

7.Febbraio

## Molnupiravir una potenziale roulette russa?

*Rischiamo di morire solo sei o sette volte  
e pensai che non fosse un cattivo risultato.*

Rick Riordan  
The Lightning Thief

C'è un disperato bisogno di rendere ampiamente disponibili trattamenti efficaci per SARS-CoV-2, di sviluppare nuovi trattamenti antivirali capaci di consentire una risposta rapida alle nuove varianti di SARS-CoV-2 e, più in generale, di essere in grado di rispondere a nuove epidemie di *RNA virus*.

**Molnupiravir** ha le potenzialità per ridurre il carico di malattia delle infezioni da SARS-CoV-2 e aiutare a contenere i futuri *virus RNA* emergenti confermato dallo studio clinico del team di **Jayk Bernal** (*N. Engl. J. Med.*2021) che ha mostrato una riduzione del **30%** dell'ospedalizzazione quando le persone con infezione sintomatica da SARS-CoV-2 (e a rischio di malattie più gravi) sono state trattate entro i **primi 5 giorni** dalla comparsa dei sintomi

Sulla base di questi risultati, la Food and Drug Administration (FDA) ha approvato un'autorizzazione all'uso di emergenza (EUA) per **molnupiravir** per il trattamento delle infezioni sintomatiche da SARS-CoV-2. Ho molto spazio e studio personale al **molnupiravir**

**03.10.21: Per soli 700 dollari Molnupiravir riduce il rischio di ospedalizzazione e di morire di COVID-19**

**10.11.21: Il Molnupiravir generando mutazioni, riduce del 50% il rischio di ospedalizzazione e morte ma suscita ipotetiche paure**

**25.01.22: Molnupiravir: finalmente dei dati "rassicuranti"**

in quanto la "strategia della mutagenesi letale" e l'idea che un leggero aumento del tasso di errore di un virus a *RNA* a rapida replicazione prevale sulla capacità di rimuovere mutazioni deleterie, portando così la popolazione virale all'estinzione mi lascia *dubbioso e perplesso* (ma questo è un mio limite) e mi fa pensare piuttosto che ad una soluzione terapeutica sicura ad una **roulette russa**, un gioco dove la vita sfida la sorte e le probabilità matematiche. Non è un caso che l'approvazione del FDA include anche una importante "nota cautelativa". Come ho descritto nelle precedenti sezioni

### La Strategia della mutagenesi letale

Come ho descritto nelle precedenti sezioni la strategia per aumentare il tasso di nuove mutazioni nei *virus a RNA* consiste nel progettare analoghi del **ribonucleoside** che possono essere metabolizzati in **ribonucleoside trifosfati** nelle cellule e quindi essere incorporati nel genoma virale durante la sintesi dell'RNA virale. Il design dell'analogo consente alla porzione di base del **ribonucleotide** di appaiarsi in modo ambiguo durante la successiva sintesi dell'*RNA*. Pertanto, una volta incorporato nell'*RNA* virale, l'analogo si accoppierà con uno dei numerosi nucleotidi naturali durante la sintesi dell'*RNA*, portando a una mutazione. I virus a *RNA* sintetizzano filamenti complementari più e meno di *RNA* durante la replicazione virale e lo fanno più volte.

*Ad esempio*, si stima che il genoma dell'*RNA* del poliovirus subisca *cinque cicli consecutivi* di replicazione all'interno di una cellula prima che vengano rilasciate nuove particelle virali. Poiché il genoma dell'*RNA virale* viene amplificato nella cellula, gli effetti del mutageno si concentrano nel genoma virale.

Un momento cruciale si determina quando i **ribonucleosidi** devono essere fosforilati nella forma **5'-trifosfato** per essere substrati per la sintesi dell'RNA (ospite o virale). I **ribonucleosidi** sintetizzati dalla cellula ospite si formano come **5'-monofosfato**. Gli analoghi del ribonucleoside entrano in questa via biosintetica attraverso la fosforilazione da parte di una **chinasi** di salvataggio per formare il **5'-monofosfato**. Il **ribonucleoside 5'-monofosfato** viene fosforilato al ribonucleoside **5'-difosfato** e quindi al **5'-trifosfato** (ora pronto per la sintesi dell'RNA).

Il **ribonucleoside 5'-difosfato** è l'**intermedio obbligatorio** in questa via, il che crea un potenziale problema. Il **ribonucleoside 5'-difosfato** è anche l'intermedio obbligatorio nella sintesi del **2'-deossiribonucleoside 5'-difosfato** che è sulla via per formare **2'-deossiribonucleoside 5'-trifosfati**, che vengono utilizzati nella sintesi del DNA. L'enzima **ribonucleotide reduttasi (RNR)** è responsabile di questa reazione.

**Pertanto, esiste una chiara via metabolica affinché un analogo del ribonucleoside mutageno diventi un precursore per la sintesi del DNA dell'ospite.**

### Potenziale genotossico

**Molnupiravir** ha dimostrato di essere positivo nel test batterico di **Ames** (un test che misura il potenziale mutageno), mentre due test su **modelli animali** per definire il potenziale mutageno erano ampiamente negativi, portando così la FDA a dichiarare nella scheda informativa EUA che "**molnupiravir è a basso rischio di genotossicità**"

Tuttavia, la capacità del **metabolita molnupiravir NHC** di transitare lungo il **percorso RNR** è stata dimostrata in un test basato su coltura cellulare della mutagenesi delle cellule di mammifero sollevando non pochi dubbi su quali test dovrebbero essere utilizzati per valutare il rischio di mutagenesi nell'uomo.

### I dubbi di un embriologo

Come *embriologo* sono particolarmente scettico sull'efficacia dei test di laboratorio "**classici**" che *utilizzano batteri, cellule animali e modelli animali* per definire l'attività mutagenica con rischio a lungo termine per la **salute umana**.

I **mutageni** incorporati durante la sintesi del DNA cellulare sono problematici *per il feto* in via di sviluppo (dove le cellule stanno subendo una rapida divisione), *le cellule germinali maschili* (che continuano a dividersi per tutta la vita) e il **rischio di cancro** (dove la piccola frazione di cellule umane che si sta dividendo ha il potenziale per incorporare una mutazione che potrebbe contribuire allo sviluppo del cancro).

Gli esseri umani sono esposti a mutageni per tutta la vita, ad esempio le mutazioni del DNA sono indotte dall'imaging a raggi X o durante i viaggi aerei, quindi ci sono livelli di danno al DNA che sono considerati in gran parte irrilevanti.

Se il **metabolita molnupiravir NHC** è davvero un mutageno nelle cellule animali in divisione, come dovrebbero essere interpretati i dati negativi in un modello animale?

Tali dati negativi sono sufficienti per garantire la **sicurezza a lungo termine** negli esseri umani o è necessario riconoscere la mancanza di conoscenza del legame tra i risultati negativi nei test sugli animali e gli esiti a lungo termine nella salute umana?

L'uso di **molnupiravir** comporterà alcune restrizioni sui rischi a breve termine associati alla salute riproduttiva, ma potrebbero essere necessari anni prima che vengano compresi i potenziali rischi a lungo termine. Il miglior risultato, che è il presupposto dai risultati negativi negli animali, è che il trattamento con **molnupiravir** rientri nel livello di fondo di esposizione a mutageni che gli esseri

umani già sperimentano e tollerano. L'**emivita** dei metaboliti di **molnupiravir** nel tessuto umano non è nota.

Si ritiene (ipotizza) che la mutagenesi letale causerà una maggiore diversità di sequenza all'interno della popolazione virale. Ciò ha sollevato la questione se l'introduzione intenzionale della diversità di sequenza accelererà l'evoluzione virale, con la preoccupazione specifica di essere mutanti di fuga di anticorpi che minerebbero gli sforzi per il vaccino. L'aggiunta di mutazioni casuali a una densità di 1 per 1000 basi del genoma virale è sufficiente per ridurre l'infettività della popolazione virale nell'intervallo di 100 volte, come mostrato per il poliovirus e SARS-CoV-2 da **Shuntai Zhou** del *Lineberger Comprehensive Cancer Center, University of North Carolina (Zhou S 2021)*

Il trattamento con **molnupiravir** riduce modestamente lo spargimento di RNA virale e riduce significativamente l'infettività di SARS-CoV-2 nei pazienti con COVID-19 ( *W. A. Fischer II et al., Sci. Transl. Med. 14, eabl7430 2021*)

Pertanto, durante il trattamento e l'eliminazione del virus di successo, il potenziale di evoluzione sembrerebbe minimo. Tuttavia, per le persone che non riescono a eliminare il virus e mantengono un'infezione persistente, rimane sconosciuto se il trattamento con **molnupiravir** influenzerà il corso dell'evoluzione virale. Allo stesso modo, i tentativi di trattare i pazienti con una combinazione di **molnupiravir** e l'**inibitore della proteasi SARS-CoV-2 nirmatrelvir** dovrebbero seguire attentamente qualsiasi modifica della sequenza all'interno del dominio di codifica della proteasi virale 3CL per valutare la potenziale evoluzione della resistenza.

#### **Cosa sarebbe opportuno fare:**

-Il trattamento dovrebbe essere limitato a coloro che ne trarranno maggiori benefici, come coloro che non possono tollerare altri trattamenti disponibili, coloro che hanno una condizione preesistente che aumenta il rischio di COVID-19 e coloro che hanno più di **50** anni di età e sarebbero meno colpiti da un potenziale rischio a lungo termine di cancro o rischi riproduttivi.

-Deve essere tenuto un **registro** di una coorte di persone che hanno ricevuto **molnupiravir** per monitorare longitudinalmente la frequenza del cancro e altri potenziali esiti in modo che l'opportunità di comprendere il rischio (o la sua mancanza) associato all'uso di un ribonucleoside mutageno come antivirale non siano perse.

-Le strategie per limitare il metabolismo degli analoghi mutageni dal pool di ribonucleotidi nel pool di 2'-deossiribonucleotidi dovrebbero essere esplorate per limitare il potenziale carico di mutazione del DNA nell'ospite.

-Inoltre, la diversità della popolazione virale dovrebbe essere valutata dopo il trattamento con **molnupiravir** in coloro che non riescono a eliminare il virus per vedere se il trattamento accelera l'evoluzione virale.

#### **Conclusione**

La *mutagenesi letale* ha indubbiamente il potenziale per essere un'importante strategia antivirale per i virus a RNA, specialmente nelle *infezioni emergenti* quando c'è un'assenza di antivirali specifici del virus. Il potenziale di questa strategia dovrebbe essere sfruttato, ma i possibili rischi dovrebbero essere riconosciuti e affrontati.

#### **Riferimenti:**

Zhou S et al. **S  $\beta$ -d-N4-hydroxycytidine Inhibits SARS-CoV-2 Through Lethal Mutagenesis But Is Also Mutagenic To Mammalian Cells.** J Infect Dis. 2021 Aug 2;224(3):415-419.

## **Un anno fa... Baedeker/Replay del 7 febbraio 2021**

*Variante Sudafricana: un pericolo per gli adolescenti?*

La variante «sudafricana» (20H/501Y.V2 o B.1351) E' segnalata all'inizio di ottobre ma molti indizi fanno pensare che circolasse già da agosto, Presenta ben 21 mutazioni tutte nell'area RBD . Ha suscitato un immediato clamore perché sembra colpire i giovani in maniera più aggressiva presentando una maggiore resistenza delle varianti alla neutralizzazione anticorpale.

La comparsa della variante sud africana ha posto il problema di come distanziare le due dosi dei vaccini Pfizer e Moderna per ottenere una induzione di titoli anticorpali elevati contro SARS-CoV2. Il posticipo della seconda vaccinazione è suggerito da alcune autorità sanitarie pubbliche al fine di fornire a più individui una vaccinazione primaria. I dati ottenuti analizzando in dettaglio la variante sudafricana suggeriscono che questo potrebbe lasciare i vaccinati meno protetti contro le nuove varianti emergenti (Vedi testo integrale)