

بحث علمي أَعَدَّ لنيل درجة الإجازة في الصيدلة والكيمياء الصيدلانية

بعنوان

Neuropilin as a potential target for COVID19 treatment

النوروبيلين كهدف كامن في علاج COVID19

بإشراف الدكتور

باسم بطاح

إعداد الطالبة

نسرين مصطفى المعلم رنيم محمد أسامة رجلة

علا محمد سمير قويدر مرح عماد أبو هاييلة

أمينه محمد رجب

العام الدراسي

2021-2020 م

فهرس المحتويات

.....5.....	1.المقدمة
.....6.....	2. الوبائيات وانتقال الفيروس
.....10.....	3. تضاعف الفيروس والآلية الإمراضية Coronavirus replication and pathogenesis
.....11.....	4. النوروبيلينات و أدوارها المختلفة Neuropilins
.....11.....	4.1 دور neuropillin في النقائل الورمية metastasis
.....12.....	4.1.1 سرطان الثدي
.....13.....	4.1.2 سرطان القولون
.....13.....	4.1.3 سرطان البروستات
.....13.....	4.1.4 الميلانوما
.....14.....	4.2 التطبيقات العلاجية
.....15.....	4.3 دور النوروبيلين-1 Neuropilin-1 في كوفيد 19
.....18.....	4.3.1 التعبير والوظيفة الوعائية
.....20.....	4.3.2 دور النوروبيلين NRP-1 في المناعة
.....22.....	4.3.3 التعبير والوظيفة العصبية
.....23.....	4.3.4 إستهداف النوروبيلين للحد من عدوى COVID19 :
.....34.....	5. الخاتمة
.....36.....	6. المراجع

فهرس الأشكال

رقم الصفحة	الشكل
8	الشكل رقم (1): العوامل المؤثرة على إمراضية فيروس SARS-CoV-2.
25	الشكل (2): تأثير الأضداد الحاجبة للنوروبيلين
26	الشكل (3): البروتينات المساهمة في تسهيل إصابة الخلايا بفيروس SARS-CoV-2
29	الشكل (4): تأثير تثبيط المستقبلات على الإصابة بـ SARS-COV-2
30	الشكل (5): الأحماض الأمينية المكونة لمناطق ارتباط الفيروس بالخلية.
32	الشكل (6): البنية الجزيئية لـ NRP1.

الملخص

يسبب فيروس كورونا الجديد (SARS-CoV-2) مرضاً تنفسياً حاداً، حيث انتشر مرض الفيروس التاجي 2019 (COVID-19) في جميع أنحاء الصين وحظي باهتمام عالمي، وفي 30 كانون الثاني/يناير 2020، أعلنت منظمة الصحة العالمية رسمياً أن وباء "كوفيد-19" هو حالة طوارئ صحية تثير قلقاً دولياً.

تم مؤخراً إظهار أن النوروبيلين-1 (NRP-1) Neuropilin-1 (وهو عضو في عائلة من البروتينات التحفيزية وبروتينات التأشير)، يعمل كعامل مساعد لدخول فيروس سارس كورونا 2 (SARS-cov2) و يزيد من شدة العدوى بفيروس سارس كورونا 2 (SARS-CoV-2) في المختبر.

يزدهر اليوم تطوير اللقاحات والأدوية لمواجهة الوباء الناجم عن SARS-CoV-2 في جميع أنحاء العالم ، تقريباً بعد عام واحد من بدء العمل الأول ضد COVID-19 ، حتى الآن لا يوجد علاج يظهر ميزة علاجية، مما يدل على الحاجة إلى تطوير أدوية موجهة إلى هدف انتقائي يمكن أن تغير من تطور هذا المرض.

يمكن أن يرجع السبب في استخدام عدد من الفيروسات للنوروبيلينات كعوامل دخول للخلية إلى تعبيرها العالي على الظ هارة التي تواجه البيئة الخارجية ، ووظيفتها في تمكين اختراق الخ لايا والأوعية الدموية والأنسجة، بناءً على هذه الفرضية فإن تحديد NRP1 كوسيط خلوي قد يعزز دخول SARS-CoV-2 في الخلايا المصابة يوفر هدفاً علاجياً جديداً مضاداً للفيروسات ضد COVID-19 .

ونظراً لوجوده ودوره على نطاق واسع في تكوين الأورام، فقد كان NRP-1 هدفاً للأدوية المضادة للأورام ، حيث يؤدي تثبيط NRP-1 المستند إلى الببتيد إلى تثبيط تكوّن الأوعية الدموية ، وتثبيط تكاثر الخلايا السرطانية وهجرتها .

1. المقدمة

- يسبب فيروس كورونا الجديد (SARS-CoV-2) المعروف باسم nCoV-2019 مرض تنفسي حاد، حيث انتشر مرض الفيروس التاجي 2019 (COVID-19) في جميع أنحاء الصين وحظي باهتمام عالمي، وفي 30 كانون الثاني/يناير 2020، أعلنت منظمة الصحة العالمية رسمياً أن وباء "كوفيد-19" هو حالة طوارئ صحية عمومية تثير قلقاً دولياً.
- وكان ظهور فيروس المتلازمة الرئوية الحادة الجديدة (SARS-CoV-2)، لاحقاً لظهور الفيروس التاجي للمتلازمة التنفسية الحادة (SARS-CoV) في عام 2002 وفيروس كورونا المسبب لمتلازمة الشرق الأوسط التنفسية (MERS) في عام 2012، بمثابة ثالث ظهور لفيروس كورونا الوبائي الشديد الأمراض وواسع النطاق في عدد السكان في القرن الحادي والعشرين.
- وفي 1 آذار/مارس 2020، بلغ مجموع الحالات المؤكدة على الصعيد العالمي 87137 حالة،
- و96879 حالة مؤكدة في الصين و7169 حالة خارج الصين، مع 2977 حالة وفاة (3.4 في المائة) وقد أبلغت منظمة الصحة العالمية عن ذلك.
- ومن ناحية أخرى، حددت عدة مجموعات بحثية مستقلة أن السارس - 2 ينتمي إلى فيروس كورونا، مع جينوم متطابق للغاية لفيروس كورونا الخفافيش، مشيرة إلى الخفافيش باعتبارها المضيف الطبيعي، يستخدم الفيروس التاجي الجديد نفس مستقبلات الأنزيم المحول للأنجيوتنسين ACE2 receptor، وينتشر بشكل رئيسي عبر الجهاز التنفسي.
- والأهم من ذلك أن الأدلة التي تتزايد أظهرت استمرار انتقال العدوى بين البشر.
- أظهر المرضى المصابين بالفايروس الجديد nCOVID-19 أعراضاً تشمل الحمى والسعال والتعب وظهر عند عدد قليل من المرضى أعراض العدوى المعدية المعوية، كبار السن والأشخاص الذين يعانون

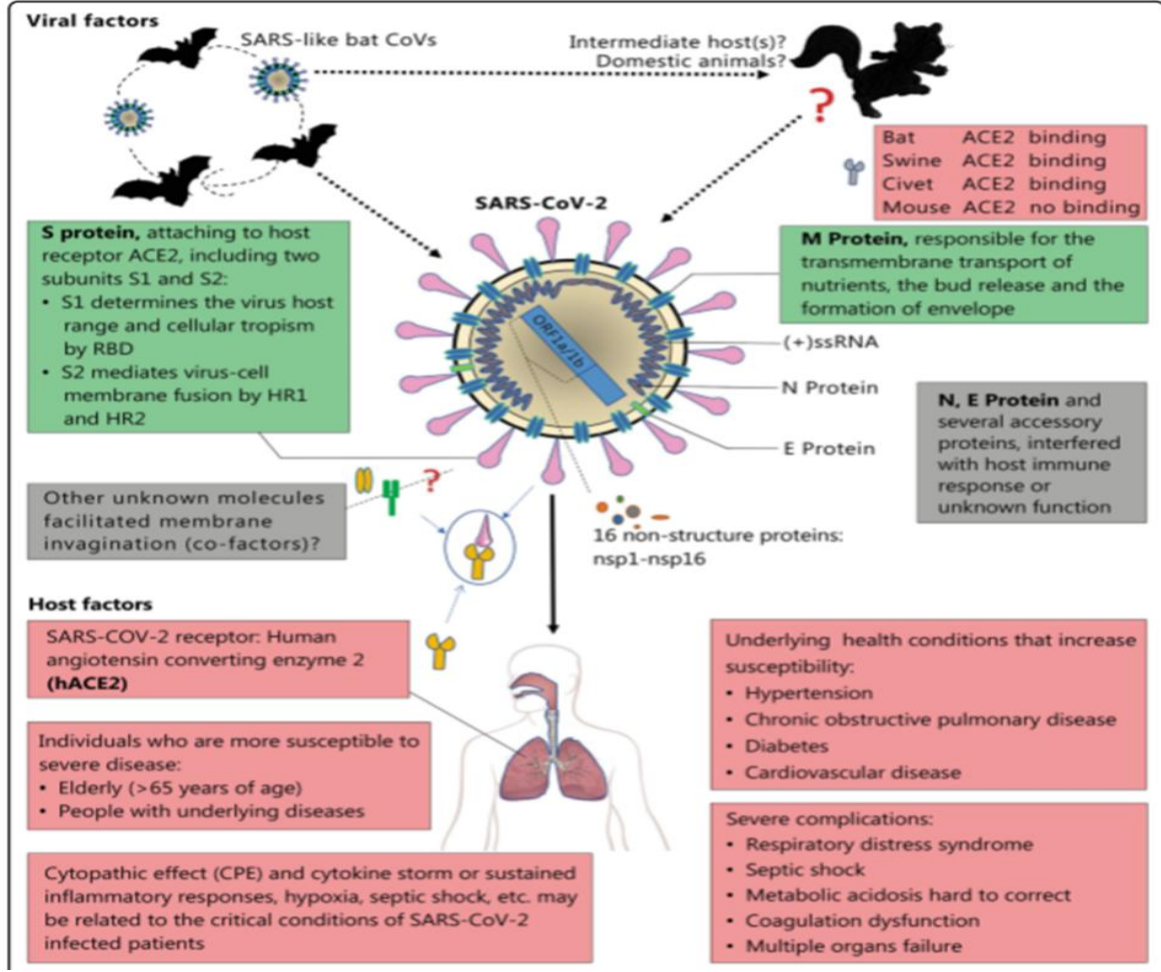
من الأمراض الكامنة عرضة للعدوى وعرضة للمضاعفات الخطيرة، والتي قد تكون مرتبطة مع متلازمة الضائقة التنفسية الحادة.

- وفي الوقت الراهن، هناك عدد قليل من الاستراتيجيات المحددة المضادة للفيروسات، في هذا الاستعراض، لخصنا آخر التطورات في مجال البحوث في علم الأوبئة، والأمراض، والخصائص السريرية لـ COVID-19، وناقشنا العلاج الحالي والتقدم العلمي لمكافحة الفيروس التاجي الوبائي.¹

2. الوبائيات وانتقال الفيروس

- تفشى وباء عدوى الجهاز التنفسي الحادة غير المعروفة أولاً في ووهان الصين، منذ 12 ديسمبر 2019، وربما يتعلق بسوق المأكولات البحرية.
- اقترحت العديد من الدراسات أن الخفافيش قد تكون المضيف المحتمل SARS-CoV-2 ، ومع ذلك، لا يوجد دليل حتى الآن على أن أصل فيروس SARS-CoV-2 كان من سوق المأكولات البحرية.
- ومع ذلك وحتى الآن الخفافيش هي المضيف الطبيعي للفيروس، تعتبر الخفافيش المستودع الطبيعي لمجموعة متنوعة من الفيروسات، بما في ذلك الفيروسات الشبيهة بـ SARS-CoV والفيروسات الشبيهة بـ MERS-CoV.
- بناءً على تسلسل جينوم الفيروس ، تم تحليل COVID-19 في جميع أنحاء جينوم الـ Bat CoV RaTG13 وأظهر هوية تسلسل الجينوم الكلي بنسبة 96.2 %، مما يشير إلى أن Bat CoV و SARS-CoV-2 البشري قد يشتركان في نفس السلف.
- إلى جانب ذلك، أظهر محاذاة تسلسل البروتين وتحليل النشوء والتطور أن بقايا متشابهة للمستقبلات قد لوحظت في العديد من الأنواع، والتي وفرت إمكانية أكبر لمضيف وسيط بديل، مثل السلاحف.

- يحدث انتقال SARS-CoV-2 من إنسان لآخر بشكل رئيسي بين أفراد الأسرة، بما في ذلك الأقارب والأصدقاء الذين اتصلوا بشكل وثيق بالمرضى أو حاملتي الحضانة.
- يُذكر أنّ 31.3% من المرضى سافروا مؤخراً إلى ووهان و 72.3% من المرضى الذين تواصلوا مع أشخاص من ووهان من بين المرضى من غير المقيمين في ووهان.
- حدث الانتقال بين العاملين في مجال الرعاية الصحية في 3.8% من مرضى COVID-19، الصادر عن لجنة الصحة الوطنية في الصين في 14 فبراير 2020.
- على النقيض من ذلك، تم الإبلاغ عن انتقال فيروس SARS-CoV و MERS-CoV بشكل أساسي من خلال عدوى المستشفيات.
- كانت عدوى العاملين في مجال الرعاية الصحية في 33-42% من حالات السارس والانتقال بين المرضى (62-79%) أكثر الطرق شيوعاً للعدوى في حالات فيروس كورونا المسبب لمتلازمة الشرق الأوسط التنفسية.
- يشتهر في أن الاتصال المباشر مع الحيوانات المضيفة الوسيطة أو استهلاك الحيوانات البرية هو الطريق الرئيسي لانتقال SARS-CoV-2 ومع ذلك، لا يزال مصدر (مصادر) وروتين (إجراءات) العدوى لـ SARS-CoV-2 بعيد المنال كما هو مبين بالشكل رقم (1).²



الشكل رقم (1): العوامل المؤثرة على إمرضية فيروس SARS-CoV-2.

لـ يظهر العوامل التي تتعلق بالفيروس والعوامل التي تتعلق بالمضيف التي تؤثر على إمرضية الفيروس السارس (CoV-2) تعد الخفافيش مستودعاً لمجموعة واسعة من فيروسات كورونا، بما في ذلك الفيروسات الشبيهة بفيروس SARS- كورونا المتلازمة التنفسية الحادة الوخيمة (SARS-CoV) قد ينشأ فيروس SARS-CoV-2 من الخفافيش أو مضيفات وسيطة غير معروفة ويعبر حاجز الأنواع إلى البشر . التداخل مابين المضيف و الفيروس يؤثر على الدخول الفيروسي والتكاثر.

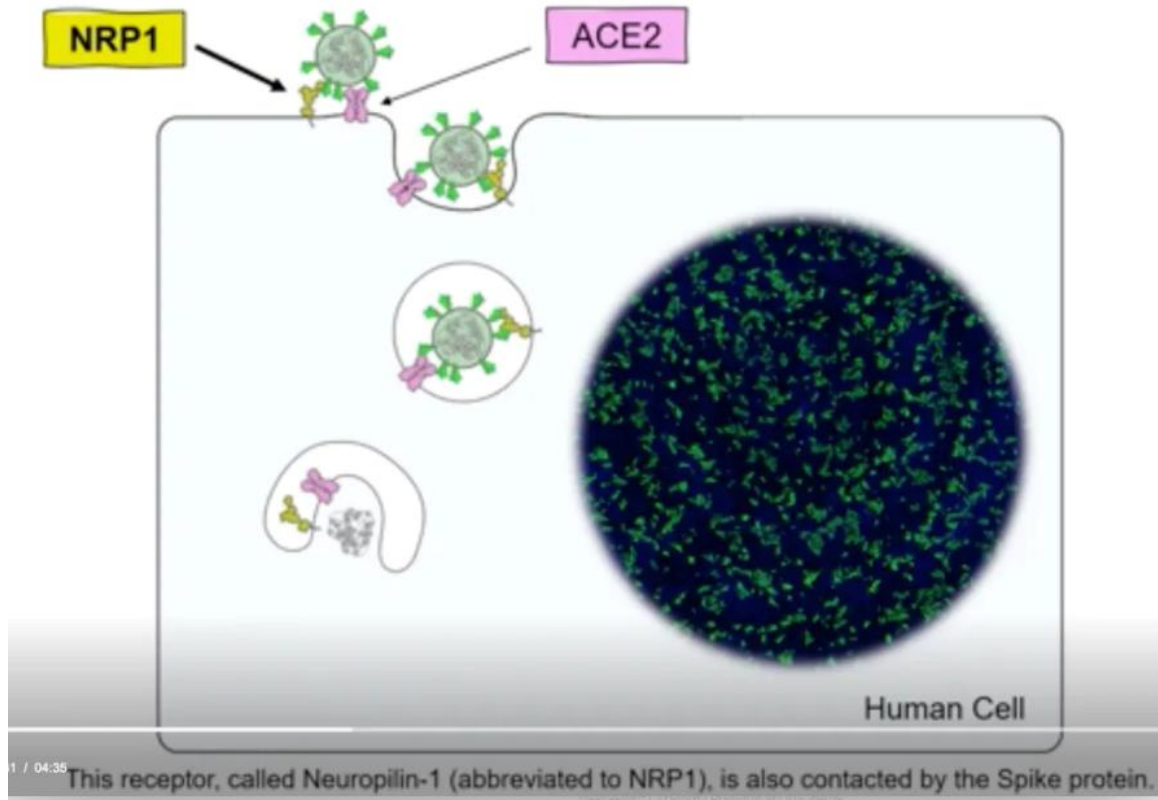
لـ يظهر الشكل فيروس SARS-CoV-2 هو فيروس ssRNA يقوم ثلثا الحمض النووي الريبي الفيروسي بتشفير 16 بروتيناً غير هيكلية (NSP) يشفر الجزء المتبقي من جينوم الفيروس أربعة بروتينات هيكلية أساسية، بما في ذلك بروتين سكري سبايك (S) ، وبروتين مغلف صغير (E) ، وبروتين مصفوفة (M) ، وبروتين نوكليوكاسيد (N) ، وكذلك العديد من

البروتينات الملحقة. يرتبط البروتين السكري لـ SARS-CoV-2 بمستقبلات الخلايا المضيفة، الإنزيم المحول للأنجيوتنسين

2 (ACE2) ، وهذه خطوة حاسمة لدخول الفيروس كما قد تساهم بروتينات فيروسية أخرى في التسبب في المرض.

يمكن أن تؤثر عوامل المضيف (اللوحة السفلية) أيضاً على قابلية الإصابة بالعدوى وتطور المرض . فمثلاً كبار السن والأشخاص المصابون بمرض أساسي معرضون للإصابة بـ SARS-CoV-2 ويميلون إلى التطور إلى حالات حرجية.

يستخدم الفيروس نوعين من المستقبلات للدخول إلى داخل الخلية و التي يتم التعرف عليها من قبل البروتين الشوكي spike protein الموجود على سطح الفيروس و هي مستقبلات ACE2 و NRP1 كما هو موضح في الشكل (2).



الشكل رقم (2): يوضح الشكل نوعين من المستقبلات (ACE2 و NRP1) التي يتم التعرف عليها من قبل
قبل البروتين الشوكي spike protein لفيروس covid19 و التي تلعب دورا أساسيا في دخول الفيروس
لداخل الخلايا

3. تضاعف الفيروس والآلية الإمراضية Coronavirus replication and pathogenesis

- وُجدت مستقبلات الـ ACE 2 في الجهاز التنفسي السفلي عند البشر وعُرفت بمستقبلات SARS - COV وتم التأكيد على أنّ SARS cov-2 يستخدم نفس مستقبلات SARS-cov.
- S-GLYCOPROTIEN الموجود على سطح فيروس كورونا يرتبط بمستقبلات الـ ACE 2 الموجود على سطح الخلايا البشرية وله وحدتين S1, S2 .
✓ S1: يحدد نطاق مضيف الفيروس.
- ✓ S2: يتوسط عملية اندماج غشاء الفيروس مع غشاء الخلية وبعدها يتم تحرير الحمض النووي الريبي الفيروسي في السيتوبلازما، ويترجم الـ RNA إثنين من الـ polyprotein هي pp1a و pp1ab اللذين يشفران البروتينات غير البنوية ويشكل معقد النسخ المتماثل الـ RTC الذي يستمر بتكرار وتوليف مجموعة متداخلة من الـ RNA sub genomic التي ترمز البروتينات البنوية.
- الحمض النووي المتشكل و glycoprotein المغلف والبروتينات النيكليوكابسيدية جميعها تشكل الجزيئات الفيروسية.³

4. النوروبيلينات و أدوارها المختلفة Neuropilins

النوروبيلين هو مستقبل بروتيني فعال في الأعصاب حيث ينظم تخلق النسيج العصبي neurogenesis كما أنه ضروري لتفعيل مستقبلات عامل النمو البطاني الوعائي vascular endothelial growth factor (VEGF) حيث ينظم تولد الأوعية angiogenesis , يوجد نوعين من النوروبيلينات neuropilin 1 و neuropilin 2 , على سبيل المثال : يرتبط VEGF-A ب neuropilin 1 بالإضافة إلى VEGFR2 أو VEGF1 ليؤثر عبر هذه المستقبلات ز بشكل مماثل يسهل Neuropilin 2 عملية نقل الإشارة عبر مستقبلات VEGFR 3⁸.

4.1 دور neuropillin في النقائل الورمية metastasis

تعتبر النقائل (التي تستخدم عادة الطرق للمفاوية) مسؤولة عن الكثير من الوفيات المرتبطة بالسرطان.

يقوم المستقبل المساعد لعامل النمو البطاني الوعائي VEGF-C coreceptor (والذي يدعى بالنوروبيلين-2 (Nrp2) neuropilin-2) بتنظيم تكوين الأوعية للمفاوية، وأهميته بالنسبة للنقائل غير معروفة.

يقوم الجسم المضاد لـ Nrp2 الذي يمنع ارتباط VEGF-C بتنشيط هجرة الخلايا البطانية للمفاوية التي يسببها VEGFC بشكل مستقل جزئياً عن تنشيط مستقبل VEGF ولكنه لا يوقف التكاثر، وهو لا يؤثر على الأوعية للمفاوية الموجودة في الفئران العادية، ولكنه يقلل من تكون الأوعية للمفاوية الورمية، والأهم من ذلك الأوعية اللمفاوية الوظيفية المرتبطة بالأورام، كما أنه يقلل من النقائل للعقد للمفاوية والأعضاء البعيدة، على ما يبدو عن طريق تأخير هجرة الخلايا السرطانية من الورم الأساسي.

سعت عدد من التجارب إلى توضيح الدور الوظيفي للنوروبيلينات على الخلايا السرطانية، وتم نشر نتائج الدراسات المخبرية على سرطان الثدي والبنكرياس والقولون والبروستات وسرطان الجلد.⁸

4.1.1 سرطان الثدي

أشارت العديد من الدراسات التي أجريت على خطوط خلايا سرطان الثدي البشرية إلى تورط NRP-1 في جوانب مختلفة من نمو وبقاء وهجرة و انتقال هذه الخلايا الورمية ، وفي نماذج سرطان الثدي؛ تعرض خط خلايا سرطان الثدي (MDA-MB-231) ، المعبر عن NRP-1 ، والذي يفتقر إلى VEGFR-2 ، حيث تم تعريضه إلى شكلين من الأشكال الإسوية من VEGF (VEGF-165) ، الذي يرتبط بـ NRP-1 ، و VEGF-121 ، الذي لا يرتبط به؛ المرجع 61). لقد قام VEGF-165 بتنشيط موت الخلايا المبرمج، في حين أن VEGF-121 لم يفعل ذلك ، مما يشير إلى أن VEGF يوفر إشارة بقيا لهذه الخلايا وأن الإشارة يتم نقلها من خلال NRP-1.

أظهرت تجارب أخرى مع هذا الخط الخلوي أن التعبير عن NRP-1 يحمي أيضًا الخلايا من موت الخلايا المبرمج الناجم عن نقص الأكسجة، يأتي الدليل الإضافي على دور NRP-1 في الحماية التي يسببها VEGF من موت الخلايا المبرمج من دراسة استخدمت ببتيديًا مرتبطًا مضادًا لـ NRP-1 والذي تسبب في موت الخلايا المبرمج عند إضافته إلى خلايا MDA-MB-231.^{9,10}

4.1.2 سرطان القولون

وجد في الدراسات قبل السريرية أن NRP-1 يلعب دوراً في نمو وحدوث نقائل لسرطان القولون، حيث أنتج الخط الخلوي لسرطان القولون البشري (KM12SM / LM2) الذي تم تعداؤه transfected بواسطة NRP-1 والذي تم حقنه في الفئران العارية أوراماً ذات كتلة وحجم أكبر وعدد أكثر من الأوعية مقارنة بنفس الخط الخلوي الشاهد.

4.1.3 سرطان البروستات

قد يلعب NRP-1 دوراً في تعزيز تكوين الأوعية الدموية للورم ونمو الورم في سرطان البروستات، فعندما تم هندسة خلايا سرطان البروستات في الفئران ل تعبر عن مستويات عالية من NRP-1 ؛ زاد نمو الورم في الجسم الحي 2.5 ضعف إلى 7 أضعاف وكانت الأورام أكثر توعية بشكل ملحوظ (أي 3 إلى 4 أضعاف عدد الأوعية الدموية؛ المرجع 99)، وبالإضافة إلى ذلك ، أظهرت الأورام التي تم تحفيزها للتعبير عن NRP-1 عدداً قليلاً جداً من الأورام المتموتة أو الخلايا البطانية المتموتة مقارنة بالشواهد.

قد يتواسط حدوث هذه التأثيرات ارتباط VEGF حيث أظهرت أقسام من الأورام التي تعبر عن NRP-1 زيادة ملحوظة في التعبير عن VEGF بالنسبة للأورام التي لا تعبر عن NRP-1.

4.1.4 الميلانوما

قد تقلل السيمافورينات semaphorins من نمو الورم والنقائل، حيث لوحظت التأثيرات المضادة للورم المباشر بالإضافة إلى التأثيرات المضادة لتكوين الأوعية ل SEMA3F عن طريق الارتباط ب NRP-2 في دراسة تجريبية الموصوفة سابقاً، وعندما تم حقن خلايا A375SM (المنقولة ب SEMA3F) تحت الجلد في الفئران، كان للأورام الناتجة مناطق من الموت الخلوي المبرمج والخلايا غير المنقسمة بالإضافة إلى

انخفاض عدد الأوعية، والأهم من ذلك أن هذه الأورام لم تنتشر سواء بشكل عفوي أو تجريبي عندما تم حقن الخلايا السرطانية في وريد الذيل.

4.2 التطبيقات العلاجية

إن مجموعة الأدلة المتزايدة التي تدعم الدور الكبير والمستقل للنوروبيلينات في السرطان تفتح إمكانية استخدام العلاجات المضادة للأورام التي تستهدف هذه المستقبلات.

تتضمن الخيارات العلاجية المحتملة ولكن غير المثبتة لاستهداف النوروبيلينات كلاً من:

(أ) حصر إرسال الإشارات عن طريق تثبيط ارتباط الرابطة بالعوامل المحفزة (على سبيل المثال، بيفاسيزوماب bevacizumab، وهو جسم مضاد أحادي النسيلة لـ VEGF)

(ب) حصر إرسال الإشارات عن طريق زيادة ارتباط الرابطة بالعوامل المثبطة (على سبيل المثال، SEMA3A)

(ج) الحصار المباشر لنشاط النوروبيلين بالأجسام المضادة أو تداخل الحمض النووي الريبي SiRNA الذي يعمل على كبح التعبير الجيني .

تم أيضاً عرض انخفاض نشاط النوروبيلين مع عدد قليل من العوامل ذات آليات عمل متنوعة، ففي الخلايا البطانية للحبل السري للإنسان؛ تمنع مثبطات هيستون دي أستيلاز (trichostatin-A و suberoylanilide hydroxamic acid) التعبير عن NRP-1 المحفز بـ VEGF.

أدى تعريض خلايا سرطان الثدي البشرية والفأرية إلى بقاء موت الخلايا المبرمج عن طريق حصار NRP-1 ، مما أدى إلى تثبيط ارتباط VEGF وتثبيط نشاطه المضاد لاستموات لخلايا.⁸

4.3. دور النوروبيلين-1 Neuropilin-1 في كوفيد 19

تم مؤخرًا إظهار أن النوروبيلين-1 (NRP-1) Neuropilin-1 (وهو عضو في عائلة من البروتينات التحفيزية وبروتينات التأشير)، يعمل كعامل مساعد لدخول فيروس سارس كورونا 2 (SARS-cov2) و يزيد من شدة العدوى بفيروس سارس كورونا 2 (SARS-CoV-2) في المختبر

يعرف NRP-1 ال على نطاق واسع بدوره في الإشارات الخلوية ووظيفته كمستقبل على سطح الخلية، توجد النوروبيلينات Neuropilins في الفقاريات ، وحتى الآن، تم التعرف جزئيًا أو كليًا على مشابهاة لـ NRP في أسماك الزبيرا والضفادع والصيصان والفئران والجرذان والبشر، مع اختلاف أنماط التعبير عبر الأنواع.

يوجد NRP-1 بشكلين إيسويين isofoms: شكل مقطّع ومفرز وشكل عابر للغشاء يتفاعل مع-SARS-CoV-2.

من المعروف أن الشكل المفرز من NRP-1 (sNRP-1) يثبط وظيفة NRP-1 المرتبطة بالخلايا في سرطان عنق الرحم، مع وجود مستويات مصلية من sNRP-1 في المرضى المصابين بسرطان عنق الرحم أعلى بكثير من تلك الموجودة في حالات الشاهد.

إن تثبيط الـ NRP-1 أو المعالجة المسبقة لفيروس إبشتاين بار (EBV) باستخدام NRP-1 المنحل يثبط عدوى EBV للخلايا الظهارية الأنفية البلعومية البشرية، بينما التنظيم الصاعد لـ upregulation NRP-1 عن طريق الإفراط في التعبير عنه يزيد من حدوث العدوى بإبشتاين بار.

يحتوي الشكل العابر للغشاء من NRP-1 أيضاً على موقع ربط للربطة ligand ، والتي ترتبط عادةً بعوامل النمو مثل عامل النمو البطاني الوعائي (VEGF) ، ولكن يتم إشغاله الآن بواسطة فيروسات مثل إبشتاين بار EBV، والفيروس اللمفاوي للخلايا التائية البشرية 1 (HTLV-1) ، و SARS-CoV-2

عند الخمج، يتم شطر بروتين شوكة الـ SARS-CoV-2 الذي يرمز بـ S بواسطة بروتياز الخلية المضيفة (الفورين) إلى البولي ببتيدات S1 و S2، وبالتالي مظهراً النهاية C (CendR) في S1، تم تسمية هذا النموذج باسم " القاعدة الطرفية للنهاية C "، والتي هي شرط وجود حمض أميني كاتيوني (عادةً أرجينين) عند النهاية الكربوكسيلية للربطة، مما ينتج عنه تكوين RXXR.

يقع جيب ربط مستقبل النهاية C CendR ضمن المجال b1 لـ NRP-1 .

أظهر دالي وزملاؤه مؤخراً أن CendR motif في بروتين S1 لـ SARS-CoV-2 يرتبط بـ NRP-1 ويزيد من العدوى الفيروسية ، يقلل الجسم المضاد أحادي النسيلة ضد جيب ربط CendR خارج الخلية في المجال b1 من NRP-1 من العدوى بفيروس SARS-CoV-2 ، وأظهر تحليل تعبير الرنا لـ NRP-1 في الخلايا المعزولة من غسالة القصبات الهوائية للمرضى المصابين بمرض فيروس كورونا 2019 الشديد (COVID-19) تعبيراً مرتفعاً في الخلايا الإيجابية لـ SARS-CoV-2، ولكن لم يوجد ذلك في الخلايا غير المصابة، يبقى أن نرى ما إذا كان منع التفاعل بين SARS-CoV-2 و NRP-1 يمكن أن يكون علاجاً فعالاً في مكافحة COVID-19 .

أظهرت الدراسات نسبة عالية من NRP-1 في الطبقة السطحية الظهارية للجهاز التنفسي والجهاز الهضمي ، عند المرضى المصابين ب COVID-19 ، وعلى الرغم من أن NRP-1 ينتشر في جميع أنحاء أنسجة الجسم، إلا أنه يتم التعبير عنه بشكل أكبر بواسطة الخلايا البطانية للدم وخلايا العضلات الملساء الوعائية والخلايا الجذعية الميزانشيمية.

يمكن أيضًا التعبير عن NRP-1 بواسطة البالعات الكبيرة للأنسجة الشحمية ، والخلايا البطانية الرئوية والخاصة بالأوعية الدموية، والأوعية الدموية في شبكية العين، والعصبونات ، بالإضافة إلى الخلايا المناعية مثل الخلايا التائية CD8+ ، والخلايا التائية المنظمة ، والبالعات السنخية والقصبية والوعائية.

يعمل NRP-1 كمستقبل لركائز التأثير مثل السيمافورينات semaphorins و VEGF (على وجه التحديد الشكل VEGF-A)، وعامل النمو ($TGF-\beta$)، والبليكسينات ، والإنترغينات.

يلعب NRP-1 دورًا متعدد الأنظمة في تكوين الأوعية، وتطور الورم، والدخول الفيروسي، والتوجيه المحوري داخل الجهاز العصبي المركزي والمحيطي ، والوظيفة المناعية، ويجعل التعبير المتنوع والوظائف المتنوعة لـ NRP-1 هدفًا مثاليًا خارج خلوي لـ SARS-CoV-2 وقد يساهم في التأثير متعدد الأنظمة لهذه العدوى الفيروسية.

لقد ثبت أن تفاعلات NRP-1 مع VEGF والسيمافورينات semaphorins تعزز نمو الأورام وبقائها وتجديدها الذاتي، كما يتم التعبير عنه في مجموعة متنوعة من السرطانات المختلفة، بما في ذلك الأورام الأرومية الدبقية والأورام الأرومية النخاعية وسرطان الثدي والبروستات والبنكرياس.

ونظرًا لوجوده ودوره على نطاق واسع في تكوين الأورام، فقد كان NRP-1 هدفًا للأدوية المضادة للأورام ، حيث يؤدي تثبيط NRP-1 المستند إلى الببتيد إلى تثبيط تكوّن الأوعية الدموية ، وتثبيط تكاثر الخلايا السرطانية وهجرتها ¹.

4.3.1 التعبير والوظيفة الوعائية

يشكل NRP-1 مع مستقبل VEGF 2 (VEGFR2) معقدات في الخلايا البطانية الوعائية لتحفيز نفاذية الأوعية وتكوين الأوعية، ومع ذلك ، لا يشكل VEGFR2 معقدات مع NRP-1 بشكل مباشر ولكنه يشكل جسرًا بين الكيانين عبر VEGF165 ، وهو شكل إسوي نوعي لـ VEGF ، والذي يرتبط بالمجال b1 من NRP-1 ، وهو نفس المجال الموضح لربط بروتين الأشواك الخاصة بـ SARS-CoV-2 .

يوفر استهداف مجال ربط VEGF-A لمعقد NRP-1 / VEGFR2 فوائد علاجية لمكافحة تكوين الأوعية الدموية في أمراض مثل التهاب المفاصل الروماتويدي والأمراض الالتهابية وإصابات الشرايين وتصلب الشرايين.

أظهرت طفرات في NRP-1 الفأري زيادة في التوعية الدموية وتمدد الأوعية الدموية ونزوفًا، بالإضافة إلى وفيات الأجنة، كما أظهرت طفرة فقدان الوظيفة لـ NRP-1 الوفاة، بالإضافة إلى ضعف تكوين الأوعية في الدماغ والكيس المحي والجهاز العصبي المركزي (CNS) وشبكية العين والصفيرة الوعائية تحت البطينية لجنين الفأر.

على الرغم من أن VEGF لا يمكن أن يعمل بدون NRP-1، فإن العكس لا يبدو صحيحًا لأن NRP-1 يمكنه أداء وظائفه في الأوعية الدموية بدون VEGF ، وتبقى الفئران التي تعبر عن NRP-1 المغاير (غير القادرة على ربط VEGF) على قيد الحياة بعد الولادة مما يدل على التطور السليم للقلب والأوعية الدموية .

تحدث هذه الوظيفة المستقلة عن VEGF لـ NRP-1 من خلال تعديل التصاق الخلايا البطانية بواسطة

الإنترغرينات والفيبرونكتين واللامينين، وباستخدام $TGF-\beta$ كشرط ربط بديل أثناء نمو الأوعية الدموية

وكما يوحي اعتماد VEGF على NRP-1 ، فإن البروتين الأخير ضروري لصيانة ووظيفة الجهاز الوعائي،

حيث يزداد التعبير عن NRP-1 في خلايا العضلات الملساء البطانية والأوعية الدموية بعد إصابة الشرايين

واستجابة لعامل نمو الخلايا الليفية وعامل النمو المشتق من الصفا نح الدموية (PDGF)، ويحدث هذا

التعبير الإضافي بعد الإصابة أيضاً في سياق الإجراءات العلاجية المنشأ التي قد تضغط على الأوعية

الدموية، مثل رأب الأوعية والشبكات.

ارتبطت زيادة التعبير عن NRP-1 مع نتائج سيئة، خاصة عودة التضيق، بسبب فرط التنسج البطاني

المستحدث، وهو حدث سريري مهم بعد جراحة الأوعية الدموية، والذي لديه القدرة على الحد من فعالية هذه

التدخلات الجراحية، وعندما تم تثبيط NRP-1 انخفضت أيضاً سماكة البطانة المستحدثة وإعادة التكون

البطاني.

قد يوفر استهداف NRP-1 فائدة علاجية محتملة من خلال تعزيز الوظائف المضادة لـ VEGF عند علاج

أورام معينة، على سبيل المثال أظهر العقار التجريبي pTM-NRP-1 فوائد علاجية كعامل مضاد لتكوّن

الأوعية ومضاد للأورام في علاج الأورام الدبقية، وكان المجال العابر للغشاء لـ NRP-1 هدفاً مفيداً عند

علاج الأورام الدبقية، حيث أظهر التأثيرات المضادة لـ VEGF وقدم فوائد علاجية للآليات المرضية التي

تهدف إلى منع تكوين الأوعية الدموية وتطور الورم.¹³

يتسبب COVID-19 الشديد أيضاً في إصابة الشرايين ، مع ما ينتج عن ذلك من زيادة تعبير محتمل لـ

NRP-1 يشير إلى إمكانية استهداف NRP-1 لعلاج COVID-19 ، وكما ذكرنا سابقاً ، أظهر الباحثون

ارتفاعاً في تعبير RNA عن NRP-1 في الخلايا الإيجابية لـ SARS-CoV-2 ، ولكن ليس في الخلايا المجاورة غير المصابة المعزولة من الغسالة القصبية للمرضى المصابين بفيروس كوفيد-19 الشديد.

كان NRP-1 فقط مرتفعاً بشكل كبير في تحليل لمجموعة بيانات تسلسل الحمض النووي الريبي لكلية أحادية النواة لمرضى السكري البشري محفوظة بالتبريد، من بين العديد من العوامل المقترحة المشاركة في دخول الخلايا بواسطة SARS-CoV-2 بما في ذلك الإنزيم المحول للأنجيوتنسين 2 (ACE2) ، وقد يكون هذا أحد أسباب زيادة خطر الإصابة بعدوى SARS-CoV-2 لدى مرضى السكري.

يرتبط COVID-19 الشديد بأمراض الأوعية الدموية مثل زيادة التخثر والإنتان، يتم التحكم في التخثر عن طريق إطلاق والتعرض لعوامل مختلفة على البطانة بعد إصابة الشرايين أو الالتهاب، ويتم تعديل التخثر أيضاً بواسطة NRP-1.

يمكن أن يلعب NRP-1 دوراً جيداً في أمراض التخثر من خلال التحكم في التصاق ونفاذية الخلايا البطانية، حيث أدى تثبيط NRP-1 في المختبر بواسطة الببتيد المحسس للضوء إلى خلل في الأوعية الدموية للورم عبر تضيق الأوعية، وتحرير عامل الأنسجة، وتشكيل الخثرة.

يمكن أن يؤدي SARS-CoV-2 إلى حدوث خلل في الأوعية الدموية والتخثر في جميع أنحاء الجسم من خلال ربط الركائز التقليدية المولدة للأوعية والتغلب عليها في المجال b1 من NRP-1 .¹

4.3.2 دور النوروبيلين NRP-1 في المناعة

إن الأدوار المتعددة لـ NRP-1 في الجهاز المناعي جعله هدفاً محتملاً للعلاجات المناعية مثل الأجسام

المضادة أحادية النسيلة لاستخدامها ضد أمراض المناعة الذاتية والأورام وربما الأمراض الخمجية مثل

COVID-19 ، ويلعب NRP-1 دوراً في تغيير كل من النشاط المكون للأوعية والنشاط الالتهابي في عدة

أجهزة وتأثيراته كمستقبل تغطي العديد من أمراض المناعة الذاتية ، على سبيل المثال ، ثبت أن NRP-1 ضروري في علاج التهاب الدماغ والنخاع المناعي الذاتي ، وهو نموذج ، حفز اللبتيد الرباعي Tuftsin النشاط البلعمي للخلايا الدبقية الصغيرة بطريقة تعتمد على NRP-1 ، مما يكشف عن أهمية هذا المستقبل كهدف لعلاج التهاب النخاع المناعي الذاتي.

أظهرت الفئران التي تفتقر إلى التعبير عن NRP-1 فقداناً مهماً للوزن، وزوال النخاعين المترقي من الحبل الشوكي، وزيادة وقت تنشيط الخلايا التائية التنظيمية مقارنةً مع المجموعة الشاهدة.

في التهاب المفاصل الروماتيزمي ، يؤدي تكاثر الخلايا الزليلية synoviocyte والتكاثر الوعائي إلى التهاب السبل يتبعه التهاب مزمن، وفي التهاب المفاصل التجريبي المحرض لدى القوارض، تم العثور على الببتيدات المضادة لـ NRP-1 المتكونة من الانقسام المعتمد على البلازمين لـ VEGF165 لمنع التصاق وهجرة الخلايا الزليلية، فضلاً عن تكاثر الشعيرات الدموية وهجرة الخلايا البطانية.

منعت الببتيدات المضادة لـ NRP-1 ارتباط العامل المضاد للخلايا VEGF165 بـ NRP-1 على الخلايا البطانية والخلايا الزليلية ، مما أدى إلى زيادة موت الخلايا المبرمج ج للخلايا الزليلية عن طريق تقليل التعبير عن p-ERK و Bcl-2 ، وهما عاملان أساسيان لبقاء الخلايا الزليلية.

تم إثبات أن تنشيط هذه العوامل التكاثرية يقلل من تكوين الأوعية الدموية ، مما يساهم في مزيد من الأدلة على دور NRP-1 في نمو الأوعية الدموية وكهدف محتمل في علاج الأمراض التي تتميز بالتكاثر المفرط لخلايا .

تم العثور على مستويات مرتفعة NRP-1 في الغسالة القصيبية لمرضى الربو بشكل ملحوظ عند مقارنتها بالمجموعات الشاهدة ، ولقد تم اقتراح أن استهداف NRP-1 يمكن استخدامه في تدبير الأمراض التحسسية..

ما هو غير معروف في هذا الوقت هو ما إذا كان تورط NRP-1 وزيادة تعبير في COVID-19 قد يترجم إلى عواقب طويلة المدى مع ضعف تكوين الأوعية و / أو الوظائف المناعية.¹

4.3.3 التعبير والوظيفة العصبية

يتواجد NRP-1 بكثرة في الظهارة التنفسية والشمية، مما قد يفسر عدوى SARS-CoV-2 في هذه الظهارة بالإضافة إلى الطريق المحتمل للانتشار عبر البصلة الشمية وإلى الجهاز العصبي المركزي.

يلعب NRP-1 دورًا مركزيًا في التوجيه المحوري، لا سيما من خلال تفاعله مع Semaphorin-3A (SEMA3A)، وهو بروتين يُرى على نطاق واسع في كل من الجهاز العصبي والأوعية الدموية.

عندما تتشكل سبل العصبونات التعويضية بعد إصابة الحبل الشوكي، تعمل الصفائر كمحولات إشارة جنبًا إلى جنب مع NRP-1 ، والذي يتم زيادة التعبير عنه في القشرة الحركية بعد إصابة الحبل الشوكي.

يؤدي حصر NRP-1 إلى تشذيب محوري مثبت للدارات العصبية التعويضية داخل الجهاز العصبي المركزي، مما يبرز الدور الحاسم لـ NRP-1 في الإشارات الخلوية ودوره في استعادة الوظيفة الحركية بعد إصابات الحبل الشوكي.

هذا التشذيب مهم أيضًا للوظيفة الحسية، وعندما كان التعبير عن NRP-1 محدودًا في قوقعة أجنة الفئران، أظهرت الفئران بعد الولادة خلايا عصبية غير منظمة وتفاقم فقدان السمع تدريجيًا.

فيما يتعلق بالشم ، فإن NRP-1 متورط في حدوث متلازمة كالمان، وهو مرض خلقي يتميز بقصور الغدد التناسلية وفقدان الشم، حيث يؤدي عدم التنظيم في التوجيه المحوري الناجم عن خلل في تفاعل NRP-1 مع SEMA3A إلى تطور هذه المتلازمة، وهذا المثال الأخير هو الأكثر إثارة للاهتمام في سياق SARS-CoV-2 ، بالنظر إلى أن COVID-19 له ارتباط واضح بفقدان حاسة الشم.¹

4.3.4 إستهداف النوروبيلين للحد من عدوى COVID19 :

في حين أن فقدان الشم (وهو خلل وظيفي في حاسة الشم) هو أحد الأعراض التي تظهر في العديد من أمراض الجهاز التنفسي العلوي، إلا أن وجوده فريد من نوعه في SARS-CoV-2، فبدلاً من التظاهر بالتهاب الأنف وسيلان الأنف، يمكن أن يحدث فقدان الشم في سياق SARS-CoV-2 غير مصحوباً بأعراض أخرى.

يفترض بران وزملاؤه أن فقدان الشم المرتبط بـ SARS-CoV-2 لا يشمل العصبونات، لأن مستقبل ACE2 غير موجود في العصبونات، وهناك فرضية أخرى هي أن SARS-CoV-2 يضر بالخلايا الشمية باستخدام ACE2 للدخول، ومع ذلك : هناك مشكلة واحدة في هذا : لا يتم التعبير عن ACE2 بشكل كبير في الخلايا الشمية.

يوجد الإنزيم المحول للأنجيوتنسين ACE2 في السبيل الأنفي، في الخلايا مثل الخلايا قليلة التغصن، أو الخلايا الكأسية، أو الخلايا الظهارية، ولكنه ليس منتشرًا بشكل كبير.

لا يشرح ACE2 أيضًا كيف يمكن لـ SARS-CoV-2 التسلل إلى العصبونات الشمية نفسها، وتشير دراسة نُشرت مؤخرًا إلى أنه قد يكون هناك سبل مستقلة عن الإنزيم المحول للأنجيوتنسين ACE2 2 لدخول

SARS-CoV-2 وإصابة الخلايا العصبية، لذلك؛ نقترح آلية بديلة : يتم تعزيز دخول SARS-CoV-2 إلى الخلايا الشمية والخلايا العصبية بواسطة NRP-1.

يتم التعبير عن NRP-1 بشكل كبير في ظهارة الشم والبصلة الشمية، أكثر بكثير من ACE2 ، يتم التعبير عن NRP-1 تقريباً في كل نوع من الخلايا في السبيل الأنفي . يتم التعبير عن NRP-1 في العصبونات الشمية، مما يمنح SARS-CoV-2 سبيلاً مباشراً لدخول تلك الخلايا وتعطيل الشم.

يمكن أن يكون فقدان حاسة الشم نذيراً لعقائيل أخرى لـ SARS-CoV-2 ، أي بمعنى آخر ، NRP-1 يسهل دخول الفيروس إلى الجهاز العصبي المركزي

في تشريح جنث المرضى الذين توفوا بـ COVID-19 ، تم العثور على SARS-CoV-2 في خلايا شمية إيجابية الـ NRP-1 في السبيل الأنفية والبصلة الشمية والمسالك الشمية في الدماغ.

إن التعبير العالي لـ NRP-1 في مجموعة متنوعة من الخلايا الشمية وأهميته في الحفاظ على العصبونات الشمية يجعله مرشحاً أقوى في آلية فقدان حاسة الشم مقارنة بـ ACE2 ، وعلى الرغم من أن متلازمة كالمان تحدث من أخطاء في نمو الخلايا العصبية للجنين، إلا أن سبيل التأثير NRP-1-SEMA3A نفسه لا يزال مستخدماً في صيانة وتجديد العصبونات لدى البالغين ، مما يؤدي إلى تعرض محتمل لفقد الرائحة.¹⁴

لتحديد ما إذا كان SARS-CoV-2 يمكنه استخدام NRP1 لدخول الفيروس والإصابة به ، قمنا بتوليد جزيئات الفيروس البطيئة ذات النمط الكاذب باستخدام بروتين S الخاص بـ SARS-CoV-2.

تعد الفيروسات الكاذبة مناسبة تماماً لتقييم دخول الفيروسات، لأنها تسمح بتمييز الدخول الفيروسي عن خطوات دورة حياة الفيروس الأخرى.

خلايا HEK293T ، التي لا تحتوي تقريباً على نسخ من ACE2 و NRP1 قابلة للاكتشاف (الشكل 2) ، تم نقلها بالبلازميدات التي تشفر عاملي المضيف المحددين ، ACE2 البشري وبروتياز السيرين الغشائي 2 (TMPRSS2)، أو NRP1.

عندما يتم التعبير عن ACE2 بمفرده فهو يجعل الخلايا عرضة للإصابة، في حين أن NRP1 بالكاد عزز العدوى في خلايا HEK-293T ، إلا أن تعبيره المشترك مع ACE2 و TMPRSS2 عزز العدوى بشكل ملحوظ.

أدى التعبير عن NRP1 إلى زيادة العدوى في خلايا Caco-2، والتي تعبر داخلياً عن ACE2 (الشكل 2D)، مما يدل على أن NRP1 يمكن أن يحفز العدوى في وجود عوامل أخرى لدى المضيف.

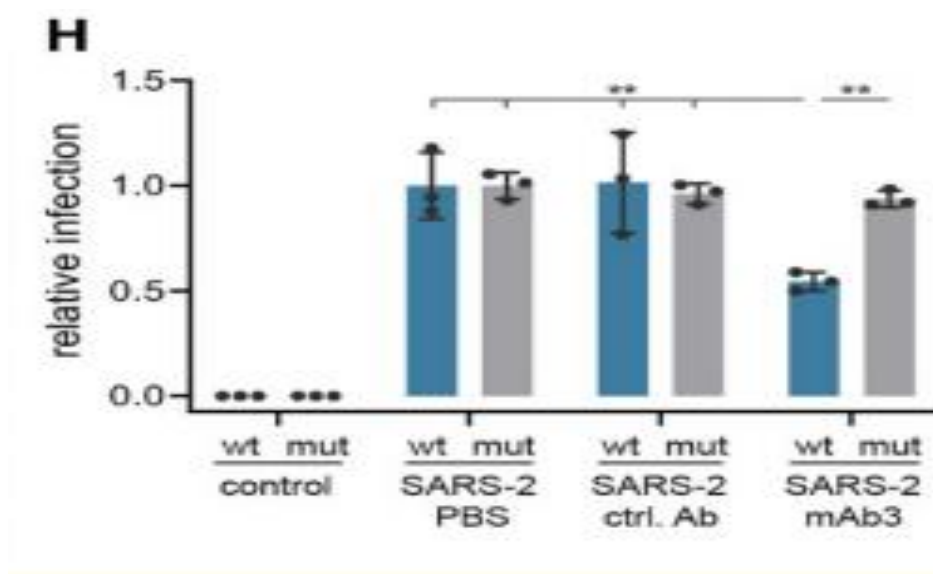
لاختبار خصوصية إدخال الفيروس المعتمد على NRP1 ، قمنا بتطوير أجسام مضادة أحادية النسيلة (mAbs) تم تصميمها لحجب المجال b1b2 خارج الخلية عن NRP1 ، المعروف بأنه يتوسط الارتباط ببيتيدات CendR . لوحظ أن mAb3 يرتبط بالمجال b1b2 المشوب من النوع الطبيعي لـ NRP1 ، ولكن ليس بمجال b1b2 ثلاثي الطفرات (S346A و E348A و T349A في جيب ربط CendR) (الشكل 2A).

تم اختبار فاعلية mAbs في منع الارتباط الخلوي وإدخال روابط NRP باستخدام 80 نانومتر من جزيئات الفضة النانوية (AgNP) المغلفة ببيتيد CendR المرتبط بـ NRP1 <RPARPAROH> (الشكل 2B)، حيث قام mAb3 بمنع ارتباط AgNP-CendR بفعالية جيدة (الشكل 2C) وإدخال جيد (الشكل 2D و E) ، بينما لم يكن للجسم المضاد أحادي النسيلة الآخر mAb2 أي تأثير وتم استخدامه كعنصر تحكم في تجارب أخرى.

خففت معالجة خلايا HEK-293T بـ mAb3 بشكل كبير من العدوى بالفيروسات SARS-CoV-2 الزائفة في الخلايا التي تعبر عن ACE2 / TMPRSS2 / NRP1 ، ولكن ليس في الخلايا التي تعبر عن ACE2 / TMPRSS2 فقط (الشكل 2F).

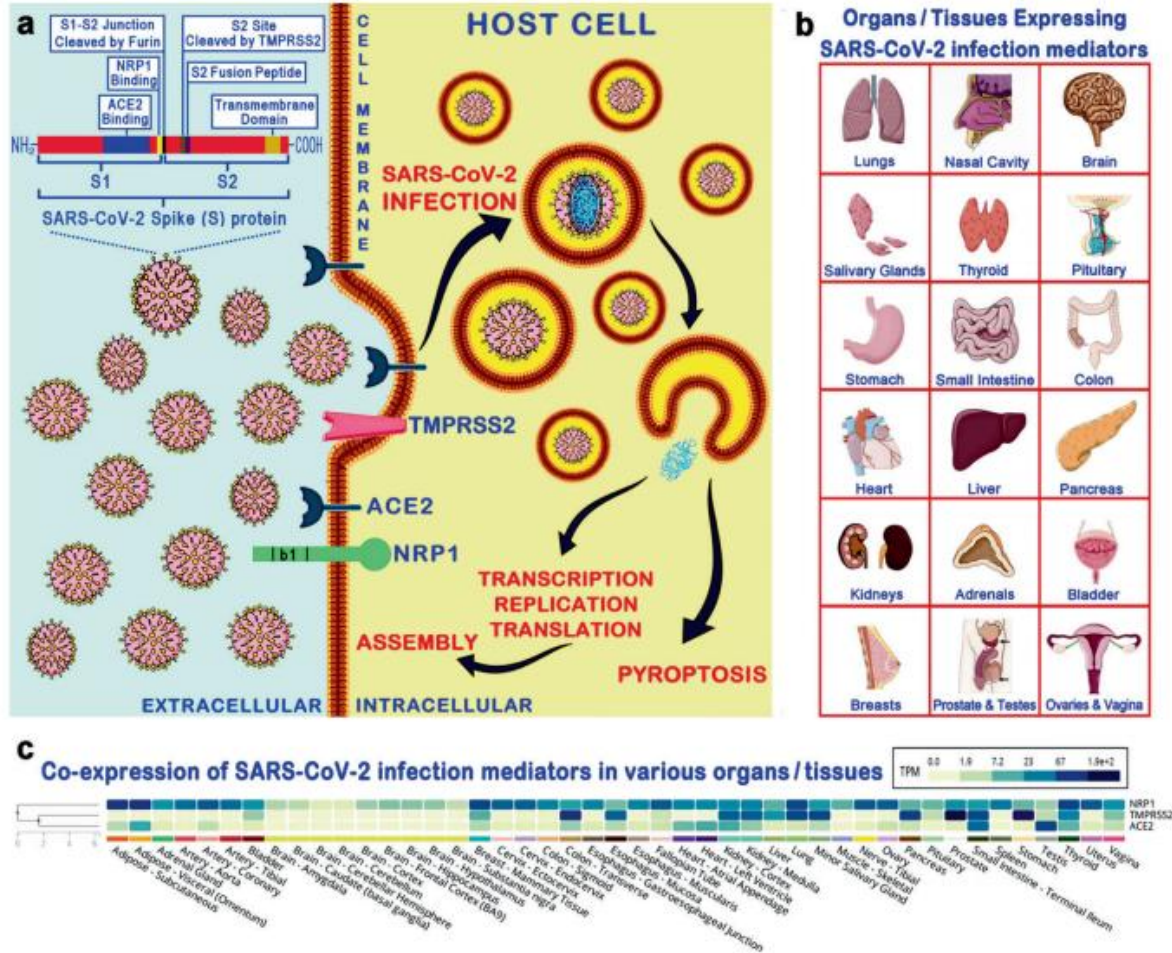
عندما تم احتضان الفيروس SARS-CoV-2 الكاذب مسبقاً بالمجال b1b2 من NRP1 المنحل خارج الخلية ، قلل النوع الطبيعي بشكل كبير من العدوى مقارنة بالنوع ثلاثي الطفرات

تأثير الجسم المضاد mAb3 الحاصر لـ NRP1، على إصابة خلايا Caco-2 بفيروس SARS-CoV-2 من النوع الطبيعي والمتحور، ووجد أن الحضان المسبق مع الأجسام المضادة التي تحجب NRP1 قللت من عدوى الفيروس من النوع الطبيعي ~ 40% ، في حين أن mAb2 الشاهد لم يكن له أي تأثير (الشكل 2) .



الشكل (2). تأثير الأضداد الحاجبة للنوروبيلين : حيث انقصت هذه الأضداد من عدوة الفيروس wild SARS-2 type بالمقارنة مع النمط الطافر SARS-2 mut .

يقلل الجسم المضاد 2A الذي يحجب المجال b1b2 من NRP1 من العدوى بالنمط البري ، ولكن ليس النمط الطافر مع (SARS2mut) حيث تم إعداء خلايا Caco-2 بعد الحضانة بـ SARS-2-wt (wt ، أشربة زرقاء) أو SARS-2-mut (mut ، أشربة رمادية) من ثم إستخدام أضعاد شاهدة (ctrl. Ab) mAb2 أو الأجسام المضادة التي تحجب mAb3 ضد NRP1.



الشكل (3): البروتينات المساهمة في تسهيل إصابة الخلايا بفيروس SARS-CoV-2

(a) تسهل البروتينات السكرية في أشواك SARS-CoV-2 (S) الارتباط والاندماج اللاحق لهذا الفيروس التاجي مع غشاء الخلية المضيفة. يتم شطر هذه البروتينات (أثناء دخول الخلية المضيفة أو إنتاج جسيمات SARS-CoV-2) إلى مكونين لا يزالان غير مرتبطين تساهمياً ، وهما S1 الذي يشكل أساس توصيل الخلية لهذا الجزيء و S2 الذي يظل مرتبطاً بالغشاء

الفيروسى ويسهل اندماجه، وعلى هذا النحو ، يرتبط S1 بالإنزيم 2 المحول للأنجيوتنسين (ACE2) على غشاء الخلية ، بينما يتوسط S2 الاندماج بين أغشية الخلية الفيروسية والخلية المضيفة بعد التعرض الحال للبروتين لببتيد الانصهار S2 عن طريق البروتياز الغشائى سيرين 2 (TMPRSS2) أو مضيف آخر من البروتيازات الخلوية مثل الفورين الموجود داخل المسار الإفرازى للخلية المضيفة ومكوناتها الداخلية.

فى الواقع ، يشطر الفورين البروتين السكرى S الخاص بـ SARS-CoV-2 عند الوصل / الحد ما بين S1-S2 والذي يتكون من سلسلة من الأحماض الأمينية الأساسية، وتجدر الإشارة إلى أن هذا الانقسام المتواسط بالفورين للوصل متعدد الأسس -S1 S2 يكشف عن نموذج له نهاية كربوكسيلية [RRAR ، حيث يمثل R أرجينين Arg-Arg-Ala-Arg : (Arg)] ، والذي يتوافق مع "قاعدة C-end" (CendR) [R-XX-R ، حيث يمثل R الأرجينين (Arg) ويمكن استبداله بـ lysine (Lys) ، بينما يمكن أن يكون X أي حمض أميني].

يمكن لعنصر CendR الخاص بـ S1 أن يرتبط بـ neuropilin-1 عبر مجاله b1 (NRP1) ؛ مستقبل مشترك عابر للغشاء مرة واحدة ومستقبل مساعد للسيمافورينات من الصف 3 وعوامل النمو البطانية الوعائية) ، والذي يظهر أنه يعمل كوسيط للخلية المضيفة يمكنه زيادة عدوى SARS-CoV-2 والمساهمة فى التوجه للنسيج أو للعضو

(b) التعبير عن ACE2 والوسطاء الخلوية الأخرى (على سبيل المثال ، TMPRSS2 ، و NRP1) التي تسهل إصابة الخلايا المضيفة بواسطة SARS-CoV-2 فى أنسجة / أعضاء مختلفة من جسم الإنسان وقد يساهم فى توجه SARS-CoV-2 ومظاهر COVID-19 المماثلة .

(c) التعبير المشترك عن ACE2 و TMPRSS2 و NRP1 الذي يتواسط إصابة SARS-CoV-2 للخلايا المضيفة فى الأنسجة / الأعضاء البشرية المختلفة ، بناءً على البيانات المتاحة من مشروع Genotype-Tissue Expression (GTEx)

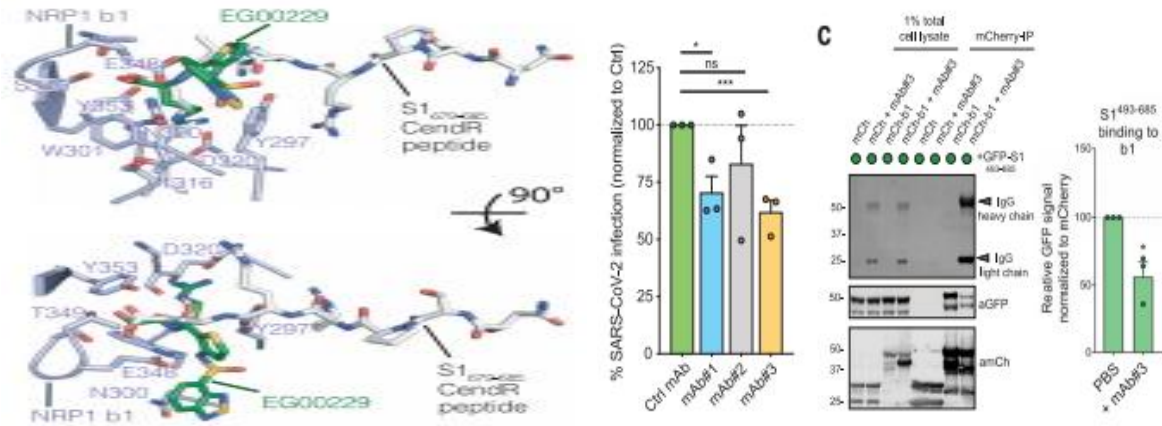
يستخدم فيروس المتلازمة التنفسية الحادة الشديدة كورونا 2 (SARS-CoV-2) (وهو العامل المسبب لمرض فيروس كورونا 2019 {COVID-19}) بروتين الأشواك الفيروسي (S) للارتباط بالخلية المضيفة ودخلها.

يشطر الفورين (بروتياز المضيف) البروتين السكري S كامل الطول إلى عديدي ببتيد مرتبطين ببعض : S1 و S2، ويولد انشطار S تسلسل متعدد الأسس Arg-Arg-Ala-Arg بنهاية كربوكسيلية على S1 ، والذي يتوافق مع نموذج النهاية C (CendR) C-end الذي يرتبط بمستقبلات النوروبيلين 1 و 2 على سطح الخلية NRP1 و NRP2.

استخدمنا علم البلورات بالأشعة السينية والأساليب الكيميائية الحيوية لإظهار أن CendR الخاص بـ S1 يحفز الارتباط المباشر بـ NRP1، وقد أدى تثبيط هذا التفاعل عن طريق تدخل الحمض النووي الريبي أو المثبطات الانتقائية إلى تقليل دخول SARS-CoV-2 والعدوى في المزارع الخلوية، وبالتالي يعمل NRP1 كعامل مضيف لعدوى SARS-CoV-2 وقد يوفر هدفاً علاجياً لـ COVID-19.

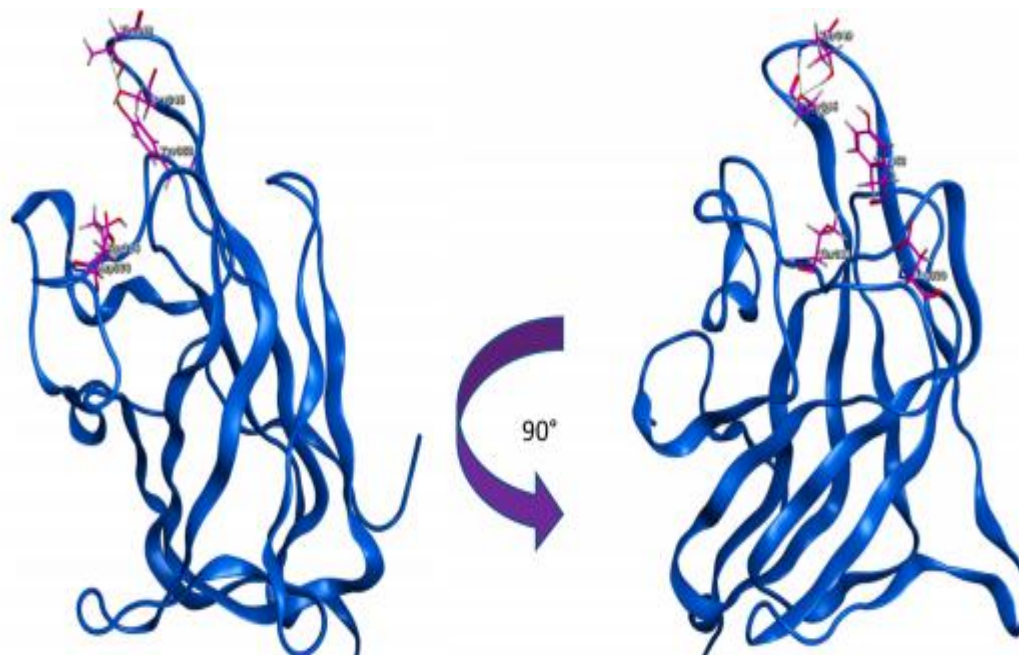
بعد ذلك، لجأنا إلى الجزيء الصغير EG00229، وهو مضاد انتقائي لـ NRP1 والذي يرتبط بموقع ارتباط b1 CendR ويثبط ارتباط VEGF-A (الشكل 3D).

أخيراً، أدى حضن خلايا Caco-2 باستخدام EG00229 إلى تقليل كفاءة عدوى SARS-2 (الشكل 4). وبالتالي يمكن استهداف تفاعل SARS-CoV-2 مع NRP1 لتقليل العدوى الفيروسية في خطوط الخلايا البشرية ذات الصلة.⁵



الشكل (4): يبين الشكل تأثير تثبيط المستقبلات على الإصابة بـ SARS-COV-2 عن طريق ارتباط المثبط EG00229-NRP1B1 بالمجال b1-s1CendR من النوروبيلين.

يقلل التثبيط الانتقائي للتفاعل S1-NRP1 من الإصابة بـ SARS-COV-2



الشكل (5): الأحماض الأمينية المكونة لمناطق ارتباط الفيروس بالخلية.

يظهر NRP1 (الأزرق) الأحماض الأمينية Thr316 و Asp320 و Ser346 و Thr349 و Tyr353 (الوردي) ، كمنطقة مختارة للارتباط.

كما ذكرنا سابقاً ، يعد الحمض الأميني Asp320 مهماً جداً بالنسبة لـ NRP1 للتفاعل مع الروابط المختلفة ومع VEGF-A ، بالنسبة لمنطقة CendR في SARS-CoV-2 ، وكذلك المنطقة بين الأحماض الأمينية Thr316 و Asp320 و Ser346 و Thr349 و Tyr353 لها دور مهم للغاية بالنسبة للمنطقة S1 من

SARS-CoV-2 للتفاعل مع NRP1

إن مركبات N1 - N10 لديها احتمالية أعلى للتفاعل مع NRP1 ، وفقاً لنتائج الارتباط.

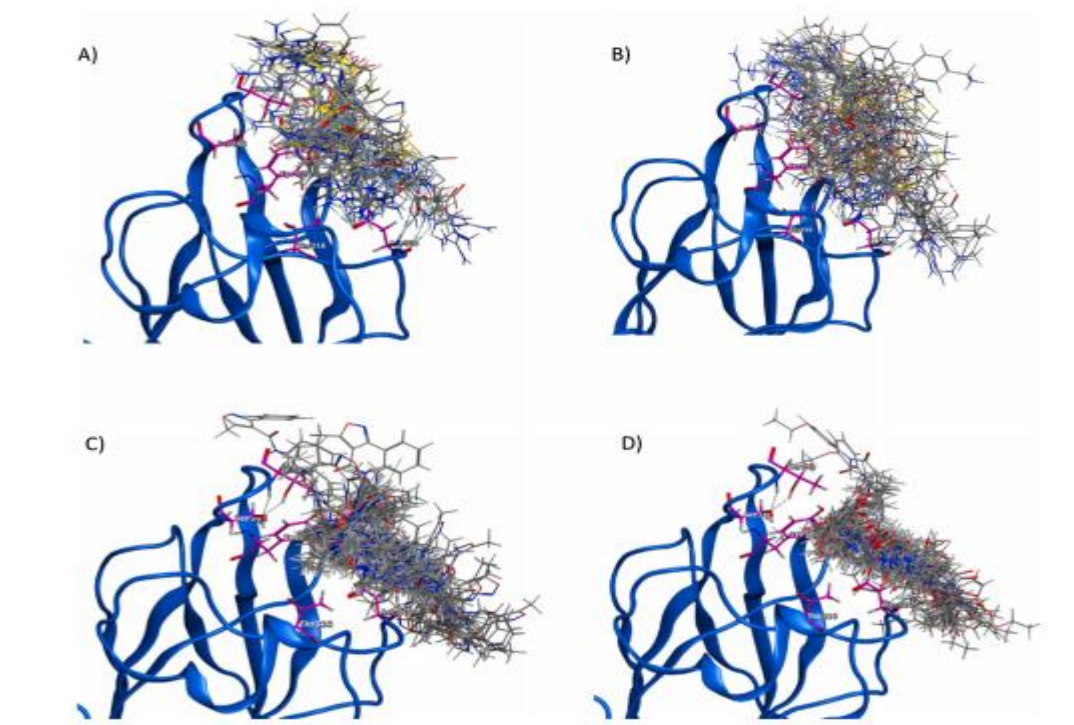
يتطلب تطوير أدوية جديدة استثماراً كبيراً للوقت والموارد المالية، لذلك من الضروري أن نكون قادرين على

تقديم أدوية فعالة لتطويرها، حتى لو كانت ستبدأ بطريقة نظرية لأن هذا يتطور بالفعل في العالم.

يزدهر اليوم تطوير اللقاحات والأدوية لمواجهة الوباء الناجم عن SARS-CoV-2 في جميع أنحاء العالم ، تقريباً بعد عام واحد من بدء العمل الأول ضد COVID-19 ، حتى الآن لا يوجد علاج يظهر ميزة علاجية، مما يدل على الحاجة إلى تطوير أدوية موجهة إلى هدف انتقائي يمكن أن تغير من تطور هذا المرض.¹¹

من ناحية أخرى، لا يزال هناك الكثير لمعرفته حول COVID-19، وبسبب التوجّه الذي يملكه SARS-CoV-2، فإن فهمه يمثل تحدياً.

أصبح NRP1 مهماً لتحديد تطور العملية المعدية، حيث تم تحديد أن هذا البروتين يمكن أن يزيد من درجة الإصابة عند وجوده. كما ذكرنا سابقاً ، يعد الحمض الأميني Asp320 مهماً جداً بالنسبة لـ NRP1 للتفاعل مع الروابط المختلفة ومع VEGF-A ، كما هو الحال بالنسبة لمنطقة CendR في SARS-CoV-2، فإن المنطقة الواقعة بين الأحماض الأمينية Thr316 و Asp320 و Ser346 و Thr349 و Tyr353 أيضاً لها دور مهم للغاية بالنسبة للمنطقة S1 من SARS-CoV-2 للتفاعل مع NRP1 ؛ في هذه الدراسة ، تم إجراء عملية ارتباط موجهة إلى الأحماض الأمينية في منطقة b1 المبلغ عنها في NRP1 (Thr316 و Asp320 و Ser346 و Thr349 و Tyr353) ، لذلك ، فإن تقييم تأثير NRP1 والتحكم فيه يمكن أن يولد نظريات جديدة حول توجّه SARS-CoV-2.⁶



الشكل (6): البنية الجزيئية لـ NRP1.

يظهر NRP1 (الأزرق) الأحماض الأمينية Thr316 و Asp320 و Ser346 و Thr349 و Tyr353 (الوردي) ، مع تفاعلات كل مركب (رمادي) مع منطقة أكبر أو أصغر . A) NRP1 مع 30 مطابقة من EG00229 (رمادي)، B) NRP1 مع 29 مطابقة من EG01377 (رمادي)، C) NRP1 مع 29 مطابقة لمركب N1 (رمادي) و D) NRP1 مع 28 مطابقة لمركب N2 (رمادي) ؛ في N1 و N2 ، يتفاعل المطابقون في منطقة أصغر.

5. الخاتمة

إن النوروبيلين (NRP1) هو بروتين متعدد الوظائف على غشاء الخلية، وله تأثير على الوظائف الفيزيولوجية والأمراض في الإنسان ، لأكثر من 20 عامًا تم تطوير جزيئات معينة يمكن أن تثبط / تنظم بعض وظائفها، لكنها لا تزال هناك تطورات حتى الآن واستمر NRP1 في إظهار إشارات / وظائف جديدة، والتي تحتاج إلى مزيد من التحقيق.

لذلك ، فإن دور NRP1 في العملية المعدية لـ COVID-19 قد اكتسب أهمية أكبر ، ² لأنه من خلال القدرة على الحد من هذه الوظائف على COVID-19 ، يمكن أن يولد مرضًا له تأثير أقل على الكائن البشري وهذا يمكن أن يساعد جهاز المناعة والقدرة على تغيير التاريخ الطبيعي لمرض COVID-19 كما هو معروف اليوم.¹²

هناك معرفة محدودة حول تفاعلات الفيروس مع المضيف التي تحدد الدخول الخلوي لـ SARS-CoV-2 ، حيث تُظهر الفيروسات وفرة ومرونة كبيرة لأنها يمكن أن تستغل التفاعلات الضعيفة متعددة التكافؤ لتعزيز الألفة، وفي حين أن التركيز حتى الآن كان بالكامل تقريبًا على دور ACE2 في إدخال SARS-CoV-2 ، فإن نمط التعبير عن ACE2 لا يتطابق مع ارتباط الأنسجة بـ SARS-CoV-2 ، وهذا يثير احتمال أن العوامل المساعدة مطلوبة لتسهيل تفاعلات الخلية المضيفة مع الفيروس في الخلايا التي تعبر عن ACE2 بشكل منخفض.

يمكن أن يمثل NRP1 عامل تقوية لـ ACE2 ؛ ومع ذلك ، من الممكن أيضًا أن يدخل SARS-CoV-2 إلى الخلايا بشكل مستقل عن ACE2 عندما يكون الحمل الفيروسي عالي.

يمكن أن يرجع السبب في استخ دام عدد من الفيروسات لـ NRPs كعوامل دخول للخلية إلى تعبيرها العالي على الظهارة التي تواجه البيئة الخارجية، ووظيفتها في تمكين اختراق الخلايا والأوعية الدموية والأنسجة، بناءً على هذه الفرضية فإن تحديد NRP1 كوسيط خلوي آخر قد يعزز دخول SARS-CoV-2 في الخلايا المضيفة يوفر هدفًا علاجيًا جديدًا لمضادًا للفيروسات ضد COVID-19 .

6. المراجع

1. Mayi BS, Leibowitz JA, Woods AT, Ammon KA, Liu AE, Raja A (2021) The role of Neuropilin-1 in COVID-19. PLoS Pathog 17 (1) e1009153. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009153>
2. Ioannis Kyrou, Harpal S. Randeve, Demetrios A. Spandidos and Emmanouil Karteris Signal Transduction and Targeted Therapy (2021) 6:21 ; <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00460-9>
3. Jean K. Millet, Javier A. Jaimes, and Gary R. Whittaker, Molecular diversity of coronavirus host cell entry receptors, FEMS Microbiology Reviews, fuaa057, 1–16 doi: 10.1093/femsre/fuaa057
4. James L. Daly, Boris Simonetti, Katja Klein, Kai-En Chen, Maia Kavanagh Williamson, Carlos Antón-Plágaro, Deborah K., Shoemark, Lorena Simón-Gracia, Michael Bauer, Reka Hollandi, Urs F. Greber, Peter Horvath, Richard B. Sessions, Ari Helenius, Julian A. Hiscox, Tambet Teesalu, David A. Matthews, Andrew D. Davidson, Brett M. Collins, Peter J. Cullen and Yohei Yamauchi, Neuropilin-1 is a host factor for SARS-CoV-2 infection Science 370 (6518), 861-865. DOI: 10.1126/science.abd3072 originally published online October 20, 2020
5. Ludovico Cantuti-Castelvetri, Ravi Ojha, Liliana D. Pedro, Minou Djannatian, Jonas Franz, Suvi Kuivanen, Franziska van der Meer, Katri Kallio, Tugberk Kaya, Maria Anastasina, Teemu Smura, Lev Levanov, Leonora Szirovicza, Allan Tobi, Hannimari Kallio-Kokko, Pamela Österlund, Merja Joensuu, Frédéric A. Meunier, Sarah J. Butcher, Martin Sebastian Winkler, Brit Mollenhauer, Ari Helenius, Ozgun Gokce, Tambet Teesalu, Jussi Hepojoki, Olli Vapalahti, Christine Stadelmann, Giuseppe Balistreri and Mikael Simons, Neuropilin-1 facilitates SARS-CoV-2 cell entry and infectivity, published online October 20, 2020.
6. Maresa Caunt, Judy Mak, Wei-Ching Liang, Scott Stawicki, Qi Pan,1 Raymond K. Tong, Joe Kowalski, Calvin Ho, Hani Bou Reslan, Jed Ross, Leanne Berry, Ian Kasman, Constance Zlot, Zhiyong Cheng, Jennifer Le Couter, Ellen H. Filvaroff, Greg Plowman, Franklin Peale, Dorothy French, Richard Carano, Alexander W. Koch, Yan Wu, Ryan J. Watts, Marc Tessier-Lavigne, and Anil Bagri, Blocking Neuropilin-2 Function Inhibits Tumor Cell Metastasis, Cancer Cell 13, 331–342, April 2008, DOI 10.1016/j.ccr.2008.01.029.
7. Lee M. Ellis, The role of neuropilins in cancer, Mol Cancer Ther 2006;5:1099-1107.
8. Jos´e Luis Vique-S´anchez, Potential inhibitors interacting in Neuropilin-1 to develop an adjuvant drug against COVID-19, by molecular docking, Bioorganic & Medicinal Chemistry 33 (2021) 116040, <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2021.116040>.

9. Bachelder RE, Crago A, Chung J, et al. Vascular endothelial growth factor is an autocrine survival factor for neuropilin-expressing breast carcinoma cells. *Cancer Res* 2001;61:5736–40.
10. Barr MP, Byrne AM, Duffly AM, et al. A peptide corresponding to the neuropilin-1-binding site on VEGF(165) induces apoptosis of neuropilin-1-expressing breast tumour cells. *Br J Cancer* 2005;92:328–33.
11. Kielian M. Enhancing host cell infection by SARS-CoV-2. *Science* (80-). 2020;370(6518):765–766. <https://doi.org/10.1126/science.abf0732>.
12. Cantuti-Castelvetri L, Ojha R, Pedro LD, et al. Neuropilin-1 facilitates SARS-CoV-2 cell entry and infectivity. *Science* (80-). 2020;370(6518):856–860. <https://doi.org/10.1126/science.abd2985>.
13. Nasarre C, Roth M, Jacob L, Roth L, Koncina E, Thien A, et al. Peptide-based interference of the transmembrane domain of neuropilin-1 inhibits glioma growth in vivo. *Oncogene*. 2010 Apr 22; 29(16):2381–92. <https://doi.org/10.1038/onc.2010.9> Epub 2010 Feb 8. PMID: 20140015.
14. Cantuti-Castelvetri L, Ojha R, Pedro LD, Djannatian M, Franz J, Kuivanen S, et al. Neuropilin-1 facilitates SARS-CoV-2 cell entry and infectivity. *Science*. 2020 Oct 20:eabd2985. <https://doi.org/10.1126/science.abd2985> Epub ahead of print. PMID: 33082293.

ملاحظات قبل الطباعة :

- تم إضافة الشكل رقم 2
- إعادة ترقيم الأشكال و من ثم الطباعة.
- إعادة قراءة الرسالة و وضع الأسئلة لتوضيح كل ما هو غير واضح