

**2-Luglio**

## **I coronavirus stanno imparando a neutralizzare i farmaci antivirali**

*La rimozione è l'attività principale della vita.*

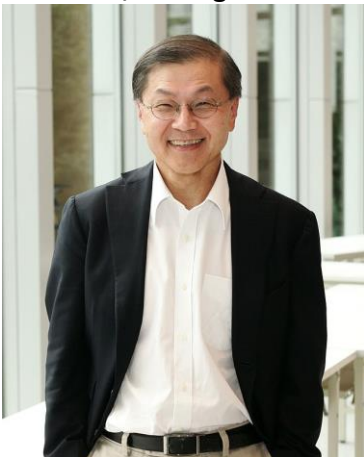
Georg Groddeck

Nell'ultimo mese, mentre le prescrizioni di **Paxlovid** aumentavano vertiginosamente, parallelamente comparivano sporadici *resoconti aneddotici*, non riportati dai media e cominciavano lentamente a comparire diversi studi che evidenziavano come una piccola percentuale di persone infette che seguivano il normale ciclo di 5 giorni di **Paxlovid** inizialmente si sentivano meglio per andare incontro nei giorni successivi ad un sostanziale peggioramento.

Si è così cominciato a realizzare che il coronavirus può mutare in modi che lo rendono meno suscettibile al trattamento con gli antivirali orali autorizzati per il trattamento del COVID-19 negli Stati Uniti.

Diversi ricercatori hanno trovato e segnalato alcune di queste mutazioni in varianti già circolanti nelle persone infette, sollevando nuove preoccupazioni sul fatto che potremmo perdere una delle migliori terapie per combattere il COVID-19.

**David Ho**, virologo della *Columbia University*



uno tra i primi a documentare le mutazioni della resistenza ai farmaci nell'HIV circa 3 decenni fa non è per nulla meravigliato *"quando si fa pressione sul virus, questo sfugge, Data la quantità di infezioni là fuori queste resistenze erano prevedibili"*

Sebbene le mutazioni appena identificate debbano ancora diffondersi, anche altri scienziati pensano che ormai sia solo una questione di tempo.

Non è un caso che all'inizio di questo mese **Pfizer** ha interrotto un ampio studio su **Paxlovid (PF-07321332)** in pazienti COVID-19 a rischio standard perché il trattamento **non mostrava una protezione statisticamente** significativa contro la morte o ricovero.

*Nello studio EPIC-SR su PAXLOVID™ nirmatrelvir [PF-07321332] compresse e ritonavir compresse non è stato raggiunto il nuovo endpoint primario dell'attenuazione sostenuta e auto-riferita di tutti i sintomi per quattro giorni consecutivi, come riportato in precedenza*

La **Food and Drug Administration (FDA)** statunitense ha concesso l'autorizzazione all'uso di emergenza per **Paxlovid** nel dicembre 2021. Il farmaco è costituito da **nirmatrelvir**, l'antivirale attivo, e **ritonavir**, un composto che rallenta la scissione del nirmatrelvir nel corpo.

### Vedi Badeker

3. Ottobre 21

Per soli 700 dollari Molnupiravir riduce il rischio di ospedalizzazione e di morire di COVID-10.

1. Novembre 21

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

13. Novembre 21

I nuovi scenari degli antivirali orali : ottimismo, precauzioni e molta prudenza Parte prima: gli inibitori delle proteasi

14. Novembre 21

I nuovi scenari degli antivirali orali : ottimismo, precauzioni e molta prudenza Parte seconda prima: inibitori virali della RNA polimerasi

25. Gennaio 22

*Molnupiravir: finalmente dei dati "rassicuranti"*

7. Febbraio 22

Molnupiravir una potenziale roulette russa?

A causa dei "colli di bottiglia" nella produzione del **nirmatrelvir**, il lancio di **Paxlovid** è stato lento: i medici negli Stati Uniti hanno emesso solo **40.000** o meno prescrizioni a settimana fino a metà aprile. Da allora, le prescrizioni sono aumentate fino ad oltre **160.000** a settimana, secondo gli ultimi numeri dei **Centers for Disease Control and Prevention**.

Tale aumento ha creato una *pressione selettiva* sul virus, favorendo le mutazioni che lo aiutano a sopravvivere in presenza del farmaco. E poiché ogni persona infetta produce trilioni di copie di SARS-CoV-2, il virus ha molte opportunità per testare diverse mutazioni mentre si replica.

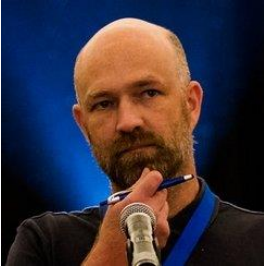
Finora, queste mutazioni **non sembrano aver interferito** con l'efficacia di **Paxlovid**. Il suo principale componente, **Nirmatrelvir**, impedisce alla **proteasi principale di SARS-CoV-2 (M PRO)** di tagliare una lunga *molecola precursore* prodotta dal virus in proteine attive più piccole, un passaggio essenziale nella riproduzione di SARS-CoV-2. [Vedi Badeker](#)

A febbraio, i ricercatori **Pfizer** hanno riferito in *JBC Accelerated Communications* che **nirmatrelvir** è rimasto efficace nell'arrestare l'attività di **M-PRO** in più varianti SARS-CoV-2, tra cui Alpha, Beta, Delta, Gamma, Lambda e Omicron, nonché il ceppo originale . (Greasley SE 2022)

Tuttavia, gli studi recenti suggeriscono che il virus è pronto a sviluppare resistenza, un destino che colpisce molti farmaci antivirali.

Due *preprint* pubblicati su **bioRxiv** il 7 giugno, ad esempio, mostrano che SARS-coV-2 coltivato in laboratorio acquisisce rapidamente la capacità di evitare l'attacco di **nirmatrelvir**. Due gruppi di ricerca hanno coltivato in modo indipendente il coronavirus con bassi livelli di **nirmatrelvir**, uccidendo alcuni ma non tutti i virus. Tali test hanno lo scopo di simulare ciò che potrebbe accadere in una persona infetta che non assume l'intero regime del farmaco o in un paziente immunocompromesso che ha difficoltà a eliminare il virus.

Uno di questi studi, guidato da **Dirk Jochmans**, virologo presso *KU Leuven in Belgio*,



ha scoperto che dopo 12 cicli di trattamento con **nirmatrelvir** Sars-cov-2 ha accumulato tre mutazioni, nelle posizioni 50, 166 e 167 nella stringa di aminoacidi che compongono **M PRO**, **che ha ridotto di 20 volte** la suscettibilità del virus al **nirmatrelvir**, come determinato dalla dose di farmaco richiesta per uccidere metà del virus in un campione.

*The substitutions L50F, E166A and L167F in SARS-CoV-2 3CLpro are selected by a protease inhibitor in vitro and confer resistance to nirmatrelvir*

L'altro studio, guidato da **Judith Margarete Gottwein**, immunologa dell'*Università di Copenaghen*,



ha anche individuato potenziali mutazioni che conferiscono resistenza alle posizioni 50 e 166 in **M PRO**. Quando queste mutazioni si sono verificate insieme, il virus era 80 volte meno suscettibile al **nirmatrelvir**. Questo dato ci dice quali mutazioni dovremmo cercare nei pazienti.

*Nirmatrelvir Resistant SARS-CoV-2 Variants with High Fitness in Vitro*

In effetti, alcune di queste mutazioni sono già presenti nelle persone infette da coronavirus, secondo il lavoro di **Adam Godzik**, esperto di bioinformatica presso *l'Università della California, Riverside*.



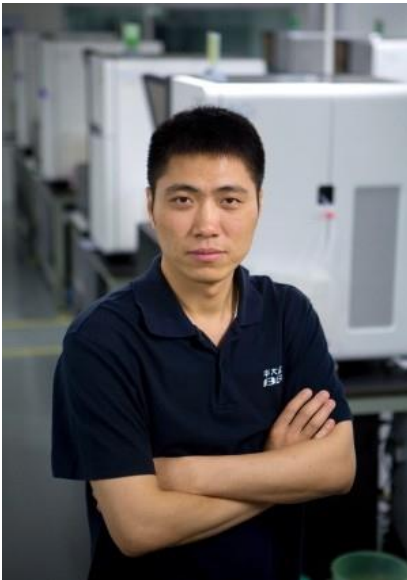
Godzik e i suoi colleghi hanno perlustrato il database GISAID, un catalogo di oltre 10 milioni di genomi SARS-CoV-2 sequenziati da virus isolati da individui infetti, alla ricerca di cambiamenti di amminoacidi in posizioni in **M PRO** vicino a dove si lega il [nirmatrelvir](#).

In un preprint bioRxiv pubblicato il 30 maggio, hanno riferito che le mutazioni degli amminoacidi 166 e 167, due delle mutazioni di resistenza segnalate dal gruppo belga erano già presenti nei virus circolanti nelle persone

*Monitoring for SARS-CoV-2 drug resistance mutations in broad viral populations*

Poiché queste mutazioni si sono verificate prima dell'uso diffuso di Paxlovid, è probabile che si siano verificate casualmente, afferma Godzik. Tuttavia, aggiunge, rivelano che l'enzima ha una certa flessibilità in queste posizioni che potrebbero aiutare il virus a aggirare il farmaco.

Intanto l'elenco delle potenziali mutazioni di resistenza continua a crescere. In un articolo pubblicato poche giorni fa su *bioRxiv*, [Jun Wang](#), della *Rutgers University*



riporta 66 mutazioni comuni a **M PRO** vicino al sito di legame del [nirmatrelvir](#).

*Naturally occurring mutations of SARS-CoV-2 main protease confer drug resistance to nirmatrelvir*

Come il [team di Godzik](#), hanno scansionato il **database GISAID** per trovare versioni alterate della proteasi, ma poi sono andati oltre. Aggiungendo il gene per ciascuna di queste varianti di **M PRO** ai batteri *Escherichia coli*, hanno creato forniture di enzimi per test aggiuntivi: in primo luogo per determinare se ciascuna variante svolgesse ancora i compiti essenziali di tagliare le proteine virali e in secondo luogo per determinare se le mutazioni consentivano **M PRO** di resistere al [nirmatrelvir](#).

Undici delle 66 varianti hanno mantenuto la **funzione della proteasi** (le altre l'hanno alterata) e cinque delle 11 erano resistenti al [nirmatrelvir](#), richiedendo un aumento di almeno 10 volte del farmaco per uccidere metà del virus nel campione. Una di queste varianti aveva una mutazione di resistenza già vista, alla posizione 166, ma le altre quattro avevano nuove soluzioni alternative alle posizioni 144, 165, 172 e 192. La conclusione di tutto questo lavoro, Wang dice: *“È solo una questione di tempo prima di vedere emergere la resistenza”*.

Allora, perché non è già successo? Una possibilità è che non abbastanza persone abbiano ancora preso Paxlovid per costringere il virus a mutare. Un'altra spiegazione, dice Wang, è che potrebbero essere necessarie più mutazioni in **M PRO** affinché il virus aggiri Paxlovid pur rimanendo completamente funzionante e facilmente trasmissibile.

Finora, aggiunge Aditya Shah, infettivologo della *Mayo Clinic*,



gli studi dimostrano che i pazienti che hanno un **rimbalzo dei sintomi**, che si verifica solo nel **2%** o meno di coloro che assumono il farmaco, il rimbalzo non sembra essere dovuto a mutazioni di resistenza. "È rassicurante", dice Shah, *ma non è una prova che il virus non troverà il modo di aggirare il farmaco.*

Pfizer afferma che il suo regime Paxlovid potrebbe prevenire la resistenza. I pazienti assumono il farmaco solo per un breve periodo e in genere ricevono una dose "molte volte superiore" a quella richiesta per impedire la replicazione del virus nelle cellule, riducendo così al minimo le possibilità che il virus muti.

Dare ai pazienti più antivirali potrebbe aiutare a prevenire la resistenza, rendendo più difficile l'evoluzione del virus intorno a diversi composti contemporaneamente, una strategia che si è dimostrata altamente efficace nel trattamento di altri virus, tra cui l'HIV e l'epatite C, dice Ho. Altri due antivirali SARS-CoV-2 sono autorizzati negli Stati Uniti, ma presentano degli svantaggi.

L'altro farmaco orale, **molnupiravir**, si è dimostrato notevolmente meno efficace del Paxlovid e ha sollevato problemi di sicurezza perché induce mutazioni genetiche casuali nel virus, che in genere ne impediscono la replicazione ma potrebbero anche generare nuove varianti pericolose .

Un preprint pubblicato ieri su bioRxiv *Combination therapy with nirmatrelvir and molnupiravir improves the survival of SARS-CoV-2 infected mice suggerisce che la combinazione molnupiravir e nirmatrelvir è più efficace* nella lotta contro le infezioni da SARS-CoV-2 rispetto a entrambi gli antivirali somministrati da soli, almeno nei topi. Ma la strategia deve ancora essere ampiamente adottata dai medici.

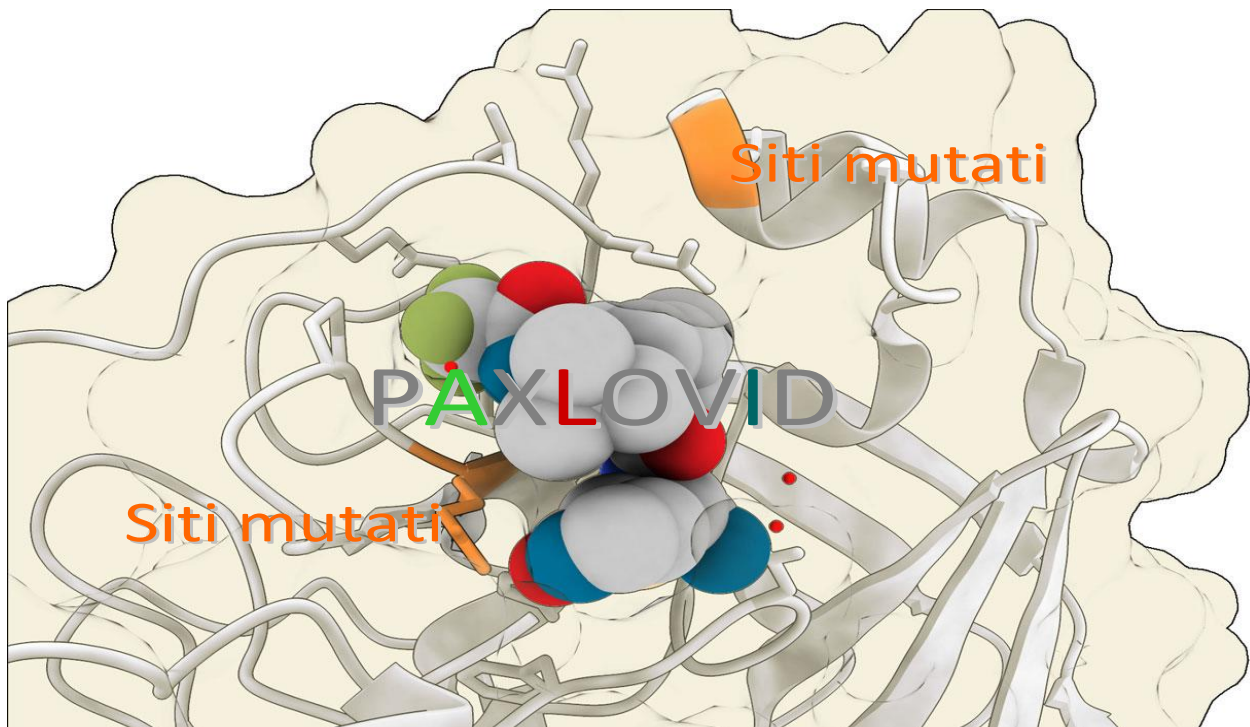
Nel frattempo, le aziende farmaceutiche stanno gareggiando per completare gli studi clinici su ulteriori antivirali SARS-CoV-2, alcuni mirati a **M PRO** in diversi siti. Ma quelli non sono ancora disponibili. E numerosi ricercatori, compresi i rappresentanti dell'organizzazione **no profit Drugs for Neglected Diseases Initiative**, si sono lamentati del fatto che Pfizer non abbia reso Paxlovid facilmente disponibile per la sperimentazione di terapie combinate

La società ha detto che stava pianificando di fare quegli studi da sola, anche se alcuni sono scettici.

Fino a quando non saranno disponibili più farmaci antivirali, Paxlovid rimarrà essenzialmente solo, sollevando il timore che prima o poi perderà il suo pugno. Se pressati da un singolo antivirale, i virus di solito trovano un modo per aggirare il farmaco e se può succedere, accadrà. Almeno secondo gli ultimi risultati di laboratorio, sta già accadendo.

### Riferimenti

-Greasley SE et al. **Structural basis for the in vitro efficacy of nirmatrelvir against SARS-CoV-2 variants.** J Biol Chem. 2022 Jun;298(6):101972.



Proteasi del CORONAVIRUS  
diversi siti (arancioni) possono mutare, rendendo il virus più resistente  
al principio attivo in Paxlovid.  
GRAFICO: V. ALTOUNIAN/ SCIENZA , DATI: BANCA DATI PROTEICA RCSB, ID 7U28

### Un anno fa... Baedeker/Replay del 2 luglio 2021

#### *La variante preoccupante*

“Continua a destare preoccupazione la variante inglese ...” E’ sicuramente la frase più detta dai media nelle ultime settimane e purtroppo, temo che sarà il “tormentone” dell’estate. La preoccupazione è l’interesse che paghiamo sui guai prima che essi arrivino; in pratica una preoccupazione è un cattivo uso che facciamo dell’immaginazione; basta per un attimo riflettere quante sofferenze ci sono costati, i mali che non sono mai accaduti.

L’ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) ha suddiviso le varianti del Covid19 in tre gruppi, osservate dal settembre 2020 a marzo 2021. VOC – Varianti che destano preoccupazione VOI – Varianti di interesse Varianti sotto monitoraggio Queste categorie sono state create sulla base della trasmissibilità, dell’immunità e della gravità dell’infezione. Una variante VOC (Variant of Concern ) secondo l’Organizzazione Mondiale della Sanità deve rispondere a tre requisiti:

- aumento della trasmissibilità o cambiamento dannoso nell’epidemiologia di COVID-19;
- incremento della virulenza o cambiamento nella presentazione clinica della malattia -diminuzione dell’efficacia della sanità pubblica e delle misure sociali o della diagnostica

Al momento le VOC riconosciute sono le seguenti: B.1.1.7, Regno Unito, settembre 2020 (ALFA) B.1.351, Sudafrica, settembre 2020 (BETA) B.1.1.7+E484K, Regno Unito, dicembre 2020 P.1, Brasile, dicembre 2020 (GAMMA) B.1.617.2, India, dicembre 2020 (DELTA) L'inevitabilità delle varianti L'evoluzione e le sue mutazioni naturali di SARS- 2, nell' obiettivo di adattamento alla specie umana, ha determinato la comparsa di molteplici varianti genetiche (deriva antigenica).

La maggior parte di esse non comporta grandi cambiamenti nelle proprietà biologiche del virus. Tuttavia, alcune comportano un aumento significativo della loro trasmissione e infettività e, in misura minore, della letalità appunto le varianti preoccupanti L'inizio della vaccinazione di massa della popolazione ha aumentato la preoccupazione per il possibile impatto di queste varianti sull'efficacia dei diversi vaccini. Poiché la maggior parte di queste varianti presenta mutazioni molto specifiche che colpiscono gli amminoacidi della zona di legame al recettore della cellula per il virus ( dominio di legame al recettore RBD) e che i vaccini, in generale, inducono un'ampia risposta su tutti gli epitopi della proteina S, si potrebbe inizialmente pensare che il loro impatto non dovrebbe essere troppo significativo. Oltre a questa naturale evoluzione del SARS-2, l'avvio di massicci programmi di vaccinazione ha determinato un aumento della pressione selettiva che ha portato ad una neutralizzazione anticorpale nelle persone che potrebbero facilitare la comparsa di mutanti di fuga.

Questi mutanti si verificano quando gli anticorpi di una persona vaccinata limitano, ma non eliminano, la replicazione virale. Sebbene queste persone non sviluppino la malattia, l'infezione di cui soffrono consente di selezionare quelle popolazioni virali non eliminate dal sistema immunitario umorale, in modo che diventino dominanti e si trasmettano ad altre persone, sfuggendo alla risposta immunitaria vaccinale Questi mutanti di fuga si uniranno ai mutanti naturali derivanti dall'evoluzione virale e determinano un cambiamento nelle popolazioni virali trasmissibili, che potrebbe forzare cambiamenti periodici nella composizione dei vaccini contro SARS-CoV-2, come avviene con l'influenza

Attualmente circolano migliaia di varianti di SARS-2. La velocità e l'intensità della diffusione di alcune di esse si spiegano più che dalle loro differenze genetiche, dalle abitudini della popolazione e dall'efficacia delle politiche di sorveglianza epidemiologica adottate Sebbene le limitazioni ai viaggi internazionali abbiano reso difficile la diffusione di alcune varianti in tutto il mondo, hanno tuttavia contribuito a facilitare la comparsa di varianti dominanti in ciascun paese Il rischio causato dall'emergere di singole varianti potrebbe essere potenzialmente contenuto dalle risposte anticorpali policlonali provocate dall'infezione naturale, dalla vaccinazione o dall'uso di combinazioni di anticorpi monoclonali negli interventi terapeutici. Tuttavia, il problema principale risiede nell'emergere di nuove varianti SARS-CoV-2 che presentano un accumulo di mutazioni in diversi domini Spike, creando ceppi divergenti in grado di eludere le risposte policlonali. Ad oggi, sono state identificate oltre 4.150 mutazioni nel gene S di SARS-CoV-2 isolato dall'uomo Queste mutazioni danno luogo a 1.246 cambiamenti di aminoacidi, incluse 187 sostituzioni nel RBD. L'abbondanza di molte varianti nella popolazione umana suggerisce che non sono accompagnate da una perdita della resilienza virale In particolare il lignaggio B.1.1.7 (noto anche come 501Y.V1 o VOC202012/01), emerso per la prima volta nel Regno Unito e ora diffuso in tutto il mondo. Altre varianti di interesse includono il ceppo B.1.351 (501Y.V2) e il ceppo P.1 (501Y.V3), che sono stati identificati per la prima volta in Sud Africa e Brasile, rispettivamente.

Queste varianti hanno accumulato almeno 9 mutazioni/delezioni non sinonime in tutta la regione codificante Spike. Sono state trovate mutazioni selezionate nell'RBM (fino a tre mutazioni), inclusa la mutazione E484K, identificata in vitro . In queste varianti, modifiche RBM sono spesso accompagnate con numerose sostituzioni e / o delezioni nella regione NTD (fino a sette), dimostrando un particolare in vivo una pressione selettiva su questo sito. Almeno una mutazione è stata trovata anche nella subunità S2 per tutti e tre i nuovi lignaggi, confermando la maggiore pressione immunitaria sotto la quale si evolve la proteina Spike. Ulteriori varianti sono attualmente sotto esame a causa della presenza di mutazioni chiave nell'RBM, tra cui la variante 20A.EU2 (S477N), la variante CAL.20C (L452R) e il gruppo di vironi danesi 5 (Y453F).

E' urgente è indispensabile durante questa estate (a ottobre sarà già tardi) predisporre una rete nazionale per il monitoraggio delle varianti attraverso il sequenziamento sul modello britannico del

**Genomics UK Consortium (COG-UK) fondamentale per contenere l'arrivo di nuove "varianti preoccupanti (Voc)".**

Che fare nel mondo reale per non farci travolgere dalle continue preoccupazioni pandemiche? Epitteto, lo schiavo prestato alla filosofia, riteneva che Vi è solo una strada verso la felicità, ed è smettere di preoccuparsi per cose che sono al di fuori del controllo della nostra volontà. Lo stile di vita ed i comportamenti da tenere durante una pandemia sono le migliore espressione della nostra volontà. Tutto è apparentemente semplice: Se c'è una soluzione perché ti preoccupi? Se non c'è una soluzione perché ti preoccupi? Potrei concludere serenamente questa riflessione sulle varianti preoccupanti con l'abusato proverbio cinese che gli uccelli dell'ansia e della preoccupazione volino sulla tua testa, non puoi impedirlo; ma puoi evitare che vi costruiscano un nido. Purtroppo non è da tutti placare le preoccupazioni, anche quando non esistono: non potete sapere la preoccupazione di noi ipocondriaci quando ci svegliamo senza sintomi.

**(per continuare vai all'originale)**