

Covid-19: разоблачение истории гемоглобина



Мэтью Амдал, доктор медицинских наук, доктор философии

11 апреля

В последние дни у меня было много людей, которые спрашивали меня о моих мыслях в посте блога Medium под названием (*“Covid-19 had us all fooled, but now we might have finally found its secret.”* - «Covid-19, нас всех обманули, но теперь мы, возможно, наконец-то нашли его секрет»). Кажется, что даже после удаления этот пост стал широко распространяться в архивном виде, в основном людьми, которые, похоже, полностью согласны с его посылкой. Эта предпосылка, чтобы быть очень краткой, по существу состоит в том, что вирус SARS-CoV-2 наносит вред пациентам полностью благодаря его взаимодействиям с белком транспорта кислорода гемоглобином (Hb). Поиск в Google по названию все равно найдет сообщение, если вы захотите прочитать (или перечитать) его.

Немного обо мне и о том, почему люди прислали мне эту запись в блоге: в декабре 2019 года я получил степень доктора медицины в Университете Питтсбурга по программе подготовки медицинских ученых (программа MD/PhD). В рамках этой же программы я провел 4 года, чтобы получить степень доктора биоинженерии; в центре внимания моей диссертации была молекулярная биология, биохимия и физиология гемоглобинов млекопитающих. В результате я провел последние 7 с лишним лет на пересечении исследований в области клинической медицины и гемоглобина и чувствовал себя обязанным высказать свое мнение об этом сообщении в блоге. Мне помогли в

написании этой статьи доктора Anthony DeMartino и Matt Dent, оба докторанты в лаборатории, где я получил докторскую степень, и оба в десять раз лучше химиков, чем я когда-либо мог надеяться.

Но вернемся к сообщению: рассматриваемый пост в блоге Medium одновременно выдвигает два связанных сообщения, один «научный» (или, по крайней мере, представленный, чтобы выглядеть таковым) и один клинический. Оба сообщения изложены с преобладающим тоном власти и уверенности; к сожалению, оба они также почти полностью неверны в своих общих выводах и конкретных деталях, использованных для поддержки этих выводов. Как это часто бывает, опровержение такой дезинформации требует гораздо больших усилий (и слов), чем ее распространение, но мы сделали все возможное, чтобы решить все проблемы.

Якобы «научный» рассказ

Прежде чем вдаваться в подробности, я хочу вкратце рассказать о гемоглобине. Один белок гемоглобина состоит из двух частей: гем (который сам состоит из небольшого химического кольца, называемого порфирин + атом железа в центре), и глобин, большой белок, который содержит гем. Молекула гемоглобина в наших эритроцитах на самом деле состоит из четырех гемов и их четырех соответствующих белков (два альфа-белка и два бета), которые связаны вместе, образуя тетрамер. В каждой из этих цепей гем окружен своим соответствующим белком, который образует небольшое пространство, называемое «гемовым карманом» вокруг гема. Этот карман достаточно большой, чтобы вмещать кислород, окись углерода и другие маленькие молекулы, которые связываются с гемовым железом.

«Научное» повествование в блоге начинается с проникновения вируса SARS-CoV-2 в эритроциты. Оказавшись внутри эритроцитов, автор утверждает, что вирус быстро удаляет железо из молекул гемоглобина эритроцитов, что приводит к:

1) истощению функционального гемоглобина (с вирусом, связанным с его порфириновым кольцом) и

2) накоплению токсического железа в крови.

Все клинические проявления Covid-19 впоследствии приписываются этому процессу, несмотря на то, что фактически нет доказательств в поддержку такого механизма проникновения вируса в эритроциты и взаимодействия с гемоглобином. Что удивительно, автор опирается на ряд предположений, которые практически не поддерживаются в современной научной литературе.

Во-первых, неясно, что вирус вообще попадает в эритроциты. Анализируя опубликованную в настоящее время литературу, я не могу найти никаких доказательств значительного проникновения вируса SARS-CoV-2 в эритроциты. Хотя возможно, что взаимодействие между вирусом и эритроцитами могло быть упущено (большинство исследований по понятным причинам было сфокусировано на заболевании легких), в настоящее время нет никаких доказательств того, что эритроциты являются важным местом локализации или репликации вируса. Если гипотеза заключается в том, что большая часть токсического действия этого вируса возникает в результате взаимодействия с Hb, документирование проникновения вируса в эритроциты станет важным первым шагом.

Тем не менее, у нас есть некоторое представление о том, где этот вирус процветает. Например, в одном исследовании были изучены образцы тканей легких от пациента, который умер от Covid-19, и были найдены результаты, согласующиеся с диффузным альвеолярным повреждением (повреждение небольших воздушных мешочков в легких, где происходит газообмен) [1]. Это же исследование показало, что сам вирус локализован в основном на эпителиальных клетках, выстилающих те же альвеолы. В то время как эритроциты, по-видимому, были вымыты до того, как были исследованы образцы тканей (оставив пустые кровеносные сосуды), в самих кровеносных сосудах, а также в ткани между воздушными мешками практически не обнаруживали вируса. В целом, исследование показывает, что вирус и связанный с ним ущерб выявляется, главным образом, в альвеолах легких.

Автор поста в блоге предполагает, что вирус попадает в эритроциты и что вирусные *«гликопротеины связываются с гемом, и при этом высвобождается особый и токсичный окислительный ион железа»*. Это ложное утверждение, в отношении которого автор блога не приводит никаких доказательств, что похоже, происходит из-за неправильной интерпретации недавнего препринта статьи в ChemRxiv. В этой рукописи перед печатью предлагается возможный механизм «атаки» (термин, который они никак не определяют) гемоглобина и высвобождение гема из белка [2]. Хотя автор сообщения в блоге не ссылается на эту работу (или любую другую работу в этом отношении), выводы и формулировки достаточно схожи, так что вполне вероятно, что научная статья вдохновила на сообщение в блоге.

При близком прочтении, статья в ChemRxiv сама по себе неполноценна и не дает ничего, что я или мои коллеги считаем значимым

свидетельством механизма, с помощью которого вирус SARS-CoV-2 мог бы «атаковать» гемоглобин. Я планирую поработать над вторым фрагментом, дополнительно обсуждая проблемы с этой статьей, но сейчас приведу краткое изложение этой работы: авторы утверждают, что предоставили доказательства того, что определенные вирусные белки могут связываться с изолированным порфирином (без железа и без связи с каким-либо белком). Они также утверждают, что вирус может каким-то образом вытеснить гем из белка, а затем и железо из гема, чтобы обеспечить такое связывание. Все это основано на довольно элементарном анализе, основанном исключительно на сходстве белковых последовательностей и сомнительном моделировании молекулярного докинга (молекулярная стыковка - это метод молекулярного моделирования, который позволяет предсказать наиболее выгодную для образования устойчивого комплекса ориентацию и конформацию одной молекулы (лиганда) в центре связывания другой (рецептора)).

Примечательно, что работа была полностью выполнена *in silico* (с помощью компьютерных моделей), что обычно является начальным этапом скрининга, который должен быть подтвержден данными *in vitro* (экспериментальными, например, в пробирке или чашке Петри). Сами авторы утверждают в своем резюме, что «*их статья предназначена только для академического обсуждения, правильность должна быть подтверждена другими лабораториями*». Помимо этой вводной оговорки, авторы плохо справляются с оценкой своих результатов и подчеркивают весьма предварительный характер их работы. Легко видеть, как читатель без здоровой дозы научного скептицизма мог бы переоценить результаты, учитывая сильный язык, использованный во всей рукописи.

Тем не менее, публикация в блоге Medium, кажется, воспринимает эту сомнительную работу как жесткую правду и продолжает продвигать

заключение на несколько шагов дальше, утверждая, что вирус попадет прямо в гемовый карман и замещает интактное гемовое железо, в тот время, когда порфирин остается связанным с белком. Помимо сомнительных доказательств того, что вирус связывает порфирин, проблема здесь заключается в том, что гем/порфирин все еще находится в гемовом кармане, в пространстве, едва достаточном для двухатомных молекул, таких как кислород (O₂). Несмотря на это, автор блога, похоже, считает, что вирус (который больше, чем весь белок гемоглобина) сможет проникнуть в карман, заместить железо и связать порфирин, оставив порфирин и белок в остальном полностью неповрежденными. Мягко говоря, это был бы совершенно новый и, казалось бы, невозможный вид химии, и нет абсолютно никаких научных доказательств, подтверждающих такую возможность. Именно это, казалось бы, невозможное взаимодействие лежит в основе всего аргумента поста в блоге, и поэтому остальные выводы, сделанные блогером, просто не имеют никакого значения.

Клиническая история

Отсюда, используя этот ошибочный научный рассказ в качестве основы, автор создает столь же ошибочный рассказ о клиническом прогрессировании заболевания. Провал научного повествования в значительной степени делает недействительным последующее клиническое повествование, которое почти полностью основано на этой ошибочной теории. Таким образом, вместо того, чтобы разбирать всю клиническую модель, я собираюсь выделить некоторые ключевые моменты, которые я хочу конкретно опровергнуть. Хотя за этим повествованием труднее следовать, я попытаюсь обобщить его здесь.

Сообщение в блоге предлагает (перефразируя здесь, за исключением прямых цитат): поскольку гемоглобин пациента

теряет железо, этот пациент будет десатурироваться (теряет кислород из своего гемоглобина). Эта десатурация не имеет ничего общего с дисфункцией легких, так как *«нет ни пневмонии, ни ОРДС и легкие пациента не измучены, они просто функционируют нормально. Эритроциты просто не могут нести [кислород], конец истории».* Высвобождаемое свободное железо подавляет защитные механизмы легких вследствие его токсического действия, что приводит к двустороннему повреждению легких, поскольку *«пневмония редко когда-либо делает это [вызывает повреждение обоих легких], но COVID-19 делает ... В КАЖДОМ СЛУЧАЕ. В ОДИНОЧКУ. ВСЕ ВРЕМЯ.»*

Опять же, это, вероятно, звучит как убедительная, разумная серия событий для непрофессионала. На самом деле это чушь, основанная на глубоко ошибочном понимании физиологии и патофизиологии. Некоторые ключевые моменты и мои ответы:

Сообщение в блоге говорит: *пациенты десатурируются, поскольку их гемоглобин теряет железо*

Реальность: Даже если вирус вытолкнет железо из гемоглобина (чего он почти наверняка не делает), это вряд ли приведет к клинически значимой десатурации. Сатурация чаще всего измеряется с помощью пульсоксиметрии, которая использует свет для дифференциации Hb с кислородом от Hb без кислорода. Однако в обеих этих формах гемоглобина присутствует железо, и большинство клинических пульсоксиметров работают только тогда, когда присутствуют эти две формы - и **только** эти две формы гемоглобина [3]. Новая форма Hb с вирусом вместо железа будет поглощать свет очень по-разному от любой из этих форм, и такой белок (если он может существовать) почти

наверняка приведет к непостижимым импульсным показаниям, а не к десатурации.

Даже игнорируя эти технические аспекты, гораздо более вероятным объяснением измеренной десатурации у пациентов с Covid-19 будет недостаточная оксигенация крови из-за заболевания/повреждения легких (которое, как мы знаем, присутствует). Действительно, мы знаем, что пациенты с Covid-19, которых насыщают кислородом, плохо реагируют на дополнительный кислород, как автор, кажется, признает, предлагая кислород в качестве терапии. Улучшение при высокопоточной кислородотерапии исключает потерю железа как причину этой десатурации, так как обеспечение большего количества кислорода увеличит связывание кислорода с нормальным Hb с интактным железом, но не сможет вернуть железо обратно в Hb, который его потерял.

Сообщение в блоге гласит: *высвобождение железа из Hb является источником всей наблюдаемой патологии при Covid-19, включая двустороннее повреждение легких, которое пневмония «редко когда-либо» вызывает.*

Реальность: просто нет никаких доказательств того, что инфекция SARS-CoV-2 приводит к крупномасштабному выделению железа из Hb или что такого выброса было бы достаточно, чтобы подавить многочисленные механизмы организма по регулированию свободного железа. Тем не менее, даже если это и так, я не могу найти доказательств того, что перегрузка чистым железом (при отсутствии других патологий) приводит к значительному повреждению легких, а тем более к двусторонней пневмонии, наблюдаемой у многих пациентов с Covid-19 [4]. Напротив, двустороннее повреждение легких на самом

деле является довольно распространенным проявлением пневмонии, вызванной вирусными инфекциями [5].

В блоге говорится: «Нет ни пневмонии, ни ОРДС. По крайней мере, нет ОРДС с установленными протоколами лечения и процедурами, с которыми мы знакомы. »

Реальность: обе патологии явно присутствуют. Клиническая картина, несмотря на то, что автор мог бы подумать, в целом соответствует вирусной пневмонии, и прогрессирование до ОРДС хорошо документировано. Одно исследование в Китае показало, что из 201 пациента с подтвержденным Covid-19 примерно у 42% развилась клиническая картина, соответствующая ОРДС [6]. Уровень смертности среди этих пациентов составил более 52%, в то время как в группе пациентов, у кого не развился ОРДС, не было случаев смерти. Сообщение в блоге может быть до некоторой степени корректным в плане того, что что результирующая ОРДС является нетипичной. Из северной Италии есть письмо, в котором говорится, что ОРДС, возникающий при Covid-19, может совсем не требовать проведения ИВЛ с высоким давлением, которая даже может приводит к еще большему повреждению легочной ткани [7], но это же письмо предполагает, что интубация и механическая вентиляция без высокого давления должны быть *приоритетными* для пациентов, которые изо всех сил пытаются дышать, не *избегать*, как это предлагается в блоге.

Предлагаемые методы лечения

Наконец, и, возможно, самое неприятное, автор поста в блоге, который не имеет медицинского образования, предлагает ряд методов лечения для их воображаемого механизма этого заболевания.

Метод лечения 1: «Максимальный кислород» или гипербарическая камера со 100% O₂ при нескольких давлениях атмосферы

Неясно, но автор думает, что это достигнет цели. Если их модель вирусной дисфункции гемоглобина через потерю железа верна (это не так, но **если** это было), пострадавший Hb абсолютно НЕ МОЖЕТ связывать кислород. Обеспечение большим количеством кислорода через вентилятор или гипербарическую камеру не сможет волшебным образом вернуть железо обратно в гемоглобин. Чтобы принять щедрую интерпретацию, автор может предположить, что свободное железо в конечном итоге вызывает повреждение легких, что впоследствии препятствует проникновению кислорода в кровь, хотя в настоящее время мы понимаем, что это повреждение на самом деле вызвано вирусом и нашим иммунным ответом. Тем не менее, независимо от источника повреждения легких, интубация и искусственная вентиляция легких остаются стандартом медицинской помощи для критически больных пациентов с гипоксической дыхательной недостаточностью, как предполагает даже сообщение об атипичной ОРДС из Италии [7].

РЕДАКТИРОВАНО 13.04.2020: читатель, доктор Merveldt-Guevara, обратила мое внимание на то, что гипербарическая оксигенация (ГБО), вероятно, принесет пользу пациентам с потерей железа Hb, позволяя большему количеству кислорода растворяться непосредственно в крови без связывания с гемоглобином. Она абсолютно права в этом, и я хочу поблагодарить ее за то, что она меня поправила. Хотя нет никаких веских причин подозревать такую потерю железа, ГБО показана для увеличения количества кислорода, который попадает в кровь, и, таким образом, может иметь терапевтический потенциал для этих пациентов,

даже если их Hb остается полностью нормальным. Я обратился к некоторым гораздо более квалифицированным коллегам за их мнением по этому вопросу, и буду сообщать, если они ответят.

Метод лечения 2: переливание крови при «нормальном гемоглобине»

Сообщение в блоге правильно, что переливание донорских эритроцитов (или цельной крови) временно увеличило бы способность крови переносить кислород. Однако, помимо необоснованных утверждений в блоге, я не могу найти сообщений о случаях или каких-либо других данных, свидетельствующих о том, что глубокая анемия или потеря способности переносить кислород усугубляют повреждающее действие вируса Covid-19 у пациентов, и поэтому нет оснований полагать, что переливание эритроцитов приведет к клиническому улучшению.

Даже если автор был прав, переливание эритроцитов скорее всего принесет больше вреда, чем пользы после краткого первоначального улучшения. Например, мы знаем, что некоторая степень гемолиза (разрушение эритроцитов) происходит во время хранения крови и после переливания, что в конечном итоге приводит к выделению токсичных побочных продуктов, таких как свободный гем. Кроме того, если принять основную предпосылку поста в блоге, перелитые эритроциты также будут подвергаться атаке вируса Hb, что сводит на нет любую попытку увеличения кислородной емкости крови и способствует накоплению железа в крови. Переливание крови, если мы примем аргумент автора о гемоглобине и железе, равносильно выбрасыванию бревен в бушующий огонь, утверждая, что вы тушите огонь, потому что эти бревна еще не сгорели, а затем наблюдаете, как огонь увеличивается по мере его увеличения.

Просто, чтобы прояснить, есть некоторые доказательства в пользу переливания плазмы у выздоровевших пациентов с Covid-19, так как содержащиеся в нем антитела могут усиливать иммунную функцию реципиента. Тем не менее, сообщение в блоге очень пренебрежительно относится к этой терапии, предполагая, что это будет неэффективно без одновременного переливания эритроцитов, несмотря на отсутствие каких-либо доказательств в поддержку этого утверждения.

Метод лечения 3: гидроксихлорохин

Автор поста в блоге также рекомендует раннее лечение гидроксихлорохином (НСQ), который, по их словам, «... *подозревается в связывании с ДНК вируса магическим образом препятствуя его воздействию на гемоглобин*». Предисловие: Я не делаю здесь более широких заявлений об эффективности НСQ при Covid-19, действие которого тщательно изучается. Но конкретные аргументы этого автора о НСQ не выдерживают критики.

Например, я не уверен, где автор нашел этот «*подозреваемый*» механизм действия. Истинный механизм действия НСQ и других противомаларийных препаратов на основе хинолина был тщательно изучен. Известно, что эти препараты предотвращают секвестрирование паразита малярии свободным гемом (результатом потребления гемоглобина) в пищевых вакуолях, где токсичные молекулы гема обычно превращаются в относительно безвредные кристаллические отложения гемозоина [8]. Важно отметить, что НСQ не предотвращает выброс токсичного железа из гема, а также не препятствует взаимодействию гемоглобина (белковый компонент которого все еще потребляется паразитом). Вместо этого НСQ нарушает образование инертных кристаллов гемозоина, тем самым позволяя накапливать

токсичный гем (порфирин и железо вместе), что вызывает окислительное повреждение, которое в конечном итоге убивает паразита.

Кроме того, вирус представляет собой белковую оболочку, охватывающую длину кодирующей РНК (это РНК-вирус), и буквально нигде не содержит ни единого фрагмента ДНК, поэтому механизм связывания с ДНК здесь не имеет значения. Даже за пределами этого вируса я не могу найти ничего, что бы указывало на то, что связывание ДНК является значительным медиатором воздействия НСQ на малярию, аутоиммунное или любое другое заболевание. Считается, что его первичный эффект проявляется в лизосомах/пищевых вакуолях, где он предотвращает развитие ацидоза как слабое основание и в противном случае может ингибировать образование гемозоина (при малярии) и презентацию антигена/активацию иммунитета (при аутоиммунном заболевании) [9,10]. В заключение следует сказать, что НСQ, являющийся слабым основанием, означает, что утверждение автора о том, что он *«снижает рН, который может помешать репликации вируса»*, безусловно, неверно, поскольку препарат является слабым основанием и, таким образом, предотвратит снижение рН (ацидоз).

Последние мысли

Приведенное выше обсуждение ни в коем случае не является исчерпывающим списком неправильных утверждений или выводов в блоге. Тем не менее, я надеюсь, что было достаточно ясно дать понять, что сообщение в блоге и даже научная статья, которая, вероятно, вдохновила его, не должны рассматриваться как источник какого-либо значимого понимания SARS-CoV-2, как оно влияет на пациентов, или как этот вирус можно лечить. Что я до сих пор не знаю, так это то,

почему автор поста в блоге под псевдонимом решил представить такое неверное описание этой болезни и патофизиологии с такой уверенностью. То, что они зашли так далеко, что предложили методы лечения этой болезни, несмотря на отсутствие какой-либо медицинской подготовки, и практически в том же параграфе осуждают «кабинетных псевдо-врачей», которые выдвигают неверную информацию, поистине ошеломляют. Трагично, если это происходит из-за злого умысла,

Наконец, хотя я очень критически относился к автору этого поста в блоге, я должен отдать им должное за один очень пронизательный комментарий в самом конце, который я хочу выделить для похвалы:

«Как бы то ни было, я не знаю всей широты и масштабов, потому что я не врач».

С этим, по крайней мере, мы можем согласиться.

References Cited:

1. Zhang, H., et al., *Histopathologic Changes and SARS-CoV-2 Immunostaining in the Lung of a Patient With COVID-19*. Ann Intern Med, 2020.
2. Wenzhong, L. and L. Hualan, *COVID-19: Attacks the 1-Beta Chain of Hemoglobin and Captures the Porphyrin to Inhibit Human Heme Metabolism*. ChemRxiv, 2020.
3. Jubran, A., *Pulse oximetry*. Crit Care, 2015. **19**: p. 272.

4. Ganz, T., *Does Pathological Iron Overload Impair the Function of Human Lungs?* EBioMedicine, 2017. **20**: p. 13–14.
5. Galvan, J.M., O. Rajas, and J. Aspa, *Review of Non-Bacterial Infections in Respiratory Medicine: Viral Pneumonia.* Arch Bronconeumol, 2015. **51**(11): p. 590–7.
6. Wu, C., et al., *Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China.* JAMA Intern Med, 2020.
7. Gattinoni, L., et al., *Covid-19 Does Not Lead to a “Typical” Acute Respiratory Distress Syndrome.* Am J Respir Crit Care Med, 2020.
8. Coronado, L.M., C.T. Nadovich, and C. Spadafora, *Malarial hemozoin: from target to tool.* Biochim Biophys Acta, 2014. **1840**(6): p. 2032–41.
9. Fox, R.I., *Mechanism of action of hydroxychloroquine as an antirheumatic drug.* Semin Arthritis Rheum, 1993. **23**(2 Suppl 1): p. 82–91.
10. Liu, J., et al., *Hydroxychloroquine, a less toxic derivative of chloroquine, is effective in inhibiting SARS-CoV-2 infection in vitro.* Cell Discov, 2020. **6**: p. 16.