

A KORONAVÍRUS ÉS A RENIN-ANGIOTENZIN RENDSZER KAPCSOLATA A COVID-19 ELLENI GYÓGYSZEREK FEJLESZTÉSÉNEK TÜKRÉBEN

Gesztelyi Rudolf*

Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet



Absztrakt

A koronavírusok családjának 2019-ben, Kínában felbukkant tagja, a SARS-CoV-2 rövid idő alatt az egész világot érintő járványt hozott létre. Az általa okozott betegség, a COVID-19 ugyan arányaiban nem szedett annyi halálos áldozatot, mint néhány régebbi pandémia, a frissen megfertőződött ember COVID-19 betegségének súlyossága azonban nem bizonyult könnyen megjósolhatónak az egyén aktuális egészségi állapota, illetve a más betegségekkel szemben korábban mutatott ellenállóképesége alapján. A COVID-19 tehát potenciálisan halálos kimenetele és kiszámíthatatlansága miatt a kezdeti időszakban (amíg nem volt ellene védőoltás és hatékony gyógyszerelés) olyan védekezési stratégiát kényszerített a világ országaira (az emberek nagy részének karanténba zárása), ami hosszútávon nem volt fenntartható. A károkhoz később az is hozzájárult, hogy a COVID-19 elleni védőoltás, noha kimutathatóan védő hatású, nem jelentett akkora áttörést a COVID-19 megelőzésében, mint azt sok más fertőző betegség esetében korábban tapasztalták, továbbá a megfertőzöttek gyógyszeres ellátása sem képes a fatális kimenetelt vagy a súlyos hosszútávú szövődményeket elég hatékonyan kivédeni. Ezek a tények aláhúzzák a COVID-19 elleni gyógyszeres terápia további fejlesztésének fontosságát. Ebben a küzdelemben az új, specifikus antivirális szerek kifejlesztése mellett szerep jut régebbi gyógyszerek újrapozicionálásának is. Az újrapozicionálás olyan költség- és időkímélő gyógyszerfejlesztési stratégia, ami egy már engedélyezett gyógyszer vagy fejlesztés alatt álló gyógyszerjelölt indikációját egy adott irányban kibővíti. Irodalmi adatok alapján a gyógyszerek anti-COVID irányú újrapozicionálása négy területen perspektivikus: 1.) a renin-angiotenzin rendszerbe való beavatkozás az angiotenzin-konvertáz enzim (ACE) vagy az angiotenzin-II 1-es típusú receptorának gátlásával (ARB); 2.) az emberi ACE2 enzim és a SARS-CoV-2 tüskefehérje kapcsolódásának gátlása N-acetilcisztein, esetleg quercetin segítségével; 3.) az ACE2 aktivitás növelése ibuprofen segítségével; 4.) a SARS-CoV-2 által diszbiotikusan módosított vastagbél flóra probiotikus irányú eltolásával probiotikumok, prebiotikumok, valamit triptofán révén.

Kulcsszavak: COVID-19; RAAS; gyógyszer újrapozicionálás; probiotikum

THE RELATIONSHIP BETWEEN CORONAVIRUS AND THE RENIN-ANGIOTENSIN SYSTEM IN THE LIGHT OF THE DEVELOPMENT OF DRUGS TO TREAT COVID-19

Abstract

SARS-Co-V of the Coronaviridae family emerged in 2019 in China and soon generated a pandemic. Albeit COVID-19 did not have as high death toll as some earlier pandemics, the severity and course of disease proved to be unpredictable if factors related to general health and case history of patients were considered. Thus COVID-19 due to its potentially fatal outcome and unpredictability demanded protective measures to be taken that were not sustainable in the long run (e.g. quarantining masses of people) during the early course of the pandemic (prior to the availability of vaccination and medications). Nonetheless, the vaccine for COVID-19, albeit showed efficacy, failed to reach the level of protection the former vaccines for other communicable diseases did. Additionally, available pharmaceutical treatment

* A levelező szerző elérhetősége: Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, 4032 Debrecen, Nagyterdei krt. 98; gesztelyi.rudolf@pharm.unideb.hu

regimens were not efficacious enough in preventing fatal outcome or long-term complications. These facts underscore the necessity of initiatives that seek future avenues for drug development, with special emphasis being placed on repositioning of medications with well-established use. Upon reviewing available scientific evidence four potential approaches may be identified that if repositioned could be evaluated as anti-COVID-19 agents: 1.) manipulating the a renin-angiotensin system by the use of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors or angiotensin receptor blockers (ARBs); 2.) inhibiting the binding between human ACE2 enzyme and SARS-CoV-2 spike protein by N-acetylcysteine, or possibly quercetin; 3.) increasing the activity of ACE2 using ibuprofen; 4.) administration of prebiotics, probiotics or tryptophan to normalize SARS-CoV-2 induced dysbiotic changes of the microbiome.

Keywords: COVID-19; RAAS; drug repositioning; probiotics

BEVEZETÉS COVID-19

A koronavírusok SARS-CoV-2 formája által kiváltott COVID-19 pandémia pusztító hatással volt a világra, a szedett áldozatokon túl mélyreható változásokat okozva a gazdaságban, a társadalmi szokásokban és a közgondolkodásban is. Az Egészségügyi Világszervezet (WHO) 2020. március 11-én pandémiává minősítette a járványt. A WHO kimutatásai szerint a COVID-19-el összefüggésben 2023. január 24-ig világszerte összesen 664 618 938 esetet igazoltak, 6 722 949 ember halt meg és 13 131 550 798 dózis vakcina került beadásra.^{1,2} A védőoltások, noha pozitív hatásuk kimutatható, nem jelentettek akkora áttörést a COVID-19 megelőzésében, mint azt sok más fertőző betegség esetében korábban tapasztalták. Ezek a tények aláhúzzák a COVID-19 elleni hatékony gyógyszeres terápia kialakításának fontosságát. Ebben a küzdelemben az új, specifikus antivirális szerek kifejlesztése mellett komoly szerep jut olyan, régebb óta ismert gyógyszerek újrapozicionálásának is, amelyek javítják a gyógyulás esélyét és segíthetnek megelőzni a betegség átvészélése után sok esetben jelentkező, sok szenvedést okozni képes, ún. poszt-COVID tüneteket is.

A koronavírusok a Coronaviridae család Orthocoronavirinae alcsaládjába tartozó, burokkal körülvett, pozitív, egyszálú RNS-ből álló vírusok. Nevüket onnan kapták, hogy a burkukból fehérjetüskék állnak ki, mintegy koronát képezve a virion központi része köré. A koronavírusok egyik faja az emberben súlyos, potenciálisan halálos atipusos tüdőgyulladást képes kiváltani, ez a „*severe acute respiratory syndrome*” (SARS), melyről a faj a nevét kapta: SARS-CoV. Ebből fejlődött ki a SARS-CoV-2, a

korábban ragályosabb „*Coronavirus disease 2019*” (COVID-19) kórokozója. A SARS-CoV-2 egyike a legnagyobb RNS vírusoknak: genomja 29 881 bázispárból áll, ami 9 860 aminosavat kódol. A SARS-CoV-2 virion S fehérjeje (spike: tüske), biztosítja a kapcsolódást a gazdaszervezet megfelelő sejt felszíni molekulájához (főleg az ACE2-höz), ami a fertőzőképesség feltétele.³ Ismert, hogy az S fehérje specifikusan kötődik az angiotenzin konvertáló enzim (ACE) 2-es izotípusához. Ez a kötődés aktiválja a TM proteáz szerint 2-t (TMPSS2), ami egy a gazdaszervezet sejtmembránjában levő transzmembrán szerin proteáz, ami annak kettéhasításával aktiválja az S fehérjét. Az S fehérjéből szabaddá váló S2 rész összeolvasztja a sejtmembránt és a vírusburkot. Miután a virion bejutott a sejtbe, a virális RNS kiszabadul a gazdasejt citoplazmájába, kialakul a replikáz-transzkriptáz komplex és megkezdődik a virális genom replikációja és transzkripciója. A virális RNS replikációját és a virális fehérjék szintézisét követően a virionok összeszerelődnek és kiszabadulnak a gazdasejtéből.³

Az S fehérje jelentősége

A SARS-CoV-2 tüskefehérjeje nagyon konzervatív a humán koronavírusok esetében. Funkciója a gazdasejt receptorának felismerése, az ahhoz való kötődés és a vírus gazdasejtbe történő bejutása.

Az S fehérje 1 273 aminosavból álló polipeptid lánc, mely egy rövid N terminális extracelluláris végből, egy transzmembrán doménből és egy C terminális intracelluláris végből áll. Az extracelluláris domént hozzá kovalensen kapcsolódó poliszacharid molekulák maszkolják a gazdaszervezet immun-kompetens sejtjei elől.⁴ Az S fehérje egy S1 és egy S2 részből áll: az S1-en található a receptorkötő domén, míg az S2 felel a membrán-

fúzióért. Az S fehérjék trimereket képezve hozzák létre a SARS-CoV-2 jellegzetes koronájának tuskéit. Az S fehérje trimer nyílt és zárt konformációs állapotot vehet fel. Natív állapotban az S protein inaktív. A gazdaszervezetbe jutva a gazdaséjt TMPSS2 proteáza az S proteint S1 és S2 részekre hasítja, felfedve és aktiválva ezáltal a receptorkötő domént és a membránfúzióért felelős domént.⁵

A vírusfertőzés első lépése a virionok gazdaséjtekhez kötődése a gazdaséjt receptorának felismerése révén: a SARS-CoV-2 tuskéjén levő receptorkötő domén a gazdaséjt ACE2 sejt felszíni enzimjéhez kötődik. Az S1 rész C terminális vége nagy felületen érintkezik az ACE2 receptorral. Ennek a szakasznak a mutációi befolyásolják a virion ACE2-höz való kötődés erősségét.⁶ A SARS-CoV és a SARS-CoV-2 kötődése az ACE2 enzimhez alapvetően ugyanolyan.

Az S fehérje mutációjának jelentőségére a WHO által 2021. novemberében azonosított új variáns, a B.1.1.529 (a továbbiakban Omikron variáns) is ráirányította a figyelmet.⁷ Az Omikron variánst Botswanában fedezték fel, ahonnan nagyon gyorsan terjedt tovább. Az Omikron variáns fertőzőképessége jelentősen meghaladja a korábbi variánsokét, melynek hátterében az Omikron S fehérjében bekövetkezett mutációk állnak. Az eredeti Wuhan-Hu-1 S fehérjéhez képest az Omikron S fehérje 37 mutációt tartalmaz, amelyből 13 egyedi. Összesen 15 mutáció érinti a receptor kötő domént, melyek eredményeként az ACE2 receptorhoz való kötődés során több hidrogén kötés alakul ki, ezáltal a kötődés erősebb. Megemlítenéd továbbá, hogy az Omikron S fehérjéhez az ismert neutralizáló antitestek 85%-a kisebb affinitással kötődik, mint az ACE2⁷, így a neutralizáló antitestek terápiás hatékonysága alacsonyabb az új variánsban.

Tekintettel arra, hogy a SARS-CoV-2 gazdaséjtbe való bejutásához alapvető az S fehérje - ACE2 enzim interakció, felmerül a lehetőség olyan terápia kidolgozására, ami ezt a kötődést gátolja. Mivel a virion tuskéfehérje könnyen mutálódik, nem tekinthető optimális targetnek. Ezzel szemben a gazdaszervezet ACE2 enzime jóval állandóbb struktúra, ráadásul része az alapvető működésű renin-angiotenzin rendszernek (RAS), melynek befolyásolására számos gyógyszercsoport áll

rendelkezésre. A továbbiakban először áttekintjük a RAS-t, majd az ACE2 befolyásolása szempontjából releváns gyógyszereket, melynek során megvizsgáljuk az egyes molekulák újrapozícionálásának lehetőségét.

A renin-angiotenzin rendszer (RAS)

A RAS az emberi test egyik alapvető humorális rendszere, melynek feladata az artériás vérnyomás és az extracelluláris folyadék térfogatának szabályozása. A RAS aktivációjának következményei a fokozott szimpatikus idegrendszeri izgalom, vasoconstrictio, vérnyomásemelkedés, gyulladás, fibrosis és myocardialis hypertrophia.⁸ Működészavara hypotenziót, hypertenziót, szív-elégtelenséget, sőt akár hirtelen halált is eredményezhet. Ahogy elnevezése is sugallja, a rendszer két fő eleme a renin és az angiotenzin (AT). A renint a vese juxtaglomeruláris sejtjei termelik prorenin formájában. A proreninből proteolitikus aktivációt követően alakul ki a renin. A renin expresszióját az alacsony artériás középnyomás, az alacsony Na⁺ ion szint és a szimpatikus idegrendszer aktivációja fokozza. A renin a májban termelt angiotenzinogén proteolitikus átalakulását katalizálja, melynek eredményeként egy decapeptid, az angiotenzin-I (Ang-I) jön létre. A plazma angiotenzinogén szintjét számos hormon emeli: a corticosteroidok, az ösztrogén, a pajzsmirigy hormonok, sőt az Ang-I egyik származéka, az angiotenzin-II (Ang-II) is. A renin mellett a RAS másik kulcsenzime szintén proteáz, az angiotenzin konvertáló enzim (ACE). Az ACE két típusa az ACE1 (amit általában – némi következetlenséggel – szintén csak ACE-nak rövidítenek) és az ACE2. Az ACE elsősorban epithel sejtekben expresszálódó transzmembrán fehérje, ami döntően az Ang-I – Ang-II átalakulást katalizálja az Ang-I két C terminális aminosavának lehasításával. Az ACE emellett több más peptid mediátor (pl. bradikinin, Id. később) bontását is végzi.

Az Ang-II több támadáspontú transzmitter oligopeptid. Simaizom összehúzó hatása révén vasoconstrictor mind az artériás, mind a vénás rendszerben, ezzel növeli az artériás középnyomást. Emellett protrombotikus hatása van a plazminogén-aktivátor inhibitor protein (PAI) 1 és 2 serkentése révén, továbbá fokozza a mellékvesékéregben az aldosteron szekréciót.

Az Ang-II két receptora az AT1 és az AT2. Az Ang-II (előbbieken felsorolt) legismertebb hatásait az AT1 mediálja. Az AT1 G fehérje-kapcsolt receptor, melynek aktiválása megemeli az intracelluláris kalcium-szintet. Az AT2 szintén G fehérje-kapcsolt receptor, ami különböző foszfatázok aktiválásán keresztül a membránban kálium csatornák nyitását eredményezi, illetve nitrogén monoxid (NO) és a PGI2 termeléséhez is vezet.^{9,10} Az NO-szint részben a fokozott bradikinin felszabadulás miatt fokozódó bradikinin 1 receptor (BK1R) aktivitás miatt emelkedik meg. Az AT2 aktiválása ugyanakkor vasodilatációt, natriuresist és gyulladásgátlást eredményez¹¹, vagyis az AT1 és AT2 receptor aktiválása egymással ellentétes hatásokhoz vezet. Az Ang-II mindkét receptorhoz azonos affinitással kötődik.¹² Megjegyzendő, hogy az AT1 gyógyszeres blokkolása esetén a keringő Ang-II az AT2 receptorhoz kötődik. Ennek következtében az AT1 receptort szelektíven gátló gyógyszerek (az ún. ARB-k) alkalmazása nem csak az AT1 által mediált hatások csökkenéséhez, hanem az AT2 általa hatások növekedéséhez is vezet.¹²

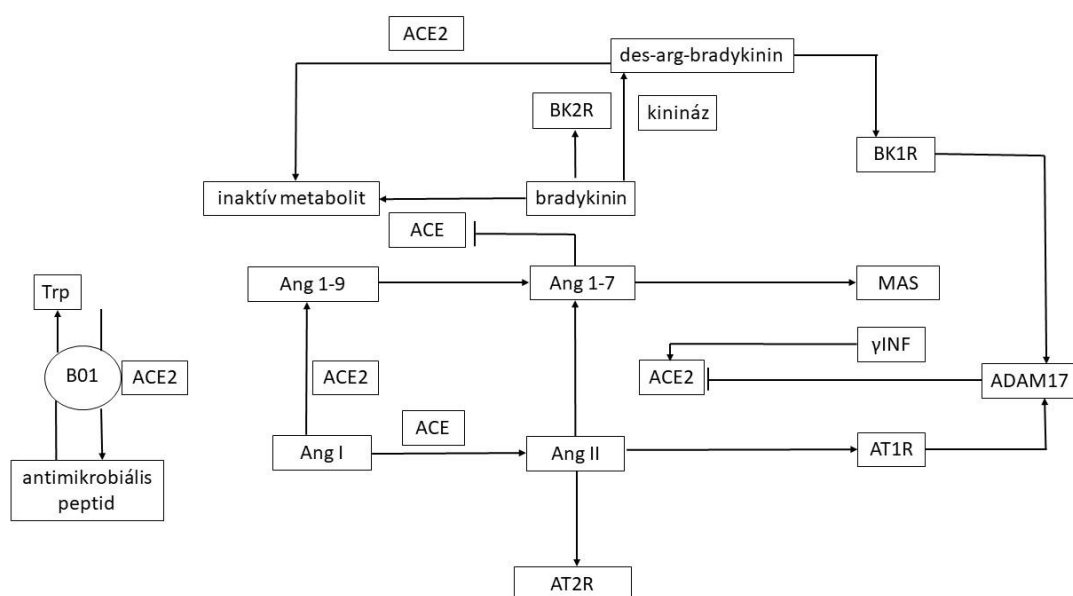
Az alternatív RAS

A több mint egy évszázada ismert, kanonikus RAS mellett a 2000-es évek elején azonosították a RAS

egy „alternatív” részét, amelynek fő enzime az ACE2. Ez az alternatív rész részben átfed a RAS klasszikus elemeivel, azonban az ACE2 működésének eredményeként keletkező angiotenzin 1-7 (Ang-1-7) hatásai ellentétesek a klasszikus RAS jellemző termékének, az Ang-II-nek a hatásaival. A klasszikus és az alternatív RAS egymást ellensúlyozó kapcsolatban állnak (1. ábra).

Az ACE2 teljes, vagyis membránhoz kötött formájában egy I. típusú integráns membrán glikoprotein, melynek peptidáz aktivitása van. Az ACE2 emellett szolubilis formában is előfordul, melyet egy metalloproteináz, az „A disintegrin and metalloprotease 17” (ADAM17) hatására keletkezik¹³ (1. ábra).

Az ACE2 génje kiméra: a katalitikus domént meghatározó rész az ACE génjével mutat homológiát, a C-terminális transzmembrán domént kódoló rész pedig a collectrin génhez hasonlít. A collectrin a proximális vesetubulusokban található BOAT1 neutrális aminosav transzporter működését szabályozza. Ezzel analóg módon az ACE2 a vékonybél epithel sejteinek BOAT1 neutrális aminosav transzporteréhez kötődik. A BOAT1-hoz kötődött ACE2 nem peptideket bont¹⁴, hanem neutrális aminosavak (köztük a triptofán) felszívódásának



1. ábra. Vazoaktív oligopeptid transzmitterek és az ezeket kialakító ill. inaktíváló peptidáz enzimek hálózata. ACE ill. ACE2: 1-es ill. 2-es típusú angiotenzin konvertáló enzim; Ang I ill. II: angiotenzin I. ill. II.; Ang 1-9 ill. Ang 1-7: az angiotenzin I. első 9 ill. 7 aminosavából álló peptid; AT1R ill. AT2R: az angiotenzin II. 1-es ill. 2-es receptora; BK1R ill. BK2R: a bradikinin 1-es ill. 2-es receptora; γ INF: gamma-interferon; MAS: az Ang 1-7 receptora; ADAM17: „a disintegrin and metalloprotease 17” enzim; Trp: triptofán; B01: neutrális aminosav transzporter

van szerepe. A triptofán a BOAT1/ACE2 komplex révén felszívódva aktiválja az mTOR/akt útvonalat, ami a bél antimikrobiális peptidjeinek expresszióját szabályozza és így befolyásolja a mikrobiom összetételét. A triptofán, illetve annak metabolitja, a nikotinamid központi szerepet játszanak a bélcsatorna gyulladásos folyamataiban.¹⁵

Az ACE2 számos sejtben expresszálódik, különösen epitheliumban, endotheliumban és az artériák simaizomzatában is.^{8,16} A γ -interferon (γ -INF) indukálja az ACE2 gént, így elképzelhető, hogy az ACE2 az antivirális védekezésben is szerepet játszik.¹⁷ Megfigyelték továbbá, hogy az ACE2 expresszió pozitívan összefügg az életkorral, a testtömeggel és a férfi nemmel.¹⁷

Bár az ACE és az ACE2 szerkezetileg hasonlítanak, funkciójuk eltér. Az ACE a szubsztrátjainak C-terminális végéről egy dipeptidet, míg az ACE2 egy aminosavat hasít le. Az ACE az Ang-I-ből vasoconstrictor Ang-II-t állít elő, míg az ACE2 révén az Ang-I-ből Ang1-9 keletkezik, melyet az ACE vagy más peptidázok vasodilatátor hatású Ang-1-7-té alakíthatnak át. Az ACE2 fő szubsztrátja egyébként az Ang-II, melyből közvetlenül Ang-1-7-et képez. Az ACE2 affinitása az Ang-II iránt 400-szor nagyobb, mint az Ang-I iránt.^{8,18}

Az ACE2 peptidáz és aminosav felszívódást segítő funkciója mellett más biológiai folyamatoknak is részese. Ezek közül az egyik legjelentősebb az ACE2 és a SARS-CoV vírus S proteinje közötti interakció. Az S protein trimer struktúrája az ACE2 katalitikus doménjének hidrofób zsebébe nyúlik be, és ez szükséges a vírus endocitózisához és a fertőzés kialakulásához. Az ACE2 - S protein interakcióhoz nincs szükség a peptidáz aktivitásra, sőt ez a kapcsolat nem is befolyásolja azt, az S proteint kötött ACE2 enzim is aktív katalitikusan.¹⁴

Az ACE2/Ang-1-7/MAS tengely

Az Ang-I-ből a klasszikus útvonalon ACE révén Ang-II keletkezik, míg az alternatív útvonalon ACE2 hatására Ang-1-9. Az Ang-1-9-ből az ACE Ang-1-7-et hoz létre, ezzel párhuzamosan az Ang-II-ből az ACE2 szintén Ang-1-7-et képez.¹⁷ Az Ang-1-7 molekula gyulladáscsökkentő, antioxidáns, gátolja a fibrosist, vasodilatátor és natriuretikus hatással is rendelkezik, mely hatások a G protein-

kapcsolt MAS receptoron (MAS1 onkogén) keresztül manifesztálódnak (11). Az ACE2/Ang-1-7/MAS tengely aktiválása mérsékeli a gyulladáskeltő citokinek, így a TNF- α , interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL6), transzformáló növekedési faktor β felszabadulását, gátolja a szív és/vagy tüdőfibrózis kialakulását, a pulmonáris hipertónia kialakulását és vaszkuláris remodellinget. Akárcsak az AT2 receptor Ang-II általi aktiválása során, a MAS receptor Ang-1-7 általi aktiválása is fokozza az NO és a PGI2 termelést.⁹

A fentiekén túl az Ang-1-7 kötődése az ACE enzim C terminális végéhez gátolja az enzimet, ezáltal csökken az Ang-II termelése és a bradikinin lebontása (tehát nő a bradikinin-szint). Humán érben, szívizomban és plazmában az Ang-1-7 nagyobb affinitással kötődik az ACE-hoz, mint az Ang-I, ami felveti, hogy az Ang-1-7 ACE-n kifejtett gátló hatása érdemlegesen hozzájárul ahhoz, hogy az Ang-1-7 képes ellensúlyozni az Ang-II AT1 receptor által mediált hatásait.¹⁷ Az Ang-1-7 kötődik az AT2 receptorhoz is, melynek aktiválódása NO felszabadításán keresztül vasodilatációt, natriuresist és gyulladáscsökkentő hatást vált ki.¹⁷

A szívizomsejtekben az Ang-II és az endothelin csökkenti az ACE2 mRNS termelődését, amit a mitogén-aktivált protein kináz (MAPK) 1 blokkol, felvetve, hogy az az Ang-II és endothelin-1 az extracelluláris szignál-szabályozott kináz (ERK91/2) aktiválásán keresztül csökkenti az ACE2 mennyiségét.¹⁷ Az Ang-II továbbá az ADAM17 upregulációjával fokozza az ACE2 extracelluláris doménjének levágását, ami szintén csökkenti a membrán-kötött ACE2 szintjét.¹⁷

A RAS és a kallikrein-kinin (KKR) rendszer kapcsolata

A RAS és a KKR szorosan kapcsolódnak egymással, hiszen főbb funkcióik, mint a vérnyomás és a véralvadás szabályozása, a gyulladáskeltés illetve az immunválasz fokozása, azonosak. A két rendszer több enzime (pl. az ACE és az ACE2) is közös, továbbá receptoraik együttműködnek olyan heterodimereket képezve, amelyek - alloszterikus interakciókon keresztül - kölcsönösen fokozzák egymás jelátvitelét. A két rendszer ily módon akár egy rendszernek is tekinthető.

A bradikinin egy a nagy molekulásúlyú kininogénből (HMWK) kallikrein révén keletkező nonapeptid. A bradikinin aktiválja a véralvadás intrinzik út vonalát (ezáltal prothrombotikus és gyulladáskeltő), vasodilatációt okozva csökkenti a vérnyomás, fokozza az érpermeabilitást, továbbá neutrophil granulocytá kemoattraktánsként fokozza az immunválaszt és a gyulladást.¹³ A kis molekulásúlyú kininogénből (LMWK) a kallikrein 10 aminosavból álló lys-bradikinin hoz létre. A bradikinin és a lys-bradikinin rövid féleletidejű peptidek, lebontásukért főleg az ACE felel.¹⁹ Az ACE tehát a KKR keretein belül gyulladáscsökkentő hatással bír, a RAS-on belül ezzel szemben gyulladáskeltő hatású, ugyanakkor mindkét rendszerben vérnyomásnövelő hatást fejt ki.

Gyulladásos környezetben a bradikinin illetve a lys-bradikinin kininázok révén des-arg-bradikininé illetve lys-des-arg-bradikininé alakul, melyek mindketten proinflammatorikusak és mindkettőt az ACE2 inaktíválja.¹³

A bradikinin két G protein-kapcsolt receptort aktivál, a bradikinin 1 (BK1) és bradikinin 2 (BK2) receptort. A BK1 receptor expressziója fiziológiásan alacsony, ami gyulladás hatására fokozódik. Nagyobb affinitással köti meg a gyulladásos miliőben megjelenő des-arg-bradikinin és lys-des-arg-bradikinin, mint prekursorikat, a bradikinin és a lys-bradikinin.¹⁹ A BK2 simaizmon, epitheliumon (és más immunkompetens sejteken), továbbá neuronokon és glia sejteken konstitutívan expresszáldó receptor, melyhez a bradikinin és a lys-bradikinin kötődik nagyobb affinitással.¹⁹

Az ADAM17, az ACE2 shedding enzime

Az ADAM17 shedding a membránhoz kötött ACE2 szolubilis formában való felszabadításáért felelős proteáz. Az ACE2 önállósult extracelluláris doménje a plazmából a vizelettel gyorsan kiürül, tehát a shedding csökkenti az ACE2 aktivitást. Az ADAM17 számos szövetben expresszáldó, így a szívben, erekben, vesében, agyban, herében, tüdőben és az izomban.²⁰ Az ADAM17 expressziója, ezzel együtt az ACE2 enzim lehasadása is fokozódik a kor előrehaladtával.¹³ A membrán-kötött ACE2 és az ADAM17 közötti reciprok kapcsolatot több sejtben is megfigyelték, többek között a cardialis fibroblastokon és a koszorúerek endothel sejtjei-

ben. Felvetették, hogy a szolubilis ACE2 koncentráció korrelálhat a szöveti károsodás mértékével és a gyulladásos folyamatok upregulációjával.¹⁷ ACE2 shedding funkciója mellett az ADAM17 aktiválja a TNF- α -t, az IL6 receptort pedig annak szolubilis formájává alakítja át, ami a nuclear factor kB (NFkB) aktiválásával fokozza a gyulladást. Ezzel proinflammatorikus pozitív visszacsatolás valósul meg.¹³

Az emelkedett Ang-II szint az AT1 receptor mediálásával ADAM17 aktivációt és így gyulladást okoz. Az AT1 receptor aktivációja fokozza a NADPH oxidáz rendszer működését is, ami reaktív oxigén gyök termelés indukálásán keresztül foszforilálja a p38 MAPK-t, ami pedig foszforilálja és ezáltal aktiválja az ADAM17-et.²¹ Állatkísérletes adatok szerint az ACE2 (Ang-II által iniciált) lehasadása AT1 receptor blokkolókkal kivédhető volt.¹⁷

Az Ang-II mellett a bradikinin is upregulálja az ADAM17 proteázt (BK1 receptoron keresztül).¹³ A peroxisome proliferator activating receptor (PPAR) γ agonista működésű rosiglitazon (inzulinérzékenyítő gyógyszer) viszont mérsékli az ACE2 lehasítást.²²

Összegzésül elmondható, hogy az Ang-II és a bradikinin által indukált ACE2 inaktíválás proinflammatorikus pozitív visszacsatolás a RAS-ban, mivel az ACE2 működése az Ang-II hatások fontos gátlója.²¹

A COVID-19 és a RAS interakciója

A RAS aktivitása magas a tüdőszövetben, a tüdő az Ang-II szintézis legjelentősebb szerve (8). A SARS-CoV-2 tüskefehérje és a sejt felszíni ACE2 kapcsolódása az enzim internalizálásához (és így aktivitásának elvesztéséhez) vezet. A SARS-CoV-2 kötődése az ACE2-höz az ADAM17-et is aktiválja¹³, sőt csökkenti az ACE2 mRNS szintjét is. Ehhez hozzájárul az ACE2 gén γ -INF általi indukciójának csökkenése is, amit az okoz, hogy COVID-19-ben mérséklődik a γ -INF válasz. Az ACE2 expresszió (több mechanizmuson keresztül) csökkenése emelkedett Ang-II szintet okoz, melynek következtében nő a vérnyomás, fokozódik a neutrophil granulocytá infiltráció és az erek permeabilitása, ami ödémához vezet. Ezeket a változásokat tükrözik a klinikai megfigyelések is, hiszen a COVID-19 fertőzésben szenvedő bete-

gekben a plazma Ang-II szintje szignifikánsan magasabb volt, mint az egészségeseké. Az Ang-II szint pozitívan korrelált a vírus mennyiségével a szervezetben és a tüdőkárosodás mértékével. A több Ang-II nagyobb AT1 receptor aktiváción keresztül több és súlyosabb cardiovascularis és pulmonaris szövödményt idéz elő.⁸

Tekintettel arra, hogy az ACE2 a szervezetben sok helyen expresszálódik, a COVID-19 disszeminált fertőzést okoz. Az ACE2 katalitikus funkciójának csökkenése a tüdőben az Ang-1-7 termelés visszaszorulásához vezet. Emellett a 2-es típusú pneumocyták fertőződése miatt csökken az alveoláris surfactant termelése, ami rontja a gázcserét).¹⁸

Noha az ACE2 expressziója jelentős a gastrointestinalis rendszerben is, az itteni tünetek nem annyira meghatározóak, mint a légútiak. A SARS-CoV-2 kötődése az ACE2-höz az enterocytákban is ACE2 funkcióvesztéssel jár, ami akadályozza a neutrális aminosavak felszívódását (köztük az esszenciális triptofánét is). Ez károsítja az immunválaszt a bélben.¹⁵ Ezt bizonyítja, hogy az enterális ACE2 hiányában kialakuló bélflóra transzplantálása csíramentesen tartott egerekbe bélfali gyulladást idézett elő, ami triptofánban gazdag táppal kivédhető volt. Ez felveti a triptofán meghatározó szerepét a bél kismolekulájú antimikrobiális peptid termelésében.¹⁵

Ennek jelentőségét aláhúzza, hogy a gastrointestinalis traktus és a légutak mikrobiomja egymással - az immunrendszer által mediált - interakcióban van. A mikrobiom fontos szerepet játszik a helyi immunitás kialakításában, a nyálkahártya barrier funkciójának fenntartásában. COVID-19 fertőzött betegekben a bronchoalveoláris mosófolyadékából gastrointestinalis dysbiosisra utaló mikrobiális kép rajzolódott ki. Egy másik vizsgálatban COVID-19 fertőzésben meghalt betegekben a tüdőből vett tübiopsziás minták szintén a gastrointestinalis traktusra jellemző baktériumflóra jelenlétét igazolták.²³

A COVID-19 ELLEN POTENCIÁLISAN ÚJRAPOZÍCIONÁLHATÓ GYÓGYSZEREK

COVID-19 ellenes hatás RAS gátlás révén

Az előbbiekkal összhangban tehát a SARS-CoV-2 csökkenti a membrán-kötött ACE2 mennyiségét

ADAM17 általi ektodomén shedding révén, ami gyengíti az ACE2/Ang-1-7/MAS útvonalat és ezzel proinflammatorikus irányban hat.¹⁷ Ezt a kedvezőtlen folyamatot megkísérelhetjük visszafordítani a RAS rendszerbe való beavatkozással, melyre számos ponton nyílik farmakológiai lehetőség. Így a renin felszabadulás juxtaglomeruláris apparátus β 1 receptorainak gátlásán keresztüli gátlásával, a prorenin illetve a renin gátlásával, az Ang-I – Ang-II átalakulás gátlása az angiotenzin-konvertáló enzim (ACE) gátlásával, az AT1 receptor gátlása.

Béta-blokkolók és renin gátlók

A RAS gátlása a béta-blokkolók egyik vérnyomáscsökkentő hatásmechanizmusa, azonban a β 1 receptorok általános előfordulása miatt béta-blokkolót nem szokás kimondottan a RAS gátlására használni. A prorenin és a renin enzimaktivitásának gátlása jóval szelektivebb beavatkozás. A renin gátlók közül a harmadik generációs (nem-peptid) aliskiren jelenleg a legfontosabb terápiás eszköz. Az aliskiren a renin katalitikus kötőhelyét lefedve gátolja az angiotenzinogén – Ang-I átalakulást.²⁴

Angiotenzin-konvertáló enzim (ACE) gátlók

Az ACE gátló készítmények az ACE katalitikus aktivitását gátolva késleltetik az Ang-I – Ang-II átalakulást és a bradikinin lebontását is. Az ACE gátlók mind a vérben keringő, mind a szöveti (pl. agyi) Ang-II koncentrációját csökkentik. Emellett az ACE gátlók növelik az inzulinérzékenységet. Ennek hátterében egyfelől az ACE gátlás okozta aldoszteronszint csökkenés talaján kialakuló – általában enyhe – hyperkalaemia áll, másfelől PPAR- γ agonista hatás.²⁴

AT1 receptor blokkolók (ARB-k)

Az ARB-k az Ang-II AT1 receptor által mediált hatásait gátolják. A kieső renin termelésre gyakorolt, AT1 receptor mediálta negatív feedback miatt az Ang-II szint emelkedik, ami viszont annyiban kedvező, hogy fokozza az AT2 receptor mediálta hatásokat, továbbá több lesz az ACE2 révén keletkező Ang-1-7, ami MAS receptoron keresztül ellensúlyozza az AT1 receptoron kiváltott hatásokat. Az AT1 antagonizmusa ezek mellett növeli az ACE2 expresszióját is²¹, továbbá az AT1 receptor blokkol-

lása gátolja az ADAM17 által indukált ACE2 shedding-et (13). Az ACE gátlókhöz hasonlóan az ARB-k is rendelkeznek PPAR- γ agonista hatással.²⁴

A SARS-CoV-2 fertőzés hatására az ACE2 mennyisége csökken egyrészt a virion – ACE2 komplex internalizálódása miatt, másrészt az ADAM17 aktiválódása miatt.^{13,20} A kieső ACE2 funkció növeli ugyan Ang-II szintet, ARB jelenléte esetén azonban az Ang-II elsősorban AT2 receptorhoz tud kötődni.²⁴

Egyes ARB-k az AT1 gátlása mellett további kedvező tulajdonságokkal is bírnak. A telmisartan és az irbesartan például PPAR γ agonista hatású¹², ami alapján felvethető, hogy, akár csak a rosiglitazon, mérséklék az ACE2 shedding-et. Ezen túlmenően a losartan egér modellen gátolta a SARS-CoV-2 replikációt.

Az olmesartan olyan ARB, ami krónikus alkalmazás mellett sem emeli meg a többi ARB-re jellemző módon az Ang-II szint, sőt csökkenti azt. Az olmesartan emellett fokozza az ACE2 expressziót, ami által az Ang-II-ből Ang-1-7 keletkezik. Az olmesartan okozta Ang-1-7-szint emelkedés eleve nagy mértékű ACE gátlás eléréséhez, ami érzékelhetően növeli a bradikinin szintet.²⁵ A megemelkedett bradikinin szint fokozza az NO felszabadulást és ezáltal gátolja mind a vascularis, mind a cardialis remodellinget.

Az ACE gátlóval és ARB-vel végzett RAS gátlás jelentősége COVID-19-ben

A fentiek tükrében az ACE gátlók és az ARB-k alkalmazása kedvező hatású lehet, mivel az ACE2 upregulációján keresztül fokozzák az Ang-1-7 által kifejtett gyulladásgátló, antifibrotikus és antithrombotikus hatásokat, amivel lassíthatják a vascularis illetve cardialis remodellinget.¹⁷ Tekintettel a rendszer bonyolultságára, annak megítélése, hogy a RAS farmakológiai befolyásolása milyen hatással van a COVID-19 betegség lefolyására, csak nagy klinikai vizsgálatok eredményének ismeretében lehetséges.

A sok, koronavírus kapcsán végzett kutatás közül egy ilyen vizsgálat emelkedik ki, a Lee és munkatársai által végzett metaregressziós elemzés²⁴, melybe a PubMed/MEDLINE/Embase adatbázi-

sokban szereplő, COVID-19 miatt hospitalizált betegek adatait feldolgozó kohorsz vizsgálatokat és metaanalíziseket vontak be. Összesen 30 vizsgálat került be az elemzésbe 17 281 beteg bevonásával, melyek közül 11%-nak volt krónikus veseelégtelensége, 22%-nak kardiovaszkuláris megbetegedése, 25%-nak diabetes mellitusa és 68%-a volt hipertóniás. Random hatás metaregresszióval határozták meg ARB / ACE gátló kezelésben részesülő és nem részesülő betegek esetében a mortalitás „pool”-ozott, korra, nemre, krónikus veseelégtelenségre, kardiovaszkuláris betegségekre, diabetes mellitusra és hipertenzióra korrigált esélyhányadosát. A mortalitás korrigált esélyhányadosát szignifikánsan alacsonyabbnak találták ARB / ACE gátló használat mellett, mint anélkül. (Az ARB / ACE gátló használat ugyanakkor nem mutatott szignifikáns hatást a mortalitásra, ha nem korrigálták a zavaró hatásokra.) A szerzők arra a következtetésre jutottak, hogy ARB illetve ACE gátló szedése mellett kedvezőbb a COVID-19 kimenetele.²⁴

COVID-19 ellenes hatás az ACE2 és az S protein kapcsolódásának befolyásolásával N-acetilcisztein

A SARS-CoV-2 tüskefehérje felszínén egy a SARS családba tartozó koronavírusok körében meglehetősen konzervatív diszulfid-híd található a 488-as és 480-as pozícióban levő cisztein oldalláncok között. A tüskefehérje intramolekuláris diszulfid-hídja fontos az ACE2-höz való kötődés szempontjából.²⁷

In vitro vizsgálatok szerint a tiol-reaktív N-acetilcisztein jelenlétében nem jött létre a SARS-CoV-2 – ACE2 kötődés, így módon a vizsgált sejtvonal (VeroE6/TMPRSS2) nem fertőződött meg. A vizsgálatok szerint az N-acetilcisztein több SARS-CoV-2 variáns (alfa, béta, gamma és delta) kapcsolódását is megakadályozta a sejtfelszíni ACE2-höz. Hasonló eredményeket kaptak redukált glutation alkalmazása esetén is. Ezek alapján megállapításra került, hogy a tüskefehérje és az ACE2 közötti kötődés érzékeny a tiol-reaktív redukáló ágensekre.²⁷

Az N-acetilcisztein széleskörben alkalmazott, könnyen hozzáférhető nyákoldó, ami több mechanizmuson keresztül fejt ki expektoráns hatását:

depolimerizálja a légutak felszínét borító nyák fehérjéit, fokozza a surfactant termelődését, serkenti a mukociliáris aktivitást. Emellett antioxidáns, a sejtekbe jutva pedig L-ciszteinné deacetilálódva a glutation prekursoraként funkcionál. A készítmény alkalmazását biztonságossága is támogatja: egészséges önkéntesek napi 11,2 g N-acetilcisztein szedése mellett sem tapasztaltak komolyabb mellékhatásokat.²⁸

Quercetin

A gyógyszerek COVID-19 elleni újrapozicionálásának másik érdekes példája a quercetin. In silico vizsgálatok során egy 8 000 gyógyszermolekulát és természetesen előforduló molekulát tartalmazó adatbázist dolgoztak fel azzal a céllal, hogy a SARS-CoV-2 tüskefehérjeje és az ACE2 közötti kapcsolódást gátló molekulát találjanak. A virion – ACE2 kapcsolódás felületét modellezve azonosították a quercetint, mint ami gátolhatja a kötődést és így megakadályozhatja a fertőzést. A quercetin hátránya, hogy per os alkalmazva alacsony a biohasznosulása, ezért nehezen érhető el az a plazma-szint, ami elégséges a tüskefehérje és az ACE2 kötődés gátlására. Alternatívaként intranazális alkalmazás jöhet szóba, ami lehetővé tenné, hogy a farmakológiailag aktív quercetin-aglikon elérje a terápiás lokális koncentrációt.²⁹

COVID-19 ellenes hatás az ACE2 aktivitás (relatív vagy abszolút) fokozásával

További érdekes molekulajelölt lehet az ibuprofen. Az ibuprofen nem-szteroid gyulladáscsökkentő (NSAID), melyet fájdalomcsillapító, lázcsillapító, gyulladáscsökkentő indikációban széles körben alkalmaznak, tekintettel kedvező biztonságossági profiljára melyet az alacsonyabb gastrointestinalis és renális mellékhatás jellemez. Egy preklinikai vizsgálatban az ibuprofen streptozotocin által indukált diabetes mellitus talaján kialakuló myocardialis fibrózisra gyakorolt hatását vizsgálták. Kimutatták az ibuprofen antifibrotikus hatását, mely háttérben a diabetes talaján fokozott aktivitást mutató ACE/AngII/AT1 receptor tengely

gátlása és az ACE2/Ang-1-7/MAS tengely serkenése állt. Az ibuprofen kezelés hatására javult a két, ellentétesen ható mechanizmus egyensúlya, melyet az ACE2/ACE arány növekedése kísért és a myocardialis fibrózis mérséklődése is tükrözött. A preklinikai eredmények alapján felvethető, hogy az ibuprofen alkalmazása kedvező lehet a COVID-19 fertőzés kezelésében, főleg, ha NSAID alkalmazása amúgy is indokolt.

COVID-19 ellenes hatás a mikrobiom befolyásolásával

Tekintettel az enterocytákban végbemenő kedvezőtlen folyamatokra, melyek a lumináris ACE2 aktivitás SARS-CoV-2 általi csökkentéséből adódnak, érdemes lehet fokozott figyelmet fordítani az esetlegesen kialakuló triptofán hiány kezelésére, és az ennek talaján kialakuló dysbiosis rendezésére pro- illetve prebiotikumok alkalmazásával.

Összegezve elmondható, hogy a koronavírusos családjába tartozó SARS-CoV-2 vírusfertőzéssel szembeni védekezés egyik olyan régebbi gyógyszerek újrapozicionálása, melyek szokásos alkalmazásukon kívül a COVID-19 ellen is hatékonyan mutakozhatnak. A régebbi gyógyszerek közül négy csoport emelhető ki: 1.) a magasvérnyomás betegség kezelésére használt két gyógyszercsalád, az ún. angiotenzin-konvertáz enzim (ACE) gátlók és az angiotenzin receptor gátlók (ARB-k); 2.) az N-acetilcisztein (egyszerű, recept nélkül kiváltható köptető), esetleg a quercetin, melyek gátolják a SARS-CoV-2 általi megfertőződést egy emberi enzim, az ACE2 és a SARS-CoV-2 tüskefehérje kapcsolódásának megzavarásával; 3.) az ibuprofen (közismert láz- és fájdalomcsillapító), ami növeli ACE2 aktivitását, amit a SARS-CoV-2 csökkent; 4.) recept nélkül kapható probiotikumok és prebiotikumok (a probiotikus baktériumok táplálékai), valamint triptofán (egy esszenciális, vagyis vitaminszerű aminosav), melyek a SARS-CoV-2 által kedvezőtlen irányban módosított bélflórát kedvező (probiotikus) irányba tolják el. Ezek klinikai hatékonyságát azonban további klinikai vizsgálatok segítségével szükséges igazolni.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A közlemény a TKP2020-NKA-04 számú projekt keretében, az Innovációs és Technológiai Minisztérium Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatásával, a 2020-4.1.1-TKP2020 pályázati program finanszírozásában valósult meg.

ÖSSZEFÉRHETLENSÉGI NYILATKOZAT

Nincs összeférhetlenség.

IRODALOM

1. Průb BM. Variants of SARS CoV-2: mutations, transmissibility, virulence, drug resistance, and antibody/vaccine sensitivity. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2022;27(2):65-80.
2. WHO. Vaccinations [Internet]; 2023 [Cited 2023.01.24]. Available from: <https://covid19.who.int/?mapFilter=vaccinations>
3. Huang Y, Yang C, Xu XF, Xu W, Liu SW. Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antiviral drug development for COVID-19. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2020;41(9):1141-9.
4. Watanabe Y, Allen JD, Wrapp D, McLellan JS, Crispin M. Site-specific glycan analysis of the SARS-CoV-2 spike. *Science*. 2020;369(6501):330-3.
5. Bertram S, Dijkman R, Habjan M, Heurich A, Gierer S, Glowacka I, Pöhlmann S. TMPRSS2 activates the human coronavirus 229E for cathepsin-independent host cell entry and is expressed in viral target cells in the respiratory epithelium. *Journal of virology*. 2013;87(11):6150-60.
6. Wang Q, Zhang Y, Wu L, Niu S, Song C, Zhang Z, Qi J. Structural and functional basis of SARS-CoV-2 entry by using human ACE2. *Cell*. 2020;181(4):894-904.
7. Behl T, Kaur I, Sehgal A, Singh S, Sharma N, Anwer MK, Bungau S. There is nothing exempt from the peril of mutation—The Omicron spike. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022;148:112756.
8. Cheng H, Wang Y, Wang GQ. Organ-protective effect of angiotensin-converting enzyme 2 and its effect on the prognosis of COVID-19. *Journal of medical virology*. 2020;92(7):726-30.
9. Fang C, Schmaier AH. Novel anti-thrombotic mechanisms mediated by Mas receptor as result of balanced activities between the kallikrein/kinin and the renin-angiotensin systems. *Pharmacological Research*. 2020;160: 105096.
10. Vargas RAV, Millán JMV, Bonilla EF. Renin-angiotensin system: Basic and clinical aspects - A general perspective. *Endocrinología, Diabetes y Nutrición (English ed.)*. 2022;69(1):52-62.
11. Azushima K, Morisawa N, Tamura K, Nishiyama A. Recent research advances in renin-angiotensin-aldosterone system receptors. *Current hypertension reports*. 2022;22(3): 1-10.
12. Horiuchi M, Iwanami J, Mogi M. Regulation of angiotensin II receptors beyond the classical pathway. *Clinical Science*. 2012;123(4):193-203.
13. Bastolla U, Chambers P, Abia D, García-Bermejo ML, Fresno M. Is Covid-19 severity associated with ACE2 degradation? *Front Drug Discov*. 2022;1(1):1-13.
14. Kuba K, Imai Y, Penninger JM. Multiple functions of angiotensin-converting enzyme 2 and its relevance in cardiovascular diseases. *Circulation Journal*. 2013;77(2): 301-8.
15. Hashimoto T, Perlot T, Rehman A, Trichereau J, Ishiguro H, Paolino M, Penninger JM. ACE2 links amino acid malnutrition to microbial ecology and intestinal inflammation. *Nature*. 2012;487(7408):477-81.
16. Bao W, Zhang X, Jin Y, Hao H, Yang F, Yin D, Zhang M. Factors associated with the expression of ACE2 in human lung tissue: pathological evidence from patients with Normal FEV1 and FEV1/FVC. *Journal of Inflammation Research*. 2021;14:1677.
17. Brojakowska A, Narula J, Shimony R, Bander J. Clinical implications of SARS-CoV-2 interaction with renin angiotensin system: JACC review topic of the week. *Journal of the American College of Cardiology*. 2020;75(24): 3085-95.
18. Domingo P, Mur I, Pomar V, Corominas H, Casademont J, de Benito N. The four horsemen of a viral Apocalypse: The pathogenesis of SARS-CoV-2 infection (COVID-19). *EBioMedicine*. 2020;58:102887.
19. Dagnino APA, Campos MM, Silva R. Kinins and their receptors in infectious diseases. *Pharmaceuticals*. 2020;13(9): 215.
20. Alfano G, Guaraldi G, Fontana F, Ferrari A, Magistrini R, Mussini C, Modena Covid-19 Working Group. The role of the renin-angiotensin system in severe acute respiratory syndrome-CoV-2 infection. *Blood Purification*. 2021;50(2):263-7.
21. Patel VB, Clarke N, Wang Z, Fan D, Parajuli N, Basu R, Oudit GY. Angiotensin II induced proteolytic cleavage of myocardial ACE2 is mediated by TACE/ADAM-17: a positive feedback mechanism in the RAS. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2014;66:167-76.
22. Gutta S, Grobe N, Kumbaji M, Osman H, Saklayan M, Li G, Elased KM. Increased urinary angiotensin converting enzyme 2 and neprilysin in patients with type 2 diabetes. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2018;315(2):F263-F274.
23. Aan FJ, Glibetic N, Montoya-Urbe V, Matter ML. COVID-19 and the microbiome: the gut-lung connection. *Reference Module in Food Science*. 2021. B978-0-12-819265-8.00048-6. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819265-8.00048-6>
24. Gyires K, Fürst Z, Ferdinandy P. Farmakológia és klinikai farmakológia. *Medicina Kiadó*. 2020 p. 183-8.
25. Lee T, Cau A, Cheng MP, Levin A, Lee TC, Vinh DC, Corona A. Angiotensin receptor blockers and angiotensin-converting enzyme inhibitors in COVID-19: Meta-analysis/meta-regression adjusted for confounding factors. *CJC open*. 2021;3(7):965-75.
26. Agata J, Ura N, Yoshida H, Shinshi Y, Sasaki H, Hyakkoku M, Shimamoto K. Olmesartan is an angiotensin II receptor blocker with an inhibitory effect on angiotensin-converting enzyme. *Hypertension Research*. 2006;29(11):865-74.
27. Murae M, Shimizu Y, Yamamoto Y, Kobayashi A, Houru M, Inoue T, Noguchi K. The function of SARS-CoV-2 spike protein is impaired by disulfide-bond disruption with mutation at cysteine-488 and by thiol-reactive N-acetyl-cysteine and glutathione. *Biochemical and biophysical research communications*. 2022;597:30-6.
28. Fluimucil, alkalmazási előirat. [Internet]. 2020 [Cited 2022.03.10.] Available from www.ogyei.hu
29. Williamson G, Kerimi A. (2020). *Testing of natural products in clinical trials targeting the SARS-CoV-2 (Covid-19) viral spike protein-angiotensin converting enzyme-2 (ACE2) interaction*. *Biochemical pharmacology*. 2020;178:114123.