی | NCT04453852 | | | |
| University of Queensland/CSL/Seqirus | Molecular clamp stabilized Spike protein MF59 with adjuvant | ۲ | ۲۸ ،۰ | عضلانی | ACTRN12620000674932p ISRCTN5123296 | | | |
| Medigen Vaccine Biologics Corporation/NIAID/Dynavax | S-2P protein + CpG 1018 | ۲ | ۲۸ ،۰ | عضلانی | NCT04487210 | | | |
| Instituto Finlay de Vacunas, Cuba | RBD + Adjuvant | ۲ | ۲۸ ،۰ | عضلانی | IFV/COR/04 | | | |
| FBRI SRC VB VECTOR, Rospotrebnadzor, Koltsovo | پپتید | ۲ | ۲۱ ،۰ | عضلانی | NCT04527575 | | | |
| West China Hospital, Sichuan University | RBD ( تولید در baculoviruس و بیان در سلولهای SF9 ) | ۲ | ۰،۲۸ | عضلانی | ChiCTR2000037518 | | | |
| University Hospital Tuebingen | SARS-CoV-2 HLA-DR peptides | ۱ | | زیرجلدی | NCT04546841 | | | |
| COVAXX | S1-RBD-protein | ۲ | ۲۸ ،۰ | عضلانی | NCT04545749 | | | |

## واکسن DNA

واکسن های DNA با القای پاسخ های ایمنی سلولی و هومورال ، می توانند ایمنی طولانی مدت در مقابل بیماری های عفونی ، ایجاد کنند [۸٤]. این واکسن ها به علت بیان DNA کد کننده پروتئین پاتوژن هدف در مدت زمانی کوتاه و همچنین عدم نیاز به رشد و کشت پاتوژن در شرایط آزمایشگاهی، جایگزین های بهتری برای واکسن های حاوی ویروس یا ارگانیسم غیرفعال و یا تضعیف شده هستند. در این مدل از واکسن ها اغلب از نانوحامل ها nano-carriers برای انتقال مستقیم توالی DNA هدف به سلولهای یک بافت مشخص استفاده می شود. پس از وارد شدن DNA هدف به سلول و سپس به هسته، پروتئین ویروسی با استفاده از ماشین های رونویسی و ترجمه سلول میزبان ، بیان می شود. این واکسن ها ایمن بوده و می توانند منجر به تولید پروتئین های هدف در مقادیر بالا و به صورت پایدار گردند . از جمله واکسن های مبتنی بر DNA که در حال حاضر جهت غلبه بر همه گیری فعلی ناشی از SARS-CoV-2 در حال توسعه است ، واکسن INO-4800 بر

پایه پروتئین S است . طراحی و توسعه آن در تاریخ ۱۱ ژانویه سال ۲۰۲۰ و بلافاصله پس از اعلام همه گیری ویروس SARS-CoV-2 آغاز شد. پس از ایمن سازی موش ها و خوکچه های هندی با این واکسن ، پاسخ سلول های T و تولید آنتی ژنهای اختصاصی و آنتی بادی های عملکردی برای خنثی سازی اتصال ویروس SARS-CoV-2 از طریق پروتئین اسپایک به رسپتور ACE-2، مشاهده شد و می توان آن را به عنوان نامزدی برای پاسخ به بحران جهانی فعلی قلمداد کرد [۸۵].

مطالعات گذشته نشان داده اند که پروتئین N و همچنین DNA کد کننده آن می توانند پاسخ های سلول های T و تحریک تولید آنتی بادی را در موش ها ایجاد کنند. پروتئین N به علت ایجاد پاسخ ایمنی بسیار قوی ، کاندید مناسبی برای تولید واکسن ها (مبتنی بر پروتئین و مبتنی بر DNA) است. مطالعات گذشته با تزریق عضلانی واکسن DNA با استفاده از پروتئین N ویروس SARS-CoV ، پاسخ های ایمنی هومورال و سلولی اختصاصی پروتئین N این ویروس را تحریک کرده و با استفاده از یک وکتور بیان کننده IL-2 این پاسخ ها به میزان قابل توجهی افزایش داشته است. با توجه به شباهت های فیلوژنتیک میان SARS-CoV و SARS-CoV-2 می توان گفت ، پروتئین N یکی دیگر از امیدهای محققان برای تهیه واکسن در شرایط فعلی است [۸٤]. در جدول ٤ واکسن های کاندید علیه SARS-CoV-2 در آخرین به روز رسانی سایت WHO در تاریخ ۳۰ سپتامبر ۲۰۲۰ نمایش داده شده است [۸٦].

## RNA واکسن ها

به طور کلی واکسن های مبتنی بر DNA و پروتئین ، عمده ترین رویکردهای مورد استفاده محققان برای تولید واکسن های پایدار و موثر با نرخ ایمنی زایی کمتر برای انسان بوده اند . با پدید آمدن رویکرد تولید واکسن های مبتنی بر mRNA ، به دلیل ایمنی و کارایی بیشتر و ساخت ساده تر ، این نوع واکسن ها نظر محققان را به خود جلب کردند . واکسن های mRNA حاوی یک توالی mRNAکد کننده آنتی ژن اختصاصی یک پاتوژن است. پس از رسیدن به سلول های هدف ، آنتی ژن کد شده توسط mRNA بیان و پردازش شده ، سپس توسط سیستم ایمنی بدن شناسایی و منجر به تحریک ایجاد پاسخ ایمنی هومورال و ایمنی سلولی قوی و ساخت آنتی بادی علیه عامل پاتوژن هدف می گردد . تولید واکسن های مبتنی بر mRNA نسبت به انواع روش های مبتنی بر استفاده از پاتوژن کامل غیرفعال شده، ضعیف شده و واکسن های مبتنی بر پروتئین ها ، هزینه ی کمتری را تحمیل کرده و با سرعت بیشتری تولید می شوند. همچنین در هیچ مرحله ای از فعالیت واکسن، این نوع واکسن ها پتانسیل بسیار زیادی برای تولید سریع ، ایمن و کارآمد را در شرایط همه گیری فعلی دارند [۸۷].

به طور کلی استفاده از واکسن های ضد ویروسی بر پایه mRNA، چهار مزیت اساسی را به دنبال دارد. در استفاده از این نوع واکسن ها احتمال ایجاد عفونت و جهش زایی ناشی از الحاق نوکلئیک اسید به ژنوم سلول میزبان کاهش می یابد ، زیرا mRNA به طور طبیعی در محیط سلولی تخریب می گردد . همچنین اثرات ایمنوژنیک و پایداری آن ها به علت تغییرات ساختاری mRNA مهندسی شده ، بهبود می یابد. تنها با استفاده از مقادیر کم واکسن های مبتنی بر mRNA در یک یا دو دوز ، می توان به پتانسیل بسیار بالایی برای تولید ایمنوگلوبولین های خنثی کننده علیه عامل پاتوژن هدف دست یافت [۸۸]. مزیت دیگر تولید واکسن های mRNAمهندسی و اصلاح شده در توانایی تولید واکسن مورد نیاز جمعیت های بزرگ است . تمامی این موارد باعث شده تا محققان تولید این نوع واکسن ها را برای پاسخ سریع به شرایط همه گیری فعلی ویروس SARS-CoV-2 مناسب بدانند.

علی رغم مزیت های مهم تولید واکسن های مبتنی بر mRNA ، اخیرا گزارشاتی در مورد ایجاد واکنش های متوسط تا شدید نسبت به آن ها منجر به نگرانی محققان نسبت به مسائلی مانند نحوه انتقال ، پایداری و شرایط تخریب RNA و ایمنی آن ها شده است که می تواند منجر به ممانعت از تولید و توسعه آن ها گردد [۸۹]. بنابراین درک بیشتر از خطرات احتمالی استفاده از این واکسن ها شامل ایجاد پاسخ های التهابی موضعی و سیستمیک ، پایداری بیان ایمنوژن القا شده ، اجزای سیستم انتقال واکسن و احتمال ایجاد اثرات توکسیک به دلیل ورود نوکلئوتیدهای بیگانه به بدن ، باید مورد بررسی قرار گیرد. همچنین برای دستیابی به حداکثر کارایی جذب واکسن های mRNA ، باید مسیرهای سیگنالینگ ایمنی موثر در پاسخ به واکسن mRNA مشخص شده و مشکلات

تاثیرگذار بر اثربخشی این نوع واکسن ها نیاز به مطالعات بیشتر دارد [۹۰].

دو نوع واکسن مبتنی بر mRNA تولید شده است ، شامل انواع واکسن های mRNA معمولی و خود تکثیر شونده .(SAM) در انواع معمولی ، آنتی ژن هدف به صورت مصنوعی با استفاده از انجام واکنش های رونویسی در شرایط آزمایشگاهی تولید شده و آنالوگ cap و دنباله poly A به آن اضافه می گردد . واکسن های mRNAاز نوع SAM مشتقات تکثیر شونده از RNA آلفا ویروسها هستند که در آن ها توالی ژنی آنتی ژن هدف ، جایگزین توالی پروتئین ساختاری می شود. مقادیر بالایی از ژن هترولوگ حاوی آنتی ژن هدف ، بیان شده و در شرایط آزمایشگاهی ، این mRNAرونویسی شده در نانوذرات لیپیدی محصور شده و در نهایت به بدن تزریق شده و به سلول های هدف منتقل و منجر به تحریک ایجاد پاسخ های ایمنی هومورال و سلولی قوی می گردند [۸۷].

یکی از چالش های مهم سر راه تولید واکسن علیه ویروس SARS-CoV-2، تاثیر گلیکوزیلاسیون پاکت ویروسی است که برای حمله و تکثیر در سلول های میزبان ، با پروتئین های ساختاری گلیکوزیله آن ها ارتباط نزدیک دارد. سطح بالای گلیکوزیلاسیون پروتئین ها در پاکت ویروسی به پنهان شدن ویروس و فرار موفقیت آمیز آن از سیستم ایمنی بدن انسان کمک می کند. بنابراین درجات بالایی از گلیکوزیلاسیون منجر به افزایش احتمال فرار ویروس از پاسخ ایمنی و کاهش موفقیت واکسن های تولید شده می شود [۹۱].

ویروس SARS-CoV-2 بخش های گلیکوزیله شامل ٦٦ سایت گلیکان متصل به پروتئین N است که در میان آن ها ٥٤ سایت ، با SARS-CoV شباهت بسیار زیادی دارد [۹۲]. اهمیت این سایت های گلیکان به قدری است که یکی از مهمترین دلایل عدم موفقیت تولید واکسن علیه ویروس HIV تا به امروز به شمار می رود. سایت های گلیکان این ویروس نسبت به ویروس آنفولانزا ، بین ۳ تا ٦ برابر بیشتر است؛ سایت های گلیکان موجود در سطح ویروس SARS_CoV-2 نسبت به HIV دو برابر بیشتر است [۹۳]. بنابراین احتمال می رود که این میزان از گلیکوزیلاسیون ، تولید واکسن های زنده غیرفعال و یا ضعیف شده علیه ویروس SARS-CoV-2 در شرایط فعلی را با دشواری رو به رو کند. محققان امیدوارند تا به جای کل پارتیکل های ویروسی، تنها پروتئین S را هدف گرفته و با استفاده از فناوری های تولید واکسن های مبتنی بر mRNA ، بر این مشکل غلبه کرده و بدون تاثیرپذیری از گلیکوزیلاسیون ویروسی ، سیستم ایمنی بدن میزبان را وادار به تولید آنتی بادی علیه پروتئین S نمایند .

## واکسن BCG

نزدیک به یک قرن است که باسیل کالمت گرین (BCG) که گونه ای ضعیف از مایکوباکتریوم بویس است ، علیه بیماری سل در بسیاری از کشورها مورد استفاده قرار گرفته است . علی رغم طراحی این واکسن برای ایجاد اثرات محافظتی علیه مایکوباکتریوم توبرکلوزیس (عامل بیماری سل) و اتفاق نظر اکثر متخصصان بر اثرات آن علیه عامل بیماری سل ، شواهد نشان می دهند که از این واکسن می توان برای ایجاد اثرات محافظتی علیه عوامل بیماری زای غیر از گونه های مایکوباکتریایی استفاده کرد [۹٤]. کارآزمایی های بالینی مختلفی در این زمینه انجام شده است، به عنوان مثال اثرات واکسن BCG روی ۲۰۰ بیمار سالمند بستری در بیمارستان، با تزریق دوزهایی از واکسن BCG و دارونما ، به مدت ۱۲ ماه توسط مؤسسه Hellenic Study of Sepsis ، Greeceمورد بررسی قرار گرفت ، نتایج اولیه حاصل از این کارآزمایی که تا سال ۲۰۲۰ ادامه دارد ، کاهش ۵۳ درصدی بروز عفونت های جدید و همین طور کاهش ۸۰ درصدی بروز عفونت های دستگاه تنفسی را در گروه واکسینه شده با واکسن BCG در مقایسه با دارونما به نمایش گذاشت (NCT03296423) [۹۵]. در مطالعه دیگری تزریق واکسن BCG با کاهش مرگ و میر کودکان به علت مالاریا در گینه همراه بود [۹٦]. همچنین در یک مطالعه، کاهش میزان بروز عفونت حاد دستگاه تنفسی ناشی از ویروس سنسیشیال تنفسی (RSV)در نوزادان واکسینه شده با BCG در مقایسه با نوزادان فاقد واکسناسیون BCG ، گزارش شد [۹۷]. همچنین واکسناسیون BCGکاهش خطر ابتلا به پنمونی در افراد مسن توبرکولین منفی در ژاپن را نشان می دهد [۹۸]. تزریق صفاقی و اینترانازال واکسن BCGنیز منجر به ایجاد اثرات محافظتی در برابر آنفولانزا شد [۹۹]. علاوه بر این ها تاثیرات غیراختصاصی واکسن BCG در برابر تب زرد، ویروس هرپس انسانی گزارش شده است [۹۵].

طوفان سایتوکاینی یکی از اصلی ترین عواملی است که در صورت عدم کنترل ، می تواند در مدت کوتاهی ، فرد مبتلا به بیماری کووید-۱۹ را به کام مرگ بکشاند، به همین دلیل در حال حاضر جلوگیری ، آهسته و یا متوقف کردن روند ایجاد این طوفان از اهداف اولیه محققان و پزشکان سراسر جهان است . استفاده از واکسن BCG یکی از صدها پیشنهادی است که محققان برای جلوگیری از بروز عفونت و طوفان سایتوکاینی ارائه می دهند [۹٤].

با توجه به این گزارشات ، برخی از محققان امیدوارند تا بتوانند از این واکسن علیه همه گیری فعلی SARS-CoV-2 نیز استفاده کنند. بر همین اساس ارزیابی های متعددی انجام شده است، به عنوان مثال علی رغم آن که تراکم جمعیت در ژاپن حدود ۲,٤ برابر بیشتر از شهر نیویورک است ، اما ارتباط معکوس میان واکسناسیون BCGو مرگ و میر ناشی از بیماری کووید-۱۹ گزارش شده است [۹۵]. برخی از محققان بر این باورند که علت تاثیرات واکسن BCGعلیه سایر بیماری های غیرمایکوباکتریایی و به طور ویژه ، عفونت ناشی از SARS-CoV-2 می تواند با ایمنی آموزش دیده یا trained immunity در ارتباط باشد [۹۵]. ایمنی آموزش دیده را می توان سومین خط دفاعی سیستم ایمنی بدن ، پس از ایمنی کلاسیک ذاتی و اکتسابی دانست . این نوع ایمنی در بدن ، به جای ایجاد تغییرات ژنتیکی دائمی، منجر به تغییرات اپی ژنتیکی می گردد [۹۵]. این نوع حافظه ی ایمنولوژیک توسط سلول های مونوسیتی ، ماکروفاژ ها و یا سلول های کشنده طبیعی (NK cells)ایجاد می شوند . به طور کلی ایمنی آموزش دیده ایجاد شده توسط یک محرک اولیه منجر به ایجاد تغییرات در مکانیسم های برنامه ریزیی مجدد اپی ژنتیک و سازمان دهی مجدد کروماتین به سلول این امکان را می دهد تا در سلول های بنیادی خونساز مغز استخوان تغییرات متابولیکی و اپی ژنتیکی ایجاد کرده و آن ها را مجدد برنامه ریزی نمایند. در نتیجه سلول های ایمنی ذاتی می توانند در برخورد با پاتوژن ، واکنش های قوی تر و سریع تری را اعمال نمایند [۱۰۰]. در یک مطالعه ی اپیدمیولوژیک ، ارون و همکارانش ، اختلاف میان کشورهای مختلف در میزان مرگ و میر ناشی از بیماری کووید-۱۹ را به نرخ واکسناسیون BCG در کشورهای مختلف نسبت داده و گزارش کرده اند که در کشورهای با برنامه ی واکسناسیون BCG مناسب ، نرخ مرگ و میر نسبت به کشورهای بدون برنامه ی واکسناسیون BCG کمتر بوده است و این امر می تواند به علت ایجاد اثرات حفاظتی احتمالی از طریق تزریق واکسن BCG باشد . مطالعات متعدد دیگری نیز نشان داده اند که کشورهای بدون سیاست های ملی واکسناسیون BCG نسبت به کشورهای آسیایی مثل ژاپن ، بیشتر در معرض خطرات ناشی از ویروس SARS-CoV-2 هستند [۱۰۱].

تاثیر یا عدم تاثیر واکسناسیون BCG در نرخ ابتلا و مرگ و میر ناشی از بیماری کووید-۱۹ همچنان در هاله ای از ابهام قرار دارد و نیازمند مطالعات بیشتر و طولانی مدت است. برهمین اساس ، کارآزمایی های متعددی در کشورهای مختلف از جمله کلمبیا (NCT04361124)، هلند(NCT04328441) ، آفریقای جنوبی(NCT04379336)، مصر(NCT04350931)، استرالیا(NCT04327206)، ایالات متحده آمریکا (NCT04348441) و دانمارک (NCT04373291) در حال انجام است و عوامل مختلفی از جمله محافظت کارکنان مراکز بهداشتی با استفاده از واکسن BCG و همچنین کاهش میزان مرگ و میر ناشی از بیماری کووید-۱۹ را تحت بررسی قرار می دهند [۹۵]. در ایران نیز مطالعه ای در قالب کارآزمایی بالینی در شیراز در حال انجام است (IRCT20200411047019N1). در این مطالعه اثرات واکسن BCG در جلوگیری از ایجاد عفونت کووید-۱۹ در کارکنان بهداشتی و درمانی در معرض مواجهه با ویروس کرونا مورد بررسی قرار گرفته است . این مطالعه که به صورت دو سو کور در حال انجام است روی پانصد کارمند مراکز مراقبت های بهداشتی در بیمارستان ها انجام می شود و گروه ها به صورت تصادفی ، واکسن BCG و یا نرمال سالین را به عنوان دارو نما دریافت می کنند. این مطالعه از خرداد ماه سال ۱۳۹۹ آغاز شده و انتظار می رود تا خرداد ماه سال ۱٤۰۰ ادامه داشته باشد. در این مطالعه ، افراد به صورت هفتگی و تا ۱۲ ماه تحت بررسی قرار خواهند گرفت.

**جدول ۴ –** کاندیداهای واکسن علیه SARS-CoV-2 در مرحله کارآزمایی بالینی [۸۹].

| توسعه دهنده / سازنده واکسن COVID-19 | پلتفرم واکسن | نوع واکسن کاندید | تعداد دوز | فاصله بین دوزها (روز) | نحوه تزریق | فاز کارآزمایی بالینی |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Sinovac | غیرفعال شده | غیرفعال شده | ۲ | ۱۴-۰ | عضلانی | فاز ۱/۲ NCT04383574 NCT04352608 NCT04551547 |
| | | | | | | فاز ۳ NCT04456595 669/UN6.KEP/EC/2020 |
| Wuhan Institute of Biological Products/Sinopharm | | غیرفعال شده | ۲ | ۲۱-۰ | عضلانی | فاز ۱/۲ ChiCTR2000031809 Interim Report |
| | | | | | | فاز ۳ ChiCTR2000034780 |
| Beijing Institute of Biological Products/Sinopharm | | غیرفعال شده | ۲ | ۲۱-۰ | عضلانی | فاز ۱/۲ ChiCTR2000032459 |
| | | | | | | فاز ۳ ChiCTR2000034780 NCT04560881 |
| University of Oxford/AstraZeneca | وکتور ویروسی غیرتکثیر شونده | ChAdOx1-S | ۱ | | عضلانی | فاز ۱/۲ PACTR202006922165132 2020-001072-15 NCT04568031 Interim Report |
| | | | | | | فاز ۲ 2020-001228-32 |
| | | | | | | فاز ۳ ISRCTN89951424 NCT04516746 NCT04540393 CTRI/2020/08/027170 |
| CanSino Biological Inc./Beijing Institute of Biotechnology | | وکتور آدنوویروسی تیپ ۵ | ۱ | | عضلانی | فاز ۱ ChiCTR2000030906 Study Report |
| | | | | | | فاز ۲ ChiCTR2000031781 Study Report |
| | | | | | | فاز ۳ NCT04526990 NCT04540419 |
| Gamaleya Research Institute | | مبتنی بر آدنو ((rAd26-S+rAd5-S)) | ۲ | ۲۱-۰ | عضلانی | فاز ۱/۲ NCT04436471 NCT04437875 Study Report |
| | | | | | | فاز ۳ NCT04530396 NCT04564716 |
| Janssen Pharmaceutical Companies | وکتور ویروسی غیرتکثیر شونده | Ad26COVS1 | ۲ | ۵۶-۰ | عضلانی | فاز ۱/۲ NCT04436276 |
| | | | | | | فاز ۳ NCT04505722 |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| فاز ۱<br>NCT04283461 Interim Report<br>Final Report<br>فاز ۲<br>NCT04405076<br>فاز ۳<br>NCT04470427 | عضلانی | ۲۸-۰ | ۲ | mRNA کپسوله شده در LNP | RNA | Moderna/NIAID |
| فاز ۱/۲<br>2020-001038-36<br>ChiCTR2000034825<br>NCT04537949<br>Study Report<br>فاز ۳<br>NCT04368728 | عضلانی | ۲۸-۰ | ۲ | 3 LNP-mRNAs | | BioNTech/Fosun Pharma/Pfizer |
| فاز ۱<br>NCT04449276<br>فاز ۲<br>NCT04515147 | عضلانی | ۲۸-۰ | ۲ | mRNA | | Curevac |
| فاز ۱<br>NCT04412538<br>فاز ۱/۲<br>NCT04470609 | عضلانی | ۲۸-۰ | ۲ | غیرفعال شده | غیرفعال شده | Institute of Medical Biology, Chinese Academy of Medical Sciences |
| فاز ۱/۲<br>NCT04530357 | عضلانی | ۲۱-۰ | ۲ | غیرفعال شده | | Research Institute for Biological Safety Problems, Rep of Kazakhstan |
| فاز ۱/۲<br>NCT04447781 NCT04336410 | داخل جلدی (ID) | ۲۸-۰ | ۲ | واکسن DNA پلاسمید با الکتروپوریشن | DNA | Inovio Pharmaceuticals/ International Vaccine Institute |
| فاز ۱/۲<br>NCT04463472 NCT04527081 | عضلانی | ۱۴-۰ | ۲ | واکسن DNA پلاسمید همراه با ادجوانت | | Osaka University/ AnGes/ Takara Bio |
| فاز ۱/۲<br>NCT04445389 | عضلانی | ۱۲-۰ | ۲ | واکسن DNA (GX-19) | | Genexine Consortium |
| فاز ۱/۲<br>NCT04471519<br>CTRI/2020/09/027674 | عضلانی | ۱۴-۰ | ۲ | تمام ویریون غیرفعال شده | غیرفعال شده | Bharat Biotech |
| فاز ۱/۲<br>NCT04480957 | عضلانی | | | mRNA | RNA | Arcturus/Duke-NUS |
| فاز ۱/۲<br>ACTRN12620000817943 | عضلانی | ۲۸-۰ | ۲ | RBD-HBsAg VLPs | VLP | SpyBiotech/Serum Institute of India |
| فاز ۱<br>NCT04528641 | عضلانی | | ۱ | Replication defective Simian Adenovirus (GRAd) encoding S | وکتور ویروسی غیرتکثیر شونده | ReiThera/LEUKOCARE/Univercells |
| فاز ۱<br>NCT04552366 | عضلانی/ مخاطی | ۲۸-۰ | ۲ | Ad5-nCoV | | Institute of Biotechnology, Academy of Military Medical Sciences, PLA of China |
| فاز ۱<br>NCT04563702 | خوراکی | ۲۸-۰ | ۲ | پلتفرم واکسن خوراکی همراه با ادجوانتAd5 | | Vaxart |
| فاز ۱<br>NCT04569383 | عضلانی | ۲۸-۰ | ۲ | MVA-SARS-2-S | | Ludwig-Maximilians - University of Munich |
| فاز ۱<br>NCT04497298 | عضلانی | ۲۸-۰ | ۱ یا ۲ | وکتور مبتنی بر ویروس سرخک | وکتور تکثیر شونده | Institute Pasteur/Themis/Univ. of Pittsburg CVR/Merck Sharp & Dohme |
| فاز ۱<br>ChiCTR2000037782 | عضلانی | | ۱ | Intranasal flu-based-RBD | | Beijing Wantai Biological Pharmacy/ Xiamen University |
| فاز ۱<br>ISRCTN17072692 | عضلانی | | ۲ | LNP-nCoVsaRNA | RNA | Imperial College London |
| فاز ۱<br>ChiCTR2000034112 | عضلانی | ۱۴-۰ یا ۲۸-۰ | ۲ | mRNA | | People's Liberation Army (PLA) Academy of Military Sciences/Walvax Biotech. |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Medicago Inc. | VLP | Plant-derived VLP adjuvanted with GSK or Dynavax adjs. | ۲ | ۲۱-۰ | عضلانی | فاز ۱ NCT04450004 |

## بحث و نگاهی به آینده

تلاش های جهانی برای مهار بیماری همه گیر کووید-۱۹ در درجه اول با هدف کاهش تعداد و میزان ابتلا ها، به حداقل رساندن فشار بیش از حد بر روی سیستم های مراقبت های بهداشتی و کاهش تأثیرات اجتماعی و اقتصادی همه گیری است. تا به امروز (۲۰ مهر ۱۳۹۹) که همه ی کشور های جهان به نحوی با این بیماری دست و پنجه نرم میکنند، هیچ واکسن و یا دارویی نتوانسته به طور قطعی در مقابل این بیماری ایمنی ایجاد کند و یا از اثرات آن بکاهد. علاوه بر این مشکلات اقتصادی ناشی از قرنطینه، به اکثر کشور های درگیر با این ویروس خسارات عظیمی وارد کرده که جبران این خسارات سال ها وقت و تلاش میطلبد. کشور های در حال توسعه و فقیر مانند هند و مکزیک که بیشترین آسیب را از این شرایط دیده اند، برای مقابله با مشکلات اقتصادی و ورشکستگی تصمیم به کاهش محدودیت ها گرفته اند که این امر خود یکی از دلایل افزایش میزان افراد مبتلا و مرگ و میر در این کشور ها محسوب میشود. دورکاری و انجام فعالیت های دولتی و خصوصی از طریق فضای مجازی میتواند در اکثر موارد از افزایش آمار مبتلایان و مرگ و میر جلوگیری کند. پیش بینی میشود که حتی پس از پایان این همه گیری، هنوز بسیاری از شرکت های خصوصی دنیا و یا حتی دولت های کشور های پیشرفته تر سیاست دورکاری برای کارکنان خود را پیش بگیرند. این گونه درس گرفتن از این پاندمی، میتواند حتی در آینده، در صورت وقوع پاندمی جدید، حداقل از شدت ابتدایی آن بکاهد تا اوضاع تحت کنترل در بیاید. در نهایت، آثار کوتاه مدت و بلند مدت این پاندمی هرچه که باشد، آیندگان باید از کشورهایی که در این حوزه موفق عمل کرده اند درس بگیرند و تاجایی که ممکن است از رفتار های پرخطر غذایی که میتواند منجر به انتقال چنین ویروس هایی از حیوانات به انسان ها شود، جلوگیری کنند.

**تعارض منافع:** نویسندگان اعلام میکنند که هیچ تعارض منافعی ندارند

**بودجه:** نویسندگان مقاله از حمایت های مرکز ملی ژنتیک (کمیته ی کرونا) و همچنین دانشگاه تربیت مدرس (معاونت پژوهشی، کمیته ی کرونا) صمیمانه تشکر میکنند.

**جدول ۱** – مقایسه ویژگی های اپیدمیولوژیکی ، بالینی و بیماری های ناشی از SARS-CoV، MERS-CoV و SARS-CoV-2.

**جدول ۲** – واکسن های SARS و MERS [۱۰۲, ۱۰۳].

**جدول ۳** – کاندیداهای واکسن بر پایه پروتئین در مرحله کارآزمایی بالینی [۸۶].

**جدول ٤** – کاندیداهای واکسن علیه SARS-CoV-2 در مرحله کارآزمایی بالینی [۸۶].

**شکل ۱.** (**الف**) تصویری از تمام ژنوم SARS-CoV-2 که محل قرارگیری فریم های باز a۱ و b۱ را برای رمزگذاری پروتئین های غیر ساختاری Nsp (آبی) ، پروتئین های ساختاری (قهوه ای) و عوامل جانبی نشان می دهد (سبز). اعداد نمایش داده شده در بالا به RNA ژنومی اشاره دارد. (**ب**) نمایش شماتیک ذرات ویروس SARS-CoV-2 و تعامل آن با گیرنده سلولی میزبان، ACE2. مسیر عفونت نشان میدهد که پس از اتصال ذرات ویروس بر روی سطح سلول، پروتئاز سلولی TMPRSS2 پروتئین ویروسی S را فعال می کند و اجازه ورود SARS-CoV-2 به سلولهای انسانی را می دهد. پروتئین رمزگذاری شده توسط ژن های ویروسی و برخی از فعل و انفعالات قابل توجه (خط های تیره) با سایر پروتئین های میزبان نشان داده شده است که می توانند به طور بالقوه توسط داروها (دایره های آبی) هدف قرار گیرد . بازنشر و ترجمه شده با اجازه از [۱۰٤].

**شکل ۲.** مقایسه شدت تظاهرات بالینی افراد مبتلا به SARS-CoV-2. ترجمه و بازنشر با اجازه از [۱۰۵].

**شکل ۳** – اتصال، ورود و چرخه تکثیر SARS-CoV-2 در سلولهای اپیتلیال و تأثیر انواع عوامل ضد ویروسی. اتصال پروتئین اسپایک SARS-CoV-2 (S) به آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین-۲ (ACE2) واسطه اندوسیتوز ویروس به سلول میزبان می شود.

ورود ویروس به سلول به اتصال پروتئین های ویروسی S به گیرنده های سلولی و آغاز آماده سازی پروتئین S توسط پروتئیناز غشایی، سرین ۲ (TMPRSS2) بستگی دارد. *سفارانتین/ACE2نوترکیب انسانی و مسیلات کاموستات* مهارکننده های ورود ویروس هستند که به ترتیب از اتصال پروتئین S به ACE2 و آماده سازی آن جلوگیری می کنند. در مرحله جداسازی پوشش، ویروس ها توسط اندوسیتوز وابسته به گیرنده وارد می شوند و pH کم در آندوزوم باعث همجوشی غشاهای ویروسی و آندوزومی می شود و RNA تک رشته ای در سیتوپلاسم آزاد می شود. *آربیدول، کلروکین، هیدروکسی کلروکین و مفلوکین* مانع مرحله جداسازی پوشش می شوند. رونویسی از ژنوم ویروسی و تجزیه پروتئولیتیک پلی پروتئین replicase و پروتئین های ترجمه شده در نتیجه به پردازش RNA پلی مراز وابسته به RNA ( که به طور مختصر به آن RdRp گفته میشود) ختم میشود. *لوپیناویر، ریتوناویر، رمدسیویر و فاویپیراویر* از پروتئولیز و فعالیت RdRp جلوگیری می کنند. پروتئین های ساختاری و غیرساختاری، از جمله پروتئین های نوکلئوکپسید به عنوان RNA های ساب-ژنومیک بیان می شوند. *سلمکتین و رسوراترول* ممکن است فعالیت هلیکاز ویروسی، سنتز mRNA ویروسی و بیان پروتئین های نوکلئوکپسید را مهار کنند. مونتاژ و جوانه زدن پروتئین های ویروسی و نوکلئوکپسید در غشای شبکه آندوپلاسمی (ER)، محفظه میانی ER-Golgi (ERGIC) و/یا مجموعه گلژی رخ می دهد. ویروس های جدید SARSCoV-2 در اثر برون گسیختگی (اگزوسیتوز) آزاد می شوند. ترجمه و بازنشر با اجازه از [106].

**شکل ٤** – تفاوت بین توسعه واکسن سنتی و توسعه با استفاده از یک پارادایم همه گیر

## .منابع


1) Takahashi, K.Z., M.D. Lewek, and G.S. Sawicki, *A neuromechanics-based powered ankle exoskeleton to assist walking post-stroke: a feasibility study.* Journal of neuroengineering and rehabilitation, 2015. **12**(1): p. 23.
2) Vabret, A., et al., *An outbreak of coronavirus OC43 respiratory infection in Normandy, France.* Clinical infectious diseases, 2003. **36**(8): p. 985-989.
3) Grubaugh, N.D., et al., *Tracking virus outbreaks in the twenty-first century.* Nature microbiology, 2019. **4**(1): p. 10-19.
4) Fouchier, R.A., et al., *Koch's postulates fulfilled for SARS virus.* Nature, 2003. **423**(6937): p. 240-240.
5) Thompson, R., *Pandemic potential of 2019-nCoV.* Lancet Infect Dis, 2020. **20**(3): p. 280.
6) Wang, W., J. Tang, and F. Wei, *Updated understanding of the outbreak of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in Wuhan, China.* Journal of medical virology, 2020. **92**(4): p. 441-447.
7) Schoeman, D. and B.C. Fielding, *Coronavirus envelope protein: current knowledge.* Virology journal, 2019. **16**(1): p. 1-22.
8) Paraskevis, D., et al., *Full-genome evolutionary analysis of the novel corona virus (2019-nCoV) rejects the hypothesis of emergence as a result of a recent recombination event.* Infection, Genetics and Evolution, 2020. **79**: p. 104212.
9) Cui, J., F. Li, and Z.-L. Shi, *Origin and evolution of pathogenic coronaviruses.* Nature Reviews Microbiology, 2019. **17**(3): p. 181-192.
10) Corman, V.M., et al., *Hosts and sources of endemic human coronaviruses*, in *Advances in virus research*. 2018, Elsevier. p. 163-188.
11) Liu, P., W. Chen ,and J.-P. Chen, *Viral metagenomics revealed Sendai virus and coronavirus infection of Malayan pangolins (Manis javanica).* Viruses, 2019. **11**(11): p. 979.
12) Xiaolu, T., et al., *On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2.* Natl Sci Rev, 2020.
13) Huang, C., et al., *Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China.* The lancet, 2020. **395**(10223): p. 497-506.
14) Andersen, K.G., et al., *The proximal origin of SARS-CoV-2.* Nature medicine, 2020. **26**(4): p. 450-452.
15) Zhu, N., et al., *A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019.* New England Journal of Medicine, 2020.
16) Ceraolo, C. and F.M. Giorgi, *Genomic variance of the 2019-nCoV coronavirus.* Journal of medical virology, 2020. **92**(5): p. 522-528.
17) Pachetti, M., et al., *Emerging SARS-CoV-2 mutation hot spots include a novel RNA-dependent-RNA polymerase variant.* Journal of Translational Medicine, 2020. **18**: p. 1-9.

18)Forster, P., et al., *Phylogenetic network analysis of SARS-CoV-2 genomes.* Proceedings of the National Academy of Sciences, 2020. **117**(17): p. 9241-9243.

19)Gandhi, S., et al., *Covid-19 immune mechanisms: A systematic review.* Indian Journal of Allergy, Asthma and Immunology, 2020. **34**(1): p. 23.

20)Millet, J.K. and G.R. Whittaker, *Host cell entry of Middle East respiratory syndrome coronavirus after two-step, furin-mediated activation of the spike protein.* Proceedings of the National Academy of Sciences, 2014. **111**(42): p. 15214-15219.

21)De Wit, E., et al., *SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses.* Nature Reviews Microbiology, 2016. **14**(8): p. 523.

22)Wang, S.-F., et al., *Human-leukocyte antigen class I Cw 1502 and class II DR 0301 genotypes are associated with resistance to severe acute respiratory syndrome (SARS) infection.* Viral immunology, 2011. **24**(5): p. 421-426.

23)Tu, X., et al., *Functional polymorphisms of the CCL2 and MBL genes cumulatively increase susceptibility to severe acute respiratory syndrome coronavirus infection.* Journal of Infection, 2015. **71** :(۱)p. 101-109.

24)Li, G., X. Chen, and A. Xu, *Profile of specific antibodies to the SARS-associated coronavirus.* New England Journal of Medicine, 2003. **349**(5): p. 508-509.

25)Zhao, J., et al., *Rapid generation of a mouse model for Middle East respiratory syndrome.* Proceedings of the National Academy of Sciences, 2014. **111**(13): p. 4970-4975.

26)Xu, Z., et al., *Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome.* The Lancet respiratory medicine, 2020. **8**(4): p. 420-422.

27)Menachery, V.D., et al., *MERS-CoV and H5N1 influenza virus antagonize antigen presentation by altering the epigenetic landscape.* Proceedings of the National Academy of Sciences, 2018. **115**(5): p. E1012-E1021.

28)Huang, C., et al., *Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China.* Lancet, 2020. **395**(10223): p. 497-506.

29)Xu, Y., et al., *Characteristics of pediatric SARS-CoV-2 infection and potential evidence for persistent fecal viral shedding.* Nature medicine, 2020. **26** :(٤)p. 502-505.

30)Xu, Y., et al., *Characteristics of pediatric SARS-CoV-2 infection and potential evidence for persistent fecal viral shedding.* Nat Med, 2020. **26**(4): p. 502-505.

31)Mao, L., et al., *Neurological manifestations of hospitalized patients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective case series study.* 2020.

32)Corman, V.M., et al., *Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR.* Euro Surveill, 2020. **25**.(۳)

33)Chu, D.K.W., et al., *Molecular Diagnosis of a Novel Coronavirus (2019-nCoV) Causing an Outbreak of Pneumonia.* Clin Chem, 2020. **66**(4): p. 549-555.

34)Xie, X., et al., *Chest CT for Typical Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pneumonia: Relationship to Negative RT-PCR Testing.* Radiology, 2020. **296**(2): p. E41-e45.

35)Pan, Y., et al., *Initial CT findings and temporal changes in patients with the novel coronavirus pneumonia (2019-nCoV): a study of 63 patients in Wuhan, China.* Eur Radiol, 2020. **30**(6): p. 3306-3309.

36)Ajlan, A.M., et al., *Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) infection: chest CT findings.* AJR Am J Roentgenol, 2014. **203**(4): p. 782-7.

37)Woo, P.C., et al., *Differential sensitivities of severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus spike polypeptide enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and SARS coronavirus nucleocapsid protein ELISA for serodiagnosis of SARS coronavirus pneumonia.* J Clin Microbiol, 2005. **43**(7): p. 3054-8.

38)de Wilde, A.H., et al., *Screening of an FDA-approved compound library identifies four small-molecule inhibitors of Middle East respiratory syndrome coronavirus replication in cell culture.* Antimicrob Agents Chemother, 2014. **58**(8): p. 4875-84.

39)Yan, D., et al., *Factors associated with prolonged viral shedding and impact of Lopinavir/Ritonavir treatment in hospitalised non-critically ill patients with SARS-CoV-2 infection.* European Respiratory Journal, 2020.

40)Cao, B., et al., *A trial of lopinavir–ritonavir in adults hospitalized with severe Covid-19.* New England Journal of Medicine, 2020.

41)Cai, Q., et al., *Experimental treatment with favipiravir for COVID-19: an open-label control study.* Engineering, 2020.

42)Tu, Y.-F., et al., *A review of SARS-CoV-2 and the ongoing clinical trials.* International journal of molecular sciences, 2020. **21** :(۷)p. 2657.

43)Li, C., et al., *Chloroquine, a FDA-approved drug, prevents Zika virus infection and its associated congenital microcephaly in mice.* EBioMedicine, 2017. **24**: p. 189-194.

44)Oh, S., et al., *Anti-inflammatory activity of chloroquine and amodiaquine through p21-mediated suppression of T cell proliferation and Th1 cell differentiation.* Biochemical and biophysical research communications, 2016. **474**(2): p. 345-350.

45)Gao, J., Z. Tian, and X. Yang, *Breakthrough: Chloroquine phosphate has shown apparent efficacy in treatment of COVID-19 associated pneumonia in clinical studies.* Bioscience trends, 2020.

46)Gautret, P., et al., *Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial.* International journal of antimicrobial agents, 2020: p. 105949.

47)Molina, J.M., et al., *No evidence of rapid antiviral clearance or clinical benefit with the combination of hydroxychloroquine and azithromycin in patients with severe COVID-19 infection.* Med Mal Infect, 2020. **50**(384): p. 30085-8.

48)Shittu, M.O. and O.I. Afolami, *Improving the efficacy of chloroquine and hydroxychloroquine against SARS-CoV-2 may require zinc additives-A better synergy for future COVID-19 clinical trials.* Infez Med, 2020. **28** :(۲)p. 192-197.

49)Sheahan, T.P., et al., *Broad-spectrum antiviral GS-5734 inhibits both epidemic and zoonotic coronaviruses.* Science translational medicine, 2017. **9**.(۳۹۶)

50)Grein, J., et al., *Compassionate use of remdesivir for patients with severe Covid-19.* New England Journal of Medicine, 2020. **382**(24): p. 2327-2336.

51)Wang, Y., et al., *Remdesivir in adults with severe COVID-19: a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial.* The Lancet, 2020.

52)Caly, L., et al., *The FDA-approved drug ivermectin inhibits the replication of SARS-CoV-2 in vitro.* Antiviral research, 2020: p. 104787.

53)Schmith, V.D., J. Zhou, and L.R. Lohmer, *The Approved Dose of Ivermectin Alone is not the Ideal Dose for the Treatment of COVID-19.* Clinical Pharmacology & Therapeutics, 2020.

54)Ko, J.-H., et al., *Challenges of convalescent plasma infusion therapy in Middle East respiratory coronavirus infection: a single centre experience.* Antivir Ther, 2018. **23**(7): p. 617-22.

55)Duan, K., et al., *Effectiveness of convalescent plasma therapy in severe COVID-19 patients.* Proceedings of the National Academy of Sciences, 2020. **117**(17): p. 9490-9496.

56)Zhang, H., et al., *Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target.* Intensive care medicine, 2020. **46**(4): p. 586-590.

57)Monteil, V., et al., *Inhibition of SARS-CoV-2 infections in engineered human tissues using clinical-grade soluble human ACE2.* Cell, 2020.

58)Zhang, S., et al., *Rational use of tocilizumab in the treatment of novel coronavirus pneumonia.* Clinical Drug Investigation, 2020. **40**(6): p. 511-518.

59)Ortiz-Martínez, Y., *Tocilizumab: A new opportunity in the possible therapeutic arsenal against COVID-19.* Travel medicine and infectious disease, 2020. 101678.

60)Zhang, C., et al., *The cytokine release syndrome (CRS) of severe COVID-19 and Interleukin-6 receptor (IL-6R) antagonist Tocilizumab may be the key to reduce the mortality.* International journal of antimicrobial agents, 2020 :p. 105954.

61)Cellina, M., et al., *Favorable changes of CT findings in a patient with COVID-19 pneumonia after treatment with tocilizumab.* Diagnostic and Interventional Imaging, 2020. **101**(5): p. 323.

62)Ulrich, H. and M.M. Pillat, *CD147 as a target for COVID-19 treatment: suggested effects of azithromycin and stem cell engagement.* Stem Cell Reviews and Reports, 2020: p. 1-7.

63)Bian, H., et al., *Meplazumab treats COVID-19 pneumonia: an open-labelled, concurrent controlled add-on clinical trial.* MedRxiv, 2020.

64)Burkard, C., et al., *Coronavirus cell entry occurs through the endo-/lysosomal pathway in a proteolysis-dependent manner.* PLoS Pathog, 2014. **10**(11): p. e1004502.

65)Nguyen, B.C.Q., et al., *1, 2, 3-Triazolyl ester of Ketorolac: A "Click Chemistry"-based highly potent PAK1-blocking cancer-killer.* European Journal of Medicinal Chemistry, 2017. **126**: p. 270-276.

66)Lurie, N., et al., *Developing Covid-19 Vaccines at Pandemic Speed.* New England Journal of Medicine, 2020. **382**(21): p. 1969-1973.

67)van Riel, D. and E. de Wit, *Next-generation vaccine platforms for COVID-19.* Nature Materials, 2020. **19**(8): p. 810-812.

68)Begum, J., et al., *Challenges and prospects of COVID-19 vaccine development based on the progress made in SARS and MERS vaccine development.* Transboundary and Emerging Diseases, 2020. **n/a**(n/a).

69)Bandyopadhyay, A.S., et al., *Polio vaccination: past, present and future.* Future microbiology, 2015. **10**(5): p. 791-808.

70)Mukherjee, R., *Global efforts on vaccines for COVID-19: Since, sooner or later, we all will catch the coronavirus.* Journal of Biosciences, 2020. **45**: p. 1-10.

71)Zuniga, A., et al., *Attenuated measles virus as a vaccine vector.* Vaccine, 2007. **25**(16): p. 2974-2983.

72)Syomin, B. and Y. Ilyin, *Virus-like particles as an instrument of vaccine production.* Molecular Biology, 2019. **53**(3): p. 323-334.

73)Robert-Guroff, M., *Replicating and non-replicating viral vectors for vaccine development.* Current opinion in biotechnology, 2007. **18**(6): p. 546-556.

74)López-Camacho, C ,.et al., *Rational Zika vaccine design via the modulation of antigen membrane anchors in chimpanzee adenoviral vectors.* Nature communications, 2018. **9**(1): p. 1-11.

75)Funk, C.D., C. Laferrière, and A. Ardakani, *A Snapshot of the Global Race for Vaccines Targeting SARS-CoV-2 and the COVID-19 Pandemic.* Frontiers in Pharmacology, 2020. **11**.(۹۳۷)

76)Padron-Regalado, E., *Vaccines for SARS-CoV-2: Lessons from Other Coronavirus Strains.* Infectious Diseases and Therapy, 2020. **9**(2): p. 255-274.

77)Zhang, J., et al., *Progress and Prospects on Vaccine Development against SARS-CoV-2.* Vaccines, 2020. **8**.(۲)

78)Zhou, Y., S. Jiang, and L. Du, *Prospects for a MERS-CoV spike vaccine.* Expert Review of Vaccines, 2018. **17**(8): p. 677-686.

79)Li, F., *Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins.* Annual Review of Virology, 2016. **3**(1): p. 237-261.

80)Leung, D.T.M., et al., *Antibody Response of Patients with Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) Targets the Viral Nucleocapsid.* The Journal of Infectious Diseases, 2004. **190**(2): p. 379-386.

81)Neuman, B.W., et al., *A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology.* Journal of Structural Biology, 2011. **174**(1): p. 11-22.

82)Nieto-Torres, J.L., et al., *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Envelope Protein Ion Channel Activity Promotes Virus Fitness and Pathogenesis.* PLOS Pathogens, 2014. **10**(5): p. e1004077.

83)Wang, N., et al., *Subunit Vaccines Against Emerging Pathogenic Human Coronaviruses.* Frontiers in Microbiology, 2020.(۲۹۸)۱۱ .

84)Hu, H., et al., *Enhancing immune responses against SARS-CoV nucleocapsid DNA vaccine by co-inoculating interleukin-2 expressing vector in mice.* Biotechnology letters, 2009. **31**(11): p. 1685.

85)Smith, T.R., et al., *Immunogenicity of a DNA vaccine candidate for COVID-19.* Nature communications, 2020. **11**(1): p. 1-13.

86)world health organization. *draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines*. 2020 [cited 2020 28 sep]; Available from: https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines.

87)Yi, C., Y. Yi, and J. Li, *mRNA Vaccines: Possible Tools to Combat SARS-CoV-2.* Virologica Sinica, 2020: p. 1-4.

88)Pardi, N. and D. Weissman, *Nucleoside modified mRNA vaccines for infectious diseases*, in *RNA Vaccines*. 201 ,vSpringer. p. 109-121.

89)Zarghampoor, F., et al., *Improved translation efficiency of therapeutic mRNA.* Gene, 2019. **707**: p. 231-238.

90)Wang, F., R.M. Kream, and G.B. Stefano, *An evidence based perspective on mRNA-SARS-CoV-2 vaccine development.* Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research, 2020. **26**: p. e924700-1.

91)Vigerust, D.J. and V.L. Shepherd, *Virus glycosylation: role in virulence and immune interactions.* Trends in microbiology, 2007. **15**(5): p . .۲۱۸–۲۱۱

92)Vankadari, N. and J.A. Wilce, *Emerging COVID-19 coronavirus: glycan shield and structure prediction of spike glycoprotein and its interaction with human CD26.* Emerging microbes & infections, 2020. **9**(1): p. 601-604.

93)Watanabe, Y., et al., *Site-specific analysis of the SARS-CoV-2 glycan shield.* BioRxiv, 2020.

94)Wassenaar, T.M., G.S. Buzard, and D.J. Newman, *BCG vaccination early in life does not improve COVID-19 outcome of elderly populations, based on*

*nationally reported data.* Letters in applied microbiology, 2020.

95) Kamat, S. and M. Kumari, *BCG Against SARS-CoV-2: Second Youth of an Old Age Vaccine?* Frontiers in pharmacology, 2020. **11**: p. 1050.

96) Roth, A., et al., *BCG vaccination scar associated with better childhood survival in Guinea-Bissau.* International journal of epidemiology, 2005. **34**(3): p. 540-547.

97) Stensballe, L.G., et al., *Acute lower respiratory tract infections and respiratory syncytial virus in infants in Guinea-Bissau: a beneficial effect of BCG vaccination for girls :community based case–control study.* Vaccine, 2005. **23**(10): p. 1251-1257.

98) Ohrui, T., et al., *Prevention of elderly pneumonia by pneumococcal, influenza and BCG vaccinations.* Nihon Ronen Igakkai zasshi. Japanese journal of geriatrics, 2005. **42**(1): p.٣٦-٣٤ .

99) Kleinnijenhuis, J., et al., *BCG-induced trained immunity in NK cells: role for non-specific protection to infection.* Clinical immunology, 2014. **155**(2): p. 213-219.

100) Covián, C., et al., *Could BCG vaccination induce protective trained immunity for SARS-CoV-2?* Frontiers in Immunology, 2020. **11**: p. 970.

101) Dayal, D. and S. Gupta, *Connecting BCG vaccination and COVID-19: additional data.* Medrxiv, 2020.

102) world health organization. *list-of-candidate-vaccines-developed-against-mers*. 2020; Available from: https://www.who.int/blueprint/priority-diseases/key-action/list-of-candidate-vaccines-developed-against-mers.pdf?ua=1.

103) organization, W.h. *list-of-candidate-vaccines-developed-against-sars*. 2020; Available from: https://www.who.int/blueprint/priority-diseases/key-action/list-of-candidate-vaccines-developed-against-sars.pdf.

104) Uddin, M., et al., *SARS-CoV-2/COVID-19: Viral Genomics, Epidemiology, Vaccines, and Therapeutic Interventions.* Viruses, 2020. **12**.(٥)

105) Tu, Y.F., et al., *A Review of SARS-CoV-2 and the Ongoing Clinical Trials.* Int J Mol Sci, 2020. **21**.(٧)

106) Riggioni, C., et al., *A compendium answering 150 questions on COVID-19 and SARS-CoV-2.* Allergy, 2020.