

# BIOLOGIJA I PATOGENEZA VIRUSA SARS-CoV-2

---

Lovrečić, Karlo

Undergraduate thesis / Završni rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:585461>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-02**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno – matematički fakultet  
Biološki odsjek

**BIOLOGIJA I PATOGENEZA VIRUSA SARS-CoV-2**

**BIOLOGY AND PATHOGENESIS OF SARS-CoV-2**

**ZAVRŠNI RAD**

Karlo Lovrečić

Preddiplomski studij biologije  
(Undergraduate study of Biology)

Zagreb, 2021.

Ovaj rad je izrađen na Zavodu za mikrobiologiju Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Silvije Černi.

## SADRŽAJ

1.	UVOD.....	1
2.	SISTEMATIKA VIRUSA SARS-CoV-2.....	2
3.	EVOLUCIJA I PORIJEKLO VIRUSA SARS-CoV-2.....	3
4.	BIOLOGIJA VIRUSA SARS-CoV-2.....	4
4.1.	Struktura viriona.....	4
4.2.	Genom.....	4
4.3.	Virusni proteini.....	5
4.3.1.	Strukturni proteini.....	5
4.3.2.	Nestrukturni proteini.....	8
4.4.	Replikativni ciklus.....	9
4.5.	Virusne varijante.....	10
5.	PATOGENEZA VIRUSA SARS-CoV-2.....	12
5.1.	Ulazak u stanicu i tkivni tropizam.....	12
5.2.	Imunosni odgovor.....	13
5.3.	Utjecaj dobi pacijenta na tijek infekcije.....	13
6.	BOLEST COVID-19.....	14
6.1.	Klinička slika.....	14
6.2.	Laboratorijska dijagnostika.....	14
6.2.1.	Molekularni testovi.....	15
6.2.2.	Serološki testovi.....	15
6.3.	Prevenција.....	16
6.4.	Cjepiva i antivirusni lijekovi.....	16
7.	ZAKLJUČAK.....	17
8.	LITERATURA.....	18
9.	SAŽETAK.....	28
10.	SUMMARY.....	29
11.	ŽIVOTOPIS.....	30

## 1. UVOD

Virus SARS-CoV-2 jest virus čije je širenje započelo krajem 2019. godine u Wuhanu i širenje virusa još uvijek traje (Zhu i sur. 2020). Ubrzo se proširio po cijelom svijetu te je Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) već u ožujku 2020 proglasila pandemiju. Glavna karakteristika bolesti COVID-19 koju uzrokuje virus SARS-CoV-2 jest akutna bolest dišnog sustava (Deng i Peng 2020).

Ovo je treći koronavirus, uz SARS-CoV i MERS-CoV, koji je izazvao bolest epidemijskog razmjera (Wang Q. i sur. 2020). Prema podacima WHO-a, do kraja kolovoza 2021. zabilježeno je preko 214 milijuna slučajeva zaraze na globalnoj razini, a oko 4,5 milijuna slučajeva zaraze završilo je smrću. Širenje virusa odvija se kapljicama i aerosolom u kojem su sadržani virusi. Do infekcije može doći direktnim i indirektnim kontaktom sa zaraženom osobom te zrakom (Jan i sur. 2020).

Od svoje pojave, pa do danas, SARS-CoV-2 je glavni predmet biomedicinskih istraživanja na globalnoj razini te postoji još uvijek mnoštvo nepoznanica vezanih uz sam virus. Prisutnost virusa u populaciji i nesavršen način replikacije doveli su do nastanka mutacija te samim time novih varijanti virusa koje predstavljaju ugrozu čovjeku. U ovom seminarskom radu dan je pregled najbitnijih značajki biologije i patogeneze samog virusa te bolesti koju uzrokuje.

## 2. SISTEMATIKA

Koronavirusi ime su dobili prema latinskoj riječi *corona* što znači kruna zbog izbojaka koji strše iz virusne ovojnice. Karakterizira ih jednolančani pozitivni RNA genom te činjenica da inficiraju respiratorni sustav velikog broja životinjskih vrsta. Unutar porodice *Coronaviridae* nalaze se dvije potporodice; *Coronavirinae* i *Torovirinae*. Potporodica *Coronavirinae* sadrži četiri roda: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* i *Deltacoronavirus* (Kalenić i sur. 2019).

Poznato je sedam koronavirusa uzročnika infekcija u ljudi. Tri koronavirusa, od sedam za koje je poznato da uzrokuju infekcije u ljudi, dovela su do izbijanja epidemije (Wu F. i sur. 2020). Koronavirusi uzročnici epidemija su SARS-CoV, MERS-CoV i SARS-CoV-2 te se pretpostavlja da su zoonotskog porijekla (Letko i sur. 2020).

Virus SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) uzročnik je bolesti COVID-19 (<https://www.who.int/> pristupljeno 29.8.2021.). Filogenetskom analizom utvrđeno je da virus SARS-CoV-2 pripada rodu *Betacoronavirus* (podrod *Sarbecovirus*) zajedno s virusom SARS-CoV i virusima srodnima SARS-u (SARSr-CoVs; SARS-related coronaviruses) pronađenima u šišmiša (*Coronaviridae* Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses 2020).

### 3. EVOLUCIJA I PORIJEKLO

Šišmiši su domadari virusima rodova *Alphacoronavirus* i *Betacoronavirus*. Najbliži poznati srodnik virusu SARS-CoV-2 jest virus RaTG13 izoliran iz šišmiša vrste *Rhinolophus affinis* u Kini, pokrajina Yunnan (Zhou P. i sur. 2020). Genom virusa RaTG13 96,2% je srodan genomu virusa SARS-CoV-2 (Zhou P. i sur. 2020). Velika sličnost u sekvencama genoma podržava hipotezu da je virus SARS-CoV-2 prešao sa šišmiša na ljude (Paraskevis i sur., 2020). Sekvenca virusa RmYN02 izoliranog iz vrste *Rhinolophus malayanus* poklapa se 93,3% sa sekvencom virusa SARS-CoV-2 (Zhou P. i sur. 2020). Uz viruse RaTG13 i RmYN02 otkriveni su i drugi koronavirusi u šišmiša srodni virusu SARS-CoV-2 te ta činjenica ide u korist hipotezi da su šišmiši izvor virusa SARS-CoV-2 (Lau i sur. 2020). Temeljem ovih podataka smatra se da koronavirusi izolirani iz šišmiša mogu biti samo evolucijski prekursor virusa, a ne direktan predak. Nepodudarni dijelovi sekvenci predstavljaju desetljeća divergentne evolucije (Zhang i sur. 2020).

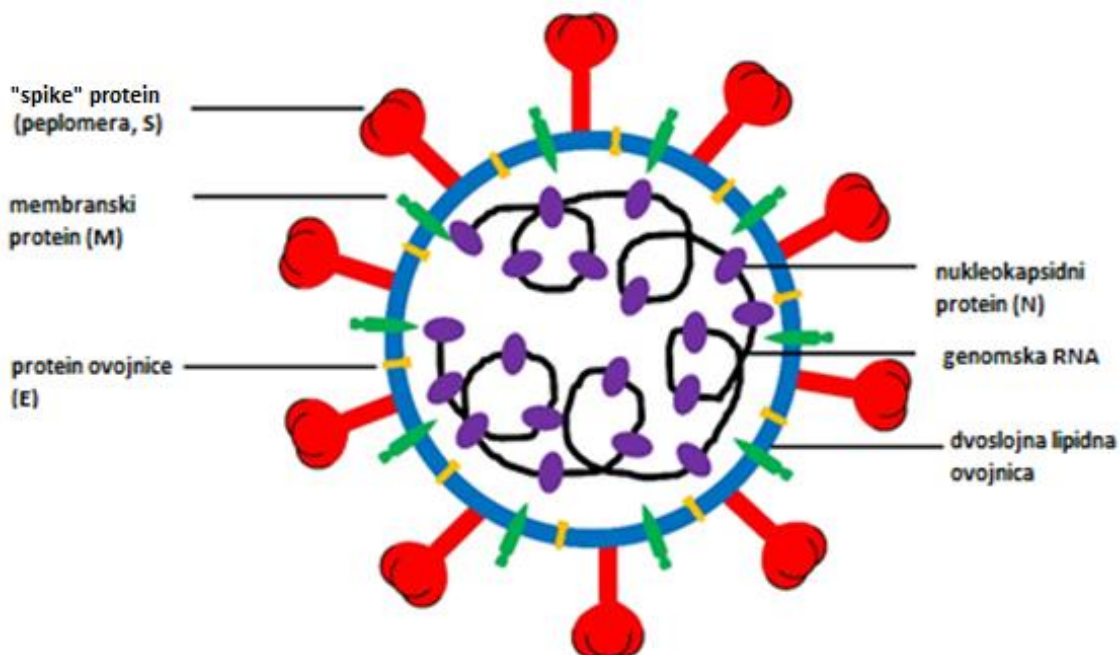
Pangolini su još jedan domaćin koronavirusima sličnim virusu SARS-CoV-2. Virusi srodni virusu SARS-CoV-2 uočeni su u tkivima malajskih pangolina s jugoistoka Azije. Virusi su podijeljeni u dva soja ovisno o tome koju pokrajinu su pangolini naseljavali (pokrajine Guangdong i Guangxi) (Lam i sur. 2020, Xiao i sur. 2020, Liu i sur. 2019). Sekvence virusa soja Guangdong podudarne su 92,4% sa sekvencom virusa SARS-CoV-2 (Xiao i sur. 2020), a sekvence virusa soja Guangxi pokazuju podudarnost sekvence genoma od 85,5% sa sekvencom virusa SARS-CoV-2 (Lam i sur. 2020). Pangolini, za razliku od šišmiša, kao nosioci korona virusa pokazuju kliničke znakove infekcije i promjene na histopatološkoj razini (Xiao i sur. 2020). Pojava kliničkih znakova infekcije u pangolina ide u korist hipoteze da pangolini nisu izvor ovih koronavirusa već da su virusi preneseni na njih od strane prirodnog domadara.

Dosadašnje saznanja govore nam da postoje razni koronavirusi slični virusu SARS-CoV-2 u prirodi. Nije poznato kako je virus SARS-CoV-2 prenesen na čovjeka s prirodnog domadara ili međudomadara, pošto prirodni domadar i međudomadar još uvijek nisu poznati (Hu i sur. 2021).

## 4. BIOLOGIJA VIRUSA SARS-CoV-2

### 4.1. Struktura viriona

Infektivna čestica (virion) SARS-CoV-2 sferičnog je oblika, no pojavljuju se pleziomorfni i ovalni oblici. Virusna ovojnica građena je od 3 proteina: protein S (engl. *spike protein*, hrv. peplomera, izbojak), protein E (engl. *envelope protein*, hrv. protein ovojnice) i protein M (engl. *membrane protein*, hrv. membranski protein) (Lu i Shi 2020, Chen N. i sur. 2020). Četvrti protein, protein N (engl. *nucleocapsid protein*, hrv. nukleokapsidni protein), jest RNA-vezujući protein bitan za pakiranje virusnog genoma (Slika 1.) (Cubuk i sur. 2021).



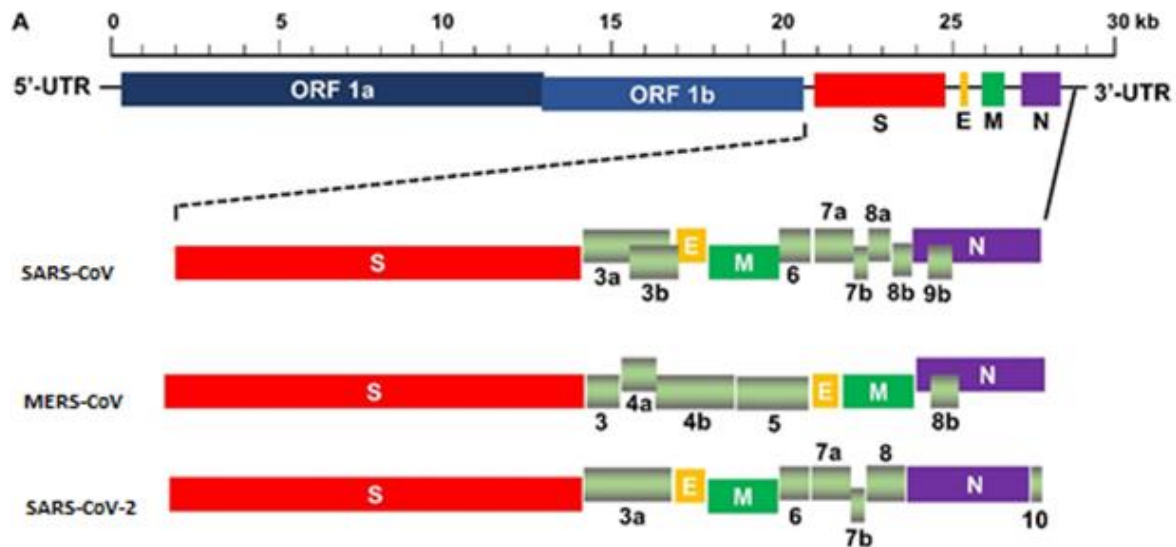
**Slika 1.** Shematski prikaz strukture virusa SARS-CoV-2. Preuzeto i prilagođeno iz Wang N. i sur 2020.

### 4.2. Genom

Genom virusa SARS-CoV-2 je jednolančana linearna RNA molekula pozitivnog smisla duljine 29,903 parova baza (Chen N. i sur. 2020, Lu i Shi 2020, Wu F. i sur. 2020, Wu i McGoogan 2020, Chatterjee 2020). Analizom slijeda nukleotida došlo se do spoznaje da genom virusa SARS-CoV-2 sadrži 14 otvorenih okvira čitanja (engl. *open reading frame*; ORF) koji kodiraju 29 proteina (Wu D. i sur. 2020). 5' kraj genoma sadrži ORF1ab i ORF1a. ORF1ab kodira poliprotein pp1ab koji sadrži 15 nestrukturalnih proteina (engl. *non-structural proteins*; nsp(s)). Nestrukturalni proteini sadržani u pp1ab su Nsp1-Nsp10 i Nsp12-Nsp16 (15 proteina).



Strukturni proteini S, N, M i E kodirani su 3' krajem genoma (Asghari i sur. 2020). Između gena za strukturne proteine S-E-M-N nalaze se dodatni proteini (engl. *accessory proteins*) (Slika 2.).



**Slika 2.** Shematski prikaz organizacije genoma virusa SARS-CoV, MERS-CoV i SARS-CoV-2. Uspoređeni su okviri čitanja. Prikazan je položaj gena za strukturne proteine S (engl. *spike protein*, hrv. peplomera, izbojak), E (engl. *envelope protein*, hrv. protein ovojnice), M (engl. *membrane protein*, hrv. membranski protein) i N (engl. *nucleocapsid protein*, hrv. nukleokapsidni protein). Također su prikazani dodatni proteini 3a, 3b, 6, 7a, 7b, 8a, 8b i 9b (za SARS-CoV); 3, 4A, 4B, 5 i 8B (za MERS-CoV); 3a, 6, 7a, 7b, 8 i 10 (za SARS-CoV-2). Označene su regije 5'-UTR i 3'-UTR (engl. *untranslated regions*; UTR, hrv. netranslatirajuće regije). Kb, parovi kilobaza. Preuzeto i prilagođeno iz Wang N. i sur. 2020.

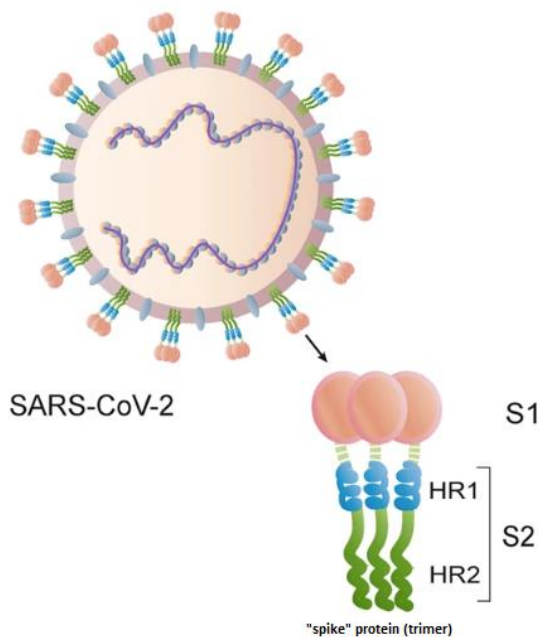
### 4.3. Virusni proteini

#### 4.3.1. Strukturni proteini

Strukturni protein S (engl. *spike protein*, hrv. peplomera) je glikoprotein koji čestici koronavirusa daje izgled nalik kruni. Strukturni protein E (engl. *envelope protein*, hrv. protein ovojnice) sudjeluje u sklapanju virusnih čestica i izlasku virusnih čestica iz stanice domaćina (Schoemann i Fielding 2019). Strukturni protein M, membranski glikoprotein, prolazi kroz cijelu lipidnu ovojnicu te je najzastupljeniji protein u virusa. Jedna od zadaća strukturnog proteina N jest da pakira virusni RNA genom tj. tvori nukleokapsidu. Nukleokapsidni protein sudjeluje u interakciji s membranskim proteinom tijekom sklapanja virusnih čestica i pospješuje efikasnost procesa sklapanja virusnih čestica i transkripcije (Lu i Shi 2020, Chen N. i sur. 2020).

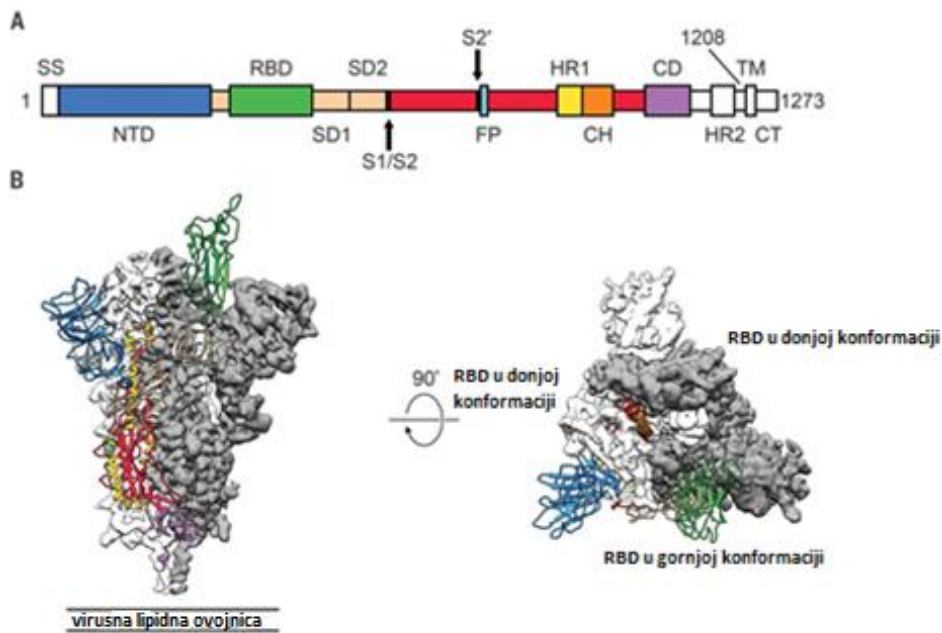
Protein S (engl. *spike protein*) pripada skupini 1 fuzijskih glikoproteina. „Spike“ protein jedan je od ključnih faktora pri povezivanju viriona i stanice domaćina. Veličina proteina S

virusa SARS-CoV-2 jest 1273 aminokiselina te se razlikuje od proteina S ostalih srodnih koronavirusa (Huang Y. i sur. 2020). Sam protein je homotrimer s jednom gornjom (engl. *upper*) i dvije donje (engl. *lower*) konformacije (Walls i sur. 2020, Luan i sur. 2020, Ou i sur. 2020, Yan i sur. 2020). Sastoji se od podjedinica S1 i S2 (Slika 3.). Podjedinica S1 sadrži N-terminalnu domenu (NTD) i receptor vezujuću domenu (RBD). Uloga S1 podjedinice jest vezanje za receptor na stanici domaćina. S2 podjedinica sadrži fuzijski peptid (engl. *fusion peptide*, FP), regiju sedmerostrukog ponavljanja 1 (engl. *heptad repeat 1*, HR1), središnju zavojnicu (engl. *central helix*; CH), domenu za povezivanje (engl. *connector domain*, CD), regiju sedmerostrukog ponavljanja 2 (engl. *heptad repeat 2*, HR2), transmembransku domenu (engl. *transmembrane domain*, TM) i citoplazmatski rep (engl. *cytoplasmic tail*, CT). Uloga podjedinice S2 jest fuzija membrane virusa i stanice domaćina (Walls i sur. 2020, Wrapp i sur. 2020).



**Slika 3.** Shematska struktura proteina S (trimer) virusa SARS-CoV-2 (engl. spike protein, hrv. peplomera, izbojak). S1 i S2 su podjedinice proteina S. HR1, regija sedmerostrukog ponavljanje 1. HR2, regija sedmerostrukog ponavljanje 2. Preuzeto iz Huang Y. i sur. 2020.

Protein S ima dva konformacijska stanja: zatvoreno/postfuzijsko i otvoreno/prefuzijsko stanje. Za zatvoreno konformacijsko stanje karakteristično je da nijedna od tri receptor-vezujuće domene (RBD) ne izviruje iz proteina S. U otvorenom stanju jedna RBD je u gornjoj (engl. *upper*) konformaciji. Otvoreno stanje potrebno je za fuziju virusa SARS-CoV-2 s membranom domaćina kako bi virus ušao u stanicu (Slika 4.) (Walls i sur. 2020, Wrapp i sur. 2020).

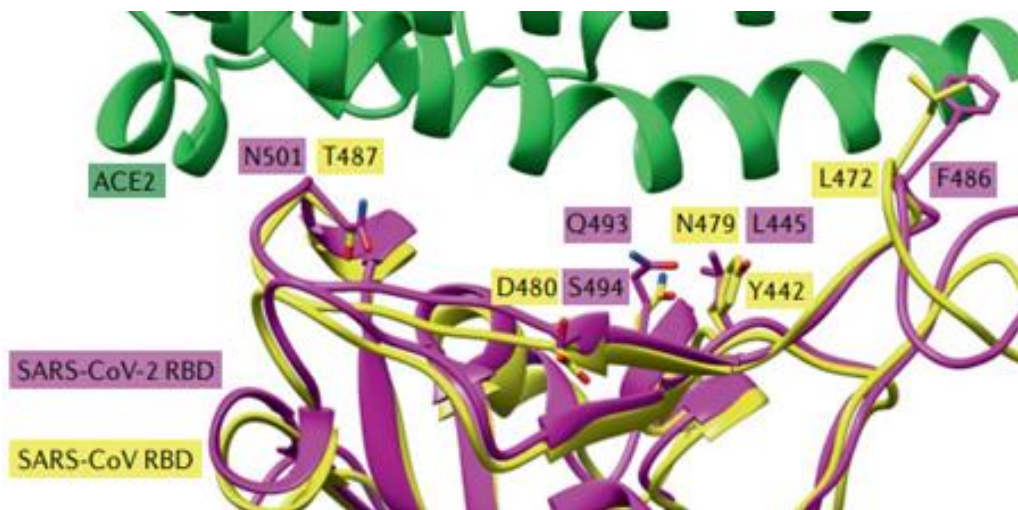


**Slika 4.** Struktura proteina S virusa SARS-CoV-2 u prefuzijskoj/otvorenoj konformaciji. **(A)** Shema primarne strukture proteina S virusa SARS-CoV-2. Domene koje nisu prikazane pod B) obojane su bijelom bojom pod A). Oznake: SS, signalna sekvenca; S2', S2' mjesto cijepanja od strane proteaze; FP, fuzijski peptid; HR1, regija sedmerostrukog ponavljanja 1; CH, središnja zavojnica; CD, domena za povezivanje; HR2, regija sedmerostrukog ponavljanja 2; TM, transmembranska domena; CT, citoplazmatski rep. Strelice označavaju mjesto gdje cijepaju proteaze. **(B)** Pogled na prefuzijsku/otvorenu konformaciju proteina S virusa SARS-CoV-2 odozgora (desno) i sa strane (lijevo). Jedna receptor-vezujuća domena (engl. *receptor-binding domain*, RBD) je u gornjoj (engl. *upper*) konformaciji, a dvije receptor-vezujuće domene su u donjoj (engl. *down*) konformaciji. Dva monomera u donjoj konformaciji prikazana su bijelo ili sivo, a monomer u gornjoj konformaciji prikazan je vrpčama u bojama koje odgovaraju prikazu pod A). Preuzeto i prilagođeno iz Wrapp i sur. 2020.

Regija sedmerostrukog ponavljanja 1 (engl. *heptad repeat 1*, HR1) i regija sedmerostrukog ponavljanja 2 (engl. *heptad repeat 2*, HR2) tvore paket od šest zavojnica (engl. *the six-helical bundle*, 6-HB). 6-HB igra važnu ulogu u fuziji membrana te zbog toga HR1 i HR2 meta za potencijalne lijekove (Xia S. i sur. 2020).

Receptor-vezujuće domene virusa SARS-CoV-2 i virusa SARS-CoV sadrže 79,5% podudarnih slijedova u sekvenci (He i sur. 2020). Između S1 i S2 nalazi se regija, koja se sastoji od četiri aminokiseline (RRAR; R - arginin, A - alanin), uključena u cijepanje od strane proteaza poput furina (Coutard i sur. 2020). Regija za cijepanje između podjedinica S1 i S2 nije uočena u drugih koronavirusa, izuzev insercije PAA (P - prolin) u virusa RmYN02 čiji domadar su šišmiši. (Zhou H. i sur. 2020).

Receptor-vezujuća domena (RBD) je regija na C-terminalnoj domeni podjedinice S2 proteina S koju čini 211 aminokiselina (aminokiseline na položaju 319-529). Ima ključnu ulogu pri ulasku virusa u stanicu i meta je neutralizirajućih antitijela (Shang i sur. 2020a, Walls i sur. 2020). Receptor-vezujući motiv (engl. *receptor-binding motif*; RBM) posreduje kontakt s receptorom ACE2. RBM čine aminokiseline na položajima 437-507 proteina S i ta regija se u 5 aminokiselina razlikuje od RBM kod virusa SARS-CoV. Razlike u RBM igraju važnu ulogu pri vezanju za ACE2. Razlike su: Y455L (Y - tirozin, L - leucin), L486F (L - leucin, F - fenilalanin), N493Q (N - asparagin, Q - glutamin), D494S (D - asparaginska kiselina, S - serin), T501N (T - treonin, N - asparagin) (Slika 5.) (Wan i sur. 2020). Motiv od 4 aminokiseline na položajima 482-485 RBM dodatno stabilizira vezanje virusa SARS-CoV-2 za receptor ACE2 i omogućuje bolji kontakt s N-terminalnom zavojnicom ACE2 (Shang i sur. 2020b).



**Slika 5.** Usporedba strukture receptor-vezujuće domene (RBD) virusa SARS-CoV-2 i SARS-CoV u kompleksu sa staničnim receptorom ACE2. Receptor-vezujući motiv (RBM) virusa SARS-CoV-2 prikazan je ljubičasto, RBM virusa SARS-CoV prikazan je žuto, a ACE2 receptor zeleno. Označeni su svih 5 kritičnih aminokiselinskih ostataka koji sudjeluju u vezanju RBM i ACE2. Preuzeto i prilagođeno iz Anderson i sur. 2020.

#### 4.3.2. Nestrukturni proteini

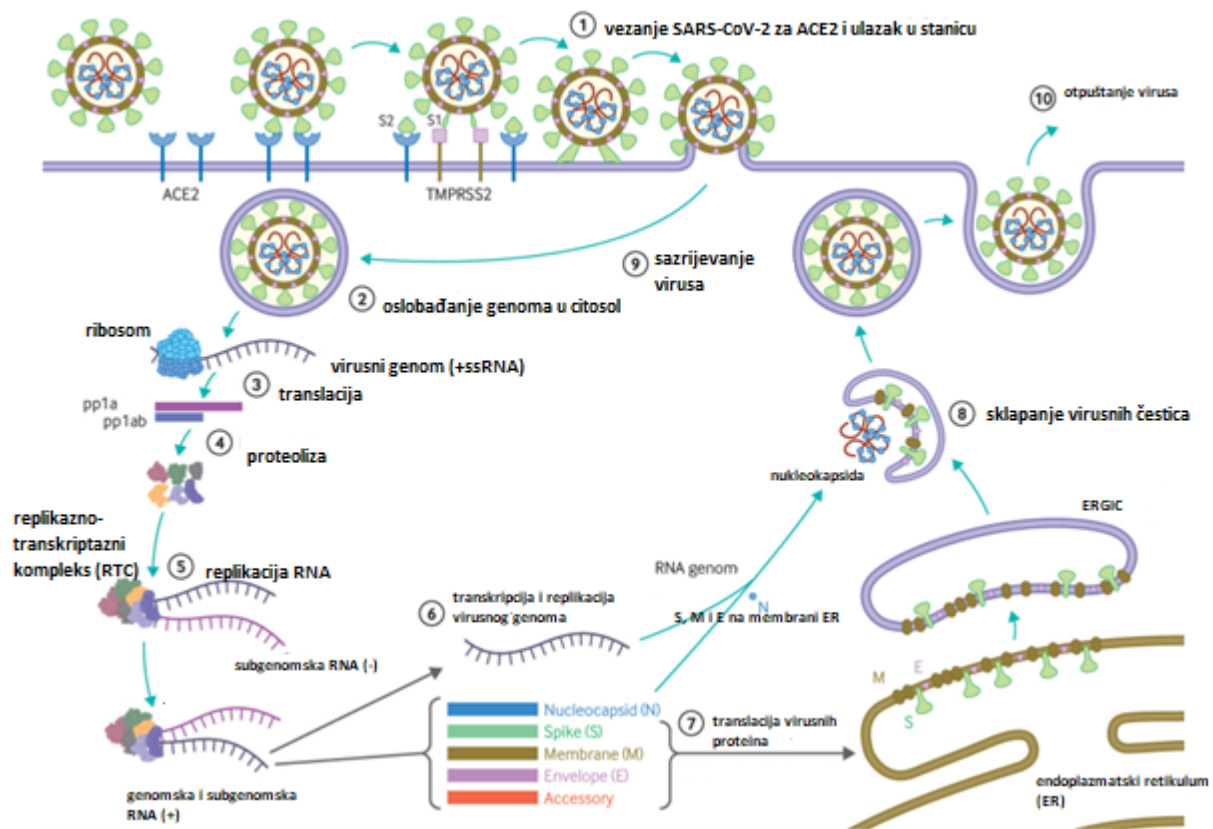
Virus SARS-CoV-2 sadrži 15 nestrukturnih proteina (Nsp1-10 i Nsp12-16). Nsp1 posreduje u procesiranju RNA i replikaciji. Nsp2 djeluje na signalne puteve stanice domaćina. Za Nsp3 se smatra da ima ulogu u odvajanju transliranog proteina od ribosoma. Nsp4 sadrži transmembransku domenu 2 (engl. *transmembrane domain 2*, TM2) i modificira membrane endoplazmatskog retikuluma. Nsp5 jest proteaza koja ima bitnu ulogu u sintezi proteina virusa. Nsp6 je transmembranski protein. Nsp7 i Nsp8 imaju pozitivan utjecaj na nastajanje kompleksa Nsp12 i kalup-početnica. Nsp9 ima funkciju veznog proteina za jIRNA (SSB). Nsp10 je ključan

za metilaciju virusnih mRNA. Nsp12 sadrži RNA-ovisnu RNA polimerazu (RdRp). Nsp 13 sadrži veznu domenu za cink, veže ATP, te sudjeluje u procesima replikacije i transkripcije. Nsp14 ima lektorirajuću aktivnost. Nsp15 ima Mn(2+)-ovisnu endoribonukleaznu aktivnost. Nsp16 je 2'-O-riboza metiltransferaza (Naqvi i sur. 2020).

Nestrukturani proteini također djeluju na razini domaćinske stanice kako bi spriječili obranu od virusa. Primjerice, Nsp16 veže domenu U1 i U2 snRNA (engl. small nuclear RNA, hrv. mala jezgrina RNA) koja prepoznaje mRNA domaćina i na taj način suprimira njeno prekrajanje. Nsp1 se veže za 18S rRNA u mRNA ulaznom kanalu ribosoma te na taj način inhibira translaciju mRNA domaćina (Banerjee i sur. 2020). U koronavirusu, Nsp16 u kompleksu s Nsp10, metilira 5' kraj virusne RNA i tako je štiti od napada restrikcijских enzima (Chatterjee 2020).

#### 4.4. Replikacija virusa

Replikacijski ciklus virusa SARS-CoV-2 započinje vezanjem proteina S (peplomere) za receptor ACE2 (engl. *angiotensin-converting enzyme 2*, hrv. angiotenzin-konvertirajući enzim 2). Uspješan ulazak virusa u stanicu ovisi o cijepanju regije na spoju podjedinica S1 i S2 proteina S od strane domaćinskih proteaza poput transmembranske serinske proteaze 2 (engl. *transmembrane protease serine 2*, TMPRSS2), katepsina L (engl. *cathepsin L*) i furina. Nakon ulaska endocitozom, RNA genom je oslobođen u citosol gdje se translatira u proteine koji sudjeluju u replikaciji (ORF1a/b, otvoreni okvir očitavanja 1a/b). Poliproteini (pp1a ipp1b) se cijepaju od strane proteaze kodirane virusnim genomom i nastaju nestrukturani proteini. Replikacija virusne RNA započinje u vezikulama nastalima modifikacijom endoplazmatskog retikuluma. Vezikule tvore uvijeni sustav membrane gdje jIRNA pozitivnog smisla služi kao kalup za sintezu jIRNA negativnog smisla i subgenomskih RNA (sgRNA). Translacija subgenomskih RNA rezultira sintezom strukturalnih i dodatnih proteina koji odlaze do odjeljka ER-Golgi (ERGIC) u kojem se odvija sklapanje viriona. Strukturni proteini S, M i E su transkribirani i translaterani u hrapavom endoplazmatskom retikulumu (engl. *rough endoplasmatic reticulum*, RER) i nakon toga su transportirani u Golgijev aparat (engl. *the Golgi apparatus*, GA). U RER i GA protein S prolazi kroz kotranslacijsko i posttranslacijsko procesiranje u koje je uključeno uklanjanje signalnog peptida, trimerizacija, glikozilacija i cijepanje podjedinica. Naposljetku se jednolančani RNA genomi pozitivnog smisla umeću u novosintetizirane proteine te izlaze iz stanice egzocitozom (Slika 4) (Lu R. i sur. 2020, Snijder i sur. 2006, Wu i Brian 2010, Duan L. i sur. 2020).



**Slika 5. Shematski prikaz ciklusa virusa SARS-CoV-2.** (1) Virus se veže za receptor ACE2 u sinergiji s transmembranskom serinskom proteazom 2 (TMPRSS2) koja je eksprimirana u epitelnim stanicama dišnog sustava i endotelnim vaskularnim stanicama. Nakon toga dolazi do fuzije stanične membrane i virusne lipidne ovojnice i oslobađanja virusnog genoma u citoplazmu domaćina (2). Koraci (3-7) pokazuje ostale korake ciklusa virusa SARS-CoV-2, a to su replikacija genoma i sinteza virusnih proteina što vodi do sklapanja novih virusnih čestica i njihovog otpuštanja iz stanice. Preuzeto i prilagođeno iz Cevik i sur. 2020.

#### 4.5. Virusne varijante

Koronavirusi su jako varijabilni, što je posljedica strukture genoma (labilna RNA) i njegove replikacije enzimom RNA-ovisne RNA polimeraze. Tijekom replikacije do pogreške dolazi u jednom na svakih 10 tisuća ugrađenih nukleotida (Wang Y. i sur. 2020) te se zbog brze i česte replikacije pogreške gomilaju te nastaju nove virusne varijante. Nove varijante opasne su zbog toga što će se u mnoštvu njih pojaviti i one koje karakterizira efikasnija replikacija i brže rasprostranjivanje što može dovesti do veće infektivnosti i virulencije te veće smrtnosti. Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije, od pojave pandemije do danas, opisan je velik broj virusnih varijanti (20), a neke od najpoznatijih su tzv. britanski soj (alpha), južnoafrički soj (beta), brazilski soj (gamma) i indijski soj (delta) itd. (<https://www.who.int/> pristupljeno 19.9.2021.).

Prva mutacija koja je dovela do značajnih promjena u svojstvima virusa SARS-CoV-2 jest mutacija na karboksi(C)-terminalnoj regiji S1 domene. Mucacija je uočena u ožujku/travnju 2020. i karakterizira je supstitucija aspartata (D) s glicinom (G) na poziciji 614 (D614G). Novo svojstvo koje je ova mutacija donijela jest efikasnija replikacija i prijenos virusa te je ova varijanta (alpha) ubrzo postala dominantna na globalnoj razini (Plante i sur. 2020).

Takozvani britanski soj (alpha) prvi put je identificiran u rujnu 2020. na jugu Ujedinjenog Kraljevstva. Sadrži devet mutacija proteina S i to tri delecije te šest supstitucija (Meng i sur. 2021). Ova varijanta je od 25 do 40 posto infektivnija što je uzrokovalo povećan broj zaraza i hospitaliziranih pacijenata. Varijanta zvana južnoafrički soj (beta) prvi put je identificirana u prosincu 2020. u Južnoj Africi te mutacije karakteristične za ovaj soj nalikuju mutacijama koje su dovele do pojave britanskog soja (Faria i sur. 2021). Brazilski soj (gamma) identificiran je u državama Južne Amerike te sadrži 17 mutacija, od kojih su 3 vezane uz protein S i povezane su s efikasnijim vezanjem za ACE2 receptor (Faria i sur. 2021). Indijski soj (delta) prvi put je identificirana u Indiji te je trenutno prisutna na globalnoj razini (Rubin i sur. 2021).

## 5. PATOGENEZA VIRUSA SARS-CoV-2

### 5.1. Ulazak u stanicu i tkivni tropizam

Virus SARS-CoV-2, kao i virus SARS-CoV, veže se za receptorski protein ACE2 kako bi ušao u stanicu. Istraživanja pokazuju da je interakcija između proteina S i staničnog receptora ACE2 od 10 do 20 puta jača nego ista interakcija kod virusa SARS-CoV (Wrapp i sur. 2020). Treći koronavirus koji je izazvao bolest epidemijskog razmjera, MERS-CoV, za ulaz u stanicu koristi protein dipeptidil peptidazu 4 (engl. *dipeptidyl peptidase 4*, DPP4) kao receptorski protein, za koji se veže RBD (CTD) regijom (Wang Q. i sur. 2020). Ulazak virusa SARS-CoV-2 u stanicu posredovan je proteinom S kako je opisano u poglavlju 4.4. (Replikacija virusa). Virus inficira razne vrste stanica, uključujući alveolarne epitelne stanice, vaskularne endotelne stanice i alveolarne makrofage. Uočena je visoka koekspresija transmembranske serinske proteaze 2 i receptorskog proteina ACE2 u pojedinim tkivima (epitelne stanice nosne šupljine, pluća i ogranak bronha) što ide u korist hipotezi da virus SARS-CoV-2 pokazuje tkivni tropizam prema dišnom sustavu (Sungnak i sur. 2020, Lukassen i sur. 2020, Hou i sur. 2020). Razina ekspresije receptorskog proteina ACE2 i transmembranske serinske proteaze 2 je visoka i unutar probavnog trakta što objašnjava česte probavne smetnje u ljudi oboljelih od COVID-19 (Cholankeril i sur. 2020, Xiao i sur. 2020).

Mjesto cijepanja između podjedinica S1 i S2 može se pocijepati proteazom furin i time smanjiti ovisnost SARS-CoV-2 o staničnim proteazama TMPRSS2 i katepsin L, a furin je visoko eksprimiran u ljudskim bronhalnim epitelnim stanicama (Follis i sur. 2006, Lukassen i sur. 2020). Ekspresija staničnih gena koji sudjeluju u pro-SARS-CoV-2 (integracija genetskog materijala virusa u genom domaćina) ciklusu je visoka u alveolarnim stanicama tipa II koje također sadrže velik broj ACE2 receptora (Zhao i sur. 2020).

Ekspresija staničnih gena koji sudjeluju u pro-SARS-CoV-2 ciklusu je visoka u alveolarnim stanicama tipa II koje također sadrže velik broj ACE2 receptora (Zhao i sur. 2020). Istraživanja pokazuju da je interakcija između proteina S i staničnog receptora ACE2 od 10 do 20 puta jača nego ista interakcija kod virusa SARS-CoV (Wrapp i sur. 2020). Virus SARS-CoV-2 ulazi u alveolarne stanice tipa II s visokom ekspresije receptora ACE2 i drugim genima potrebnim za produktivnu replikaciju virusa SARS-CoV-2. U epitelnim stanicama dišnih puteva u čovjeka genska ekspresija receptora ACE2 regulirana je naviše (engl. *upregulated*) od strane interferona tipa I i II koji se luči tijekom infekcije virusom (Ziegler i sur. 2020, Smith i sur. 2020).



## 5.2. Imunosni odgovor

Nakon ulaska virusa u stanicu dolazi do inicijalnog upalnog odgovora koji privlači specifične T limfocite na mjesto infekcije. Ove stanice eliminiraju inficirane stanice kako bi se širenje virusa zaustavilo i u mnogih ljudi dolazi do oporavka (Blanco-Melo i sur. 2020).

Pri ulasku virus je detektiran od strane citosolnih imunosnih senzora (engl. *cytosolic innate immune sensors*) i endosomalnih receptora tipa toll (engl. *toll-like receptors*, TLRs) koji signaliziraju početak sinteze interferona tipa I/III i medijatora upale. Visoka koncentracija upalnih citokina i kemokina dovodi do povećanog oštećenja tkiva uzrokovanog vazodilatacijom i endotelnom disfunkcijom. To omogućava regrutaciju makrofaga i neutrofila. Povećana propusnost krvnih žila i kompromitirana funkcija barijere dovode do upale krvnih žila i plućnog edema što rezultira hipoksijom i dovodi do kolabiranja dišnog sustava. Upala inducira akumulaciju stanica imunosnog sustava koja može dovesti do kolabiranja dišnog sustava. Jaka upala pluća vodi do nepovratnog oštećenja. (Puntmann i sur. 2020, Liao i sur. 2020, Qin i sur. 2020, Chen N. i sur. 2021, Nicholls i sur. 2003, Channappanavar i Perlman 2017, Varga i sur. 2020, Hadjadj i sur. 2020).

## 5.3. Utjecaj dobi pacijenta na tijek infekcije

Ljudi svih uzrasta podložni su infekciji virusom SARS-CoV-2. Medijan dobi ljudi inficiranih virusom SARS-CoV-2 jest oko 50 godina (Wu i McGoogan 2020, Chen N. i sur. 2020, Huang C. i sur. 2020, Wang D. i sur. 2020). Klinička slika zaraženih razlikuje se ovisno o dobi, spolu i ima li zaražena osoba ikakvih komorbiditeta. Muškarci stariji od 60 godina s komorbiditetima imaju veće šanse za razvoj pneumonije. Samim time je veća mogućnost hospitalizacije i smrti. Najčešći komorbiditeti kod bolesti COVID-19 su dijabetes, hipertenzija i kardiovaskularne bolesti. U većine mladih ljudi i djece klinička slika jest blaga ili asimptomatska (Wu i McGoogan 2020, Guan i sur. 2020, Lu X. i sur. 2020). Stariji su ljudi podložniji težem obliku bolesti COVID-19.

Starija dob pacijenata oboljelih od COVID-19 povezana je sa višom stopom smrtnosti, hospitalizacija i težeg oblika bolesti (Wu J. i sur. 2020, Chow i Chen 2021, Yang X. i sur. 2020). Smatra se da je razlog tome smanjen kapacitet CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> T-limfocita za proizvodnju interferona gama (IFN- $\gamma$ ) i interleukina-2 (IL-2) što za posljedicu ima smanjenu aktivaciju limfocita T od strane dendritičkih stanica (engl. *dendritic cells*, DCs) u pacijenata starijih od 55 godina (Zhou R. i sur. 2020). Potrebna su istraživanja s virusom SARS-CoV-2 koja bi dokazala

postoji li utjecaj smanjenja broja dendritičkih stanica u plućima starijih pacijenata na njihov imunosni odgovor.

## 6. BOLEST COVID-19

### 6.1. Klinička slika

Virus SARS-CoV-2 rasprostranjuje se kapljicama i aerosolom u kojem su sadržani virusi. Čovjek se može zaraziti direktnim i indirektnim kontaktom sa zaraženom osobom te zrakom (Jan i sur. 2020). Period inkubacije je otprilike 5 dana nakon zaraze, do težeg oblika bolesti dolazi otprilike nakon 8 dana nakon zaraze, a kritično stanje i smrt se pojavljuju otprilike 16 dana nakon zaraze, tj. početka inkubacijskog perioda (Wu Z. i sur. 2020, Liu i sur. 2020, Tian i sur. 2020). Najčešći simptomi bolesti COVID-19 su vrućica, umor i suhi kašalj. Manje česti simptomi uključuju iskašljavanje sluzi, iskašljavanje krvi, glavobolju, proljev, grlobolju, bol u prsima, groznicu, mučnine i povraćanje, anoreksiju i bol u prsima (Wang D. i sur. 2020, Guan i sur. 2020, Chen H. i sur. 2020, Huang i sur. 2020). Česta pojava jest gubitak osjeta njuha i okusa, što je rezultat ulaska virusa u olfaktorni epitel. Infekcija može dovesti do unutarbubrežnog krvarenja, oštećenja srca, oštećenja neurona, nekroze limfnih čvorova, povećanja jetre te atrofije slezene. Simptomi mučnina i povraćanje idu u prilog hipotezi da virus SARS-CoV-2 inficira gastrointestinalne epitelne žljezdane stanice (Shi i sur. 2020, Chan i sur. 2020, Beigel i sur. 2020, Duan K. i sur. 2020, Shen i sur. 2020, Wang D. i sur. 2020, Wu i sur. 2020). Uz nestanak simptoma infekcije, koncentracija virusne RNA se smanjuje i smatra se da inficirani pacijenti 10 dana nakon nestanka simptoma nisu zarazni (Wölfel i sur. 2020).

### 6.2. Laboratorijska dijagnostika

Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije, na globalnoj razini potvrđeno je preko 214 milijuna slučajeva zaraze virusom SARS-CoV-2, od kojih je oko 4,5 milijuna završilo smrću (<https://www.who.int/> pristupljeno 29.8.2021.). Republika Hrvatska je do 29.8.2021. zabilježila preko 370 tisuća slučajeva zaraze virusom SARS-CoV-2, od kojih je oko 8300 završilo smrću. Broj aktivnih slučajeva u Hrvatskoj dana 29.8.2021. iznosi 3331 (<https://www.koronavirus.hr/> pristupljeno 29.8.2021.).

Laboratorijski dijagnostički testovi mogu se podijeliti u dvije skupine ovisno o tome što detektiraju. Prva skupina su molekularni testovi koji detektiraju genetski materijal virusa SARS-CoV-2. Druga skupina testova su serološki testovi i oni detektiraju prisutnost antigena (virusnog proteina) ili antitijela nastalih nakon kontakta s virusnim česticama (Patel i sur. 2020).

### 6.2.1. Molekularni testovi

Zlatni standard za detekciju koronavirusa je lančana reakcija polimerazom uz prethodnu reverznu transkripciju (engl. *reverse transcription polymerase chain reaction*, RT-PCR) (Houng i sur. 2004). Geni najčešće korišteni za detekciju virusa SARS-CoV-2 metodom RT-PCR su geni regije ORF1ab/RdRp, E, N i S (Corman i sur. 2020). Molekularni testovi maksimalnu osjetljivost pokazuju tek oko 7 dana nakon kontakta zaražene osobe s virusom, zbog toga je posebno važno uzeti u obzir mogućnost dobivanja lažno negativnog rezultata u početnom stadiju infekcije virusom. Nakon otprilike dvanaest dana od prvih simptoma infekcije, osjetljivost testova počinje postupno slabiti i povećava se mogućnost dobivanja lažno negativnog rezultata zbog smanjenja broja virusnih čestica u dišnom epitelu (Patel i sur. 2020, Bai i sur. 2020, Rothe i sur. 2020, Xia J. i sur. 2020, Hanson i sur. 2020). Najpogodniji uzorci za dijagnostiku su ispljuvak te brisevi nosne i nosnoždrijelne sluznice (Yang Y. i sur. 2020).

Najviša koncentracija RNA virusa SARS-CoV-2 u uzorku je čak oko 1000 puta veća nego kod infekcije virusima SARS-CoV i MERS-CoV te se postiže 2-5 dana ranije nego kod infekcija ostalim koronavirusima (Wölfel i sur. 2020). Posljedično, visoka koncentracija novonastalih virusnih čestica SARS-CoV-2 u uzorku te mala doza istih potrebna da bi došlo do infekcije odgovorni su za uspješan prijenos virusa te visoku infektivnost.

### 6.2.2. Serološki testovi

Serološki testovi detektiraju antitijela u krvnom serumu ili krvi te antigene u uzorcima ispljuvka (engl. *sputum*) iz dišnog sustava. Testovi koji pripadaju u ovu skupinu su brzi dijagnostički test (engl. *rapid diagnostic test*, RDT), kemiluminescentni imunološki test (engl. *chemiluminescent immunoassay*, CIA), ELISA (engl. *enzyme-linked immunosorbent assay*) i neutralizacijski test (Wu D. i sur. 2020, Li i sur. 2020, Butowt i Bilinska 2020). Većina testova koji detektiraju antitijela u uzorku seruma ili krvi su brzi testovi (RDT) i njihova prednost je jednostavno korištenje te kratko trajanje samog postupka. Glavni nedostatak brzog testa je taj što test nije kvantitativan i odgovara isključivo na pitanja postoje li antitijela uopće (Mak i sur. 2020).

Antigenski testovi detektiraju virusne proteine eksprimirane od strane virusa SARS-CoV-2 u uzorcima iz dišnog sustava. Test je najbolje koristiti u ranim stadijima infekcije kada je koncentracija antigena virusa SARS-CoV-2 visoka (Wu Y. i sur. 2020).

### 6.3. Prevencija

Svjetska zdravstvena organizacija izdala je upute kako prevenirati infekciju i usporiti prijenos virusa. Upute govore kako su ključ prevencije socijalno distanciranje, dezinfekcija i pranje ruku te izbjegavanje kontakata s drugim ljudima ukoliko postoje simptomi nalik simptomima infekcije virusom SARS-CoV-2 (<https://www.who.int/> pristupljeno 29.8.2021.). Uloga epidemioloških mjera jest usporiti rasprostranjivanje virusa i samim time usporiti njegovu evoluciju i potencijalni nastanak varijanti veće virulencije.

### 6.4. Cjepiva i antivirusni lijekovi

Trenutno ne postoji nijedna specifična antivirusna terapija za liječenje pacijenata zaraženih virusom SARS-CoV-2 (Peng i sur. 2021). Najbolji način prevencije zaraze jest cijepljenje. Do kraja kolovoza 2021. sedam je cjepiva protiv bolesti COVID-19 odobreno od strane Svjetske zdravstvene organizacije. Odobrena cjepiva su: 1) Moderna (mRNA-1273), 2) Pfizer/BioNTech (BNT162b2), 3) Janssen (Johnson & Johnson) (Ad26.COV2.S), 4) Oxford/AstraZeneca (AZD1222), 5) Serum Institute od India (Covishield (Oxford/Astrazeneca formulation)), 6) Sinopharm (Beijing) (BBIBP-CorV (Vero Cells) i 7) Sinovac (CoronaVac) (<https://www.who.int/> pristupljeno 29.8.2021.).

Prema podacima WHO-a, otprilike 5 milijardi doza cjepiva je upotrijebljeno na globalnoj razini (<https://www.who.int/>, pristupljeno 29.8.2021.). Cijepljenih s najmanje jednom dozom u Republici Hrvatskoj je oko 1,7 milijuna, a s obje doze oko 1,6 milijuna, što je otprilike polovina stanovništva (<https://www.koronavirus.hr/> pristupljeno 29.8.2021.).

Cjepiva Moderna i Pfizer koriste mRNA tehnologiju. Cjepiva temeljena na mRNA tehnologiji stimulira ekspresiju antigena nakon injektiranja mRNA zatvorene u nanočesticama (Amanat i Krammer 2020). Koriste se sintetska mRNA koja kodira virusni S protein. Nakon intramuskularne injekcije cjepivo stimulira imunosni odgovor koji će specifično prepoznavati protein S virusa SARS-CoV-2 (Tu i sur. 2020). Cjepiva Janssen (Johnson & Johnson), Oxford/AstraZeneca i Serum Institute od India sadrže nereplicirajući virusni vektor, a Sinopharm i Sinovac sadrže inaktivirani virus (<https://covid19.trackvaccines.org/types-of-vaccines/> pristupljeno 19.9.2021.).

## 7. ZAKLJUČAK

Pandemija uzrokovana virusom SARS-CoV-2 predstavlja najveći zdravstveni problem 21. stoljeća do sada. Na globalnoj razini broj smrtnih slučajeva dosegao je 4,5 milijuna. Uz sve napore i novac uloženi u istraživanja biologije samog virusa, cjepiva i potencijalnih lijekova, pandemija ne jenjava. Problemi vezani uz pandemiju ukazali su na mnoštvo mana sustava.

Za početak, dobiven je uvid u nepripremljenost zdravstvenog sustava na ovakve situacije. Sustav znanosti pokazao je koliko se toga može učiniti ukoliko postoje resursi s kojima se mogu provoditi kvalitetna istraživanja. Revolucionarna tehnologija mRNA cjepiva ušla je u ljudsku uporabu i pokazuje jako dobre rezultate. Uočen je ogroman utjecaj medija na kolektivnu svijest, kako u pozitivnom tako i u negativnom smislu. Pokazano je da sustav obrazovanja treba unaprijediti u prirodoslovnom području.

Potrebno je još puno napora i resurse utrošiti u istraživanje virusa SARS-CoV-2 da bismo istražili kako je virus prešao na čovjeka, koji organizam je izvor zaraze, a koji je potencijalan međudomadar te koje su dugoročne posljedice zaraze. Istraživanja su potrebna kako bismo došli do odgovora koji bi mogli biti od koristi cijelom čovječanstvu pri novom susretu s nepoznatim patogenim virusima.

## 8. LITERATURA

- Amanat, F., & Krammer, F. (2020). SARS-CoV-2 vaccines: status report. *Immunity*, 52(4), 583-589.
- Andersen, K. G., Rambaut, A., Lipkin, W. I., Holmes, E. C., & Garry, R. F. (2020). The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nature medicine*, 26(4), 450-452.
- Asghari, A., Naseri, M., Safari, H., Saboory, E., & Parsamanesh, N. (2020). The novel insight of SARS-CoV-2 molecular biology and pathogenesis and therapeutic options. *DNA and Cell Biology*, 39(10), 1741-1753.
- Bai, Y., Yao, L., Wei, T., Tian, F., Jin, D. Y., Chen, L., & Wang, M. (2020). Presumed asymptomatic carrier transmission of COVID-19. *Jama*, 323(14), 1406-1407.
- Banerjee, A. K., Blanco, M. R., Bruce, E. A., Honson, D. D., Chen, L. M., Chow, A., & Guttman, M. (2020). SARS-CoV-2 disrupts splicing, translation, and protein trafficking to suppress host defenses. *Cell*, 183(5), 1325-1339.
- Beigel, J. H., Tomashek, K. M., Dodd, L. E., Mehta, A. K., Zingman, B. S., Kalil, A. C., & Lane, H. C. (2020). Remdesivir for the treatment of Covid-19—preliminary report. *New England Journal of Medicine*. 10.1056/NEJMoa2007764
- Blanco-Melo, D., Nilsson-Payant, B. E., Liu, W. C., Møller, R., Panis, M., Sachs, D., & Albrecht, R. A. (2020). SARS-CoV-2 launches a unique transcriptional signature from in vitro, ex vivo, and in vivo systems. *BioRxiv*. 10.1101/2020.03.24.004655
- Butowt, R., & Bilinska, K. (2020). SARS-CoV-2: olfaction, brain infection, and the urgent need for clinical samples allowing earlier virus detection. *ACS chemical neuroscience*, 11(9), 1200-1203.
- Cevik, M., Kuppalli, K., Kindrachuk, J., & Peiris, M. (2020). Virology, transmission, and pathogenesis of SARS-CoV-2. *bmj*, 371. 10.1136/bmj.m3862
- Chan, J. F. W., Zhang, A. J., Yuan, S., Poon, V. K. M., Chan, C. C. S., Lee, A. C. Y., & Yuen, K. Y. (2020). Simulation of the clinical and pathological manifestations of coronavirus disease 2019 (COVID-19) in a golden Syrian hamster model: implications for disease pathogenesis and transmissibility. *Clinical infectious diseases*, 71(9), 2428-2446.

Channappanavar, R., & Perlman, S. (2017). Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. In *Seminars in immunopathology* (Vol. 39, No. 5, pp. 529-539). Springer Berlin Heidelberg.

Chatterjee, S. (2020). Understanding the nature of variations in structural sequences coding for coronavirus spike, envelope, membrane and nucleocapsid proteins of SARS-CoV-2. *Envelope, Membrane and Nucleocapsid Proteins of SARS-CoV-2 (March 28, 2020)*. 10.2139/ssrn.3562504

Chen, H., Liu, W., Wang, Y., Liu, D., Zhao, L., & Yu, J. (2021). SARS-CoV-2 activates lung epithelial cell proinflammatory signaling and leads to immune dysregulation in COVID-19 patients. *EBioMedicine*, 70, 103500. 10.1016/j.ebiom.2021.103500

Chen, N., Zhou, M., Dong, X., Qu, J., Gong, F., Han, Y., & Zhang, L. (2020). Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *The lancet*, 395(10223), 507-513.

Cholankeril, G., Podboy, A., Aivaliotis, V. I., Tarlow, B., Pham, E. A., Spencer, S., & Ahmed, A. (2020). High Prevalence of Concurrent Gastrointestinal Manifestations in Patients with SARS-CoV-2: Early Experience from California. *Gastroenterology*. 10.1053/j.gastro.2020.04.008

Chow, R. D., Majety, M., & Chen, S. (2021). The aging transcriptome and cellular landscape of the human lung in relation to SARS-CoV-2. *Nature Communications*, 12(1), 1-13.

Corman, V. M., Landt, O., Kaiser, M., Molenkamp, R., Meijer, A., Chu, D. K., & Drosten, C. (2020). Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Eurosurveillance*, 25(3), 2000045. 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045

Coutard, B., Valle, C., de Lamballerie, X., Canard, B., Seidah, N. G., & Decroly, E. (2020). The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade. *Antiviral research*, 176, 104742. 10.1016/j.antiviral.2020.104742

Cubuk, J., Alston, J. J., Incicco, J. J., Singh, S., Stuchell-Brereton, M. D., Ward, M. D., & Holehouse, A. S. (2021). The SARS-CoV-2 nucleocapsid protein is dynamic, disordered, and phase separates with RNA. *Nature communications*, 12(1), 1-17.

- Deng, S. Q., & Peng, H. J. (2020). Characteristics of and public health responses to the coronavirus disease 2019 outbreak in China. *Journal of clinical medicine*, *9*(2), 575. [10.3390/jcm9020575](https://doi.org/10.3390/jcm9020575)
- Duan, K., Liu, B., Li, C., Zhang, H., Yu, T., Qu, J., ... & Yang, X. (2020). Effectiveness of convalescent plasma therapy in severe COVID-19 patients. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *117*(17), 9490-9496.
- Duan, L., Zheng, Q., Zhang, H., Niu, Y., Lou, Y., & Wang, H. (2020). The SARS-CoV-2 spike glycoprotein biosynthesis, structure, function, and antigenicity: Implications for the design of spike-based vaccine immunogens. *Frontiers in immunology*, *11*, 2593. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.576622>
- Faria, N. R., Mellan, T. A., Whittaker, C., Claro, I. M., Candido, D. D. S., Mishra, S., & Sabino, E. C. (2021). Genomics and epidemiology of the P. 1 SARS-CoV-2 lineage in Manaus, Brazil. *Science*, *372*(6544), 815-821.
- Follis, K. E., York, J., & Nunberg, J. H. (2006). Furin cleavage of the SARS coronavirus spike glycoprotein enhances cell–cell fusion but does not affect virion entry. *Virology*, *350*(2), 358-369.
- Guan, W. J., Ni, Z. Y., Hu, Y., Liang, W. H., Ou, C. Q., He, J. X., & Zhong, N. S. (2020). Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *New England journal of medicine*, *382*(18), 1708-1720.
- Hadjadj, J., Yatim, N., Barnabei, L., Corneau, A., Boussier, J., Smith, N., & Terrier, B. (2020). Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients. *Science*, *369*(6504), 718-724.
- Hanson, K. E., Caliendo, A. M., Arias, C. A., Englund, J. A., Lee, M. J., Loeb, M., ... & Mustafa, R. A. (2020). Infectious Diseases Society of America guidelines on the diagnosis of coronavirus disease 2019. *Clinical infectious diseases*. [10.1093/cid/ciaa760](https://doi.org/10.1093/cid/ciaa760)
- He, F., Deng, Y., & Li, W. (2020). Coronavirus disease 2019: What we know?. *Journal of medical virology*, *92*(7), 719-725.
- Hou, Y. J., Okuda, K., Edwards, C. E., Martinez, D. R., Asakura, T., Dinno III, K. H., & Baric, R. S. (2020). SARS-CoV-2 reverse genetics reveals a variable infection gradient in the respiratory tract. *Cell*, *182*(2), 429-446.



- Houng, H. S. H., Norwood, D., Ludwig, G. V., Sun, W., Lin, M., & Vaughn, D. W. (2004). Development and evaluation of an efficient 3'-noncoding region based SARS coronavirus (SARS-CoV) RT-PCR assay for detection of SARS-CoV infections. *Journal of virological methods*, 120(1), 33-40.
- Hu, B., Guo, H., Zhou, P., & Shi, Z. L. (2021). Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nature Reviews Microbiology*, 19(3), 141-154.
- Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., & Cao, B. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The lancet*, 395(10223), 497-506.
- Huang, Y., Yang, C., Xu, X. F., Xu, W., & Liu, S. W. (2020). Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antiviral drug development for COVID-19. *Acta Pharmacologica Sinica*, 41(9), 1141-1149.
- Huang, Y., Yang, C., Xu, X. F., Xu, W., & Liu, S. W. (2020). Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antiviral drug development for COVID-19. *Acta Pharmacologica Sinica*, 41(9), 1141-1149.
- Jan, H., Faisal, S., Khan, A., Khan, S., Usman, H., Liaqat, R., & Shah, S. A. (2020). COVID-19: review of epidemiology and potential treatments against 2019 novel coronavirus. *Discoveries*, 8(2). 10.15190/d.2020.5
- Lam, T. T. Y., Jia, N., Zhang, Y. W., Shum, M. H. H., Jiang, J. F., Zhu, H. C., & Cao, W. C. (2020). Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature*, 583(7815), 282-285.
- Lau, S. K., Luk, H. K., Wong, A. C., Li, K. S., Zhu, L., He, Z., & Woo, P. C. (2020). Possible bat origin of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *Emerging infectious diseases*, 26(7), 1542. 10.3201/eid2607.200092
- Letko, M., Marzi, A., & Munster, V. (2020). Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. *Nature microbiology*, 5(4), 562-569.
- Li, X., Geng, M., Peng, Y., Meng, L., & Lu, S. (2020). Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *Journal of pharmaceutical analysis*, 10(2), 102-108.

- Liao, M., Liu, Y., Yuan, J., Wen, Y., Xu, G., Zhao, J., & Zhang, Z. (2020). Single-cell landscape of bronchoalveolar immune cells in patients with COVID-19. *Nature medicine*, 26(6), 842-844.
- Liu, P., Chen, W., & Chen, J. P. (2019). Viral metagenomics revealed Sendai virus and coronavirus infection of Malayan pangolins (*Manis javanica*). *Viruses*, 11(11), 979. 10.3390/v11110979.
- Liu, Y., Mao, B., Liang, S., Yang, J. W., Lu, H. W., Chai, Y. H., ... & Xu, J. F. (2020). Association between age and clinical characteristics and outcomes of COVID-19. *European Respiratory Journal*, 55(5). 10.1183/13993003.01112-2020
- Lu, Q., & Shi, Y. (2020). Coronavirus disease (COVID-19) and neonate: What neonatologist need to know. *Journal of medical virology*, 92(6), 564-567.
- Lu, R., Zhao, X., Li, J., Niu, P., Yang, B., Wu, H., & Tan, W. (2020). Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *The lancet*, 395(10224), 565-574.
- Lu, X., Zhang, L., Du, H., Zhang, J., Li, Y. Y., Qu, J., & Wong, G. W. (2020). SARS-CoV-2 infection in children. *New England Journal of Medicine*, 382(17), 1663-1665.
- Luan, J., Lu, Y., Jin, X., & Zhang, L. (2020). Spike protein recognition of mammalian ACE2 predicts the host range and an optimized ACE2 for SARS-CoV-2 infection. *Biochemical and biophysical research communications*, 526(1), 165-169.
- Lukassen, S., Chua, R. L., Trefzer, T., Kahn, N. C., Schneider, M. A., Muley, T., & Eils, R. (2020). SARS-CoV-2 receptor ACE 2 and TMPRSS 2 are primarily expressed in bronchial transient secretory cells. *The EMBO journal*, 39(10), e105114.
- Mak, G. C., Cheng, P. K., Lau, S. S., Wong, K. K., Lau, C. S., Lam, E. T., & Tsang, D. N. (2020). Evaluation of rapid antigen test for detection of SARS-CoV-2 virus. *Journal of Clinical Virology*, 129, 104500. 10.1016/j.jcv.2020.104500
- Meng, B., Kemp, S. A., Papa, G., Datir, R., Ferreira, I. A., Marelli, S., & Masoli, J. A. (2021). Recurrent emergence of SARS-CoV-2 spike deletion H69/V70 and its role in the Alpha variant B. 1.1. 7. *Cell reports*, 35(13), 109292. 10.1016/j.celrep.2021.109292
- Naqvi, A. A. T., Fatima, K., Mohammad, T., Fatima, U., Singh, I. K., Singh, A., & Hassan, M. I. (2020). Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies:

Structural genomics approach. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1866(10), 165878. 10.1016/j.bbadis.2020.165878

Ou, X., Liu, Y., Lei, X., Li, P., Mi, D., Ren, L., ... & Qian, Z. (2020). Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV. *Nature communications*, 11(1), 1-12.

Paraskevis, D., Kostaki, E. G., Magiorkinis, G., Panayiotakopoulos, G., Sourvinos, G., & Tsiodras, S. (2020). Full-genome evolutionary analysis of the novel corona virus (2019-nCoV) rejects the hypothesis of emergence as a result of a recent recombination event. *Infection, Genetics and Evolution*, 79, 104212. 10.1016/j.meegid.2020.104212

Patel, R., Babady, E., Theel, E. S., Storch, G. A., Pinsky, B. A., St. George, K., & Bertuzzi, S. (2020). Report from the American Society for Microbiology COVID-19 International Summit, 23 March 2020: value of diagnostic testing for SARS-CoV-2/COVID-19. 10.1128/mBio.00722-20

Peng, L., Shen, L., Xu, J., Tian, X., Liu, F., Wang, J., & Zhou, L. (2021). Prioritizing antiviral drugs against SARS-CoV-2 by integrating viral complete genome sequences and drug chemical structures. *Scientific reports*, 11(1), 1-11.

Plante, J. A., Liu, Y., Liu, J., Xia, H., Johnson, B. A., Lokugamage, K. G., & Shi, P. Y. (2021). Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness. *Nature*, 592(7852), 116-121.

Puntmann, V. O., Carerj, M. L., Wieters, I., Fahim, M., Arendt, C., Hoffmann, J., & Nagel, E. Outcomes of Cardiovascular Magnetic Resonance Imaging in Patients Recently Recovered From Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *JAMA Cardiol.* 2020; 5 (11): 1265–73. *PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32730619>*.

Qin, C., Zhou, L., Hu, Z., Zhang, S., Yang, S., Tao, Y., & Tian, D. S. (2020). Dysregulation of immune response in patients with coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clinical infectious diseases*, 71(15), 762-768.

Rothe, C., Schunk, M., Sothmann, P., Bretzel, G., Froeschl, G., Wallrauch, C., & Hoelscher, M. (2020). Transmission of 2019-nCoV infection from an asymptomatic contact in Germany. *New England journal of medicine*, 382(10), 970-971.

Rubin, E. J., Baden, L. R., Udawadia, Z. F., & Morrissey, S. (2021). Audio Interview: India's Covid-19 Crisis. *N Engl J Med*, e84-e84. 10.1056/NEJMe2107728

- Schoeman, D., & Fielding, B. C. (2019). Coronavirus envelope protein: current knowledge. *Virology journal*, *16*(1), 1-22.
- Shang, J., Wan, Y., Luo, C., Ye, G., Geng, Q., Auerbach, A., & Li, F. (2020). Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *117*(21), 11727-11734.
- Shang, J., Ye, G., Shi, K., Wan, Y., Luo, C., Aihara, H., & Li, F. (2020). Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. *Nature*, *581*(7807), 221-224.
- Shen, C., Wang, Z., Zhao, F., Yang, Y., Li, J., Yuan, J., & Liu, L. (2020). Treatment of 5 critically ill patients with COVID-19 with convalescent plasma. *Jama*, *323*(16), 1582-1589.
- Shi, J., Wen, Z., Zhong, G., Yang, H., Wang, C., Huang, B., & Bu, Z. (2020). Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS–coronavirus 2. *Science*, *368*(6494), 1016-1020.
- Smith, J. C., Sausville, E. L., Girish, V., Yuan, M. L., Vasudevan, A., John, K. M., & Sheltzer, J. M. (2020). Cigarette smoke exposure and inflammatory signaling increase the expression of the SARS-CoV-2 receptor ACE2 in the respiratory tract. *Developmental cell*, *53*(5), 514-529.
- Snijder, E. J., Van Der Meer, Y., Zevenhoven-Dobbe, J., Onderwater, J. J., Van Der Meulen, J., Koerten, H. K., & Mommaas, A. M. (2006). Ultrastructure and origin of membrane vesicles associated with the severe acute respiratory syndrome coronavirus replication complex. *Journal of virology*, *80*(12), 5927-5940.
- Sungnak, W., Huang, N., Bécavin, C., Berg, M., Queen, R., Litvinukova, M., & Barnes, J. L. (2020). SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. *Nature medicine*, *26*(5), 681-687.
- Tian, J., Yuan, X., Xiao, J., Zhong, Q., Yang, C., Liu, B., & Wang, Z. (2020). Clinical characteristics and risk factors associated with COVID-19 disease severity in patients with cancer in Wuhan, China: a multicentre, retrospective, cohort study. *The Lancet Oncology*, *21*(7), 893-903.
- Tu, Y. (2020). F, Chien C-S, Yarmishyn AA, et al. *A review of SARS-CoV-2 and the ongoing clinical trials. Int J Mol Sci*, *21*(7), 2657. 10.3390/ijms21072657

Varga, Z., Flammer, A. J., Steiger, P., Haberecker, M., Andermatt, R., Zinkernagel, A. S., & Moch, H. (2020). Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *The Lancet*, 395(10234), 1417-1418.

Viruses, C. S. G. (2019). of TIC on T. of & Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying*, 536-544.

Walls, A. C., Park, Y. J., Tortorici, M. A., Wall, A., McGuire, A. T., & Veesler, D. (2020). Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell*, 181(2), 281-292.

Wan, Y., Shang, J., Graham, R., Baric, R. S., & Li, F. (2020). Receptor recognition by the novel coronavirus from Wuhan: an analysis based on decade-long structural studies of SARS coronavirus. *Journal of virology*, 94(7), e00127-20. 10.1128/JVI.00127-20

Wang, D., Hu, B., Hu, C., Zhu, F., Liu, X., Zhang, J., & Peng, Z. (2020). Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus–infected pneumonia in Wuhan, China. *Jama*, 323(11), 1061-1069.

Wang, N., Shang, J., & Jiang, S. (2020). Lanying Du. *Subunit vaccines against emerging pathogenic human coronaviruses*. *Front Microbiol*, 11, 298.

Wang, Q., Zhang, Y., Wu, L., Niu, S., Song, C., Zhang, Z., & Qi, J. (2020). Structural and functional basis of SARS-CoV-2 entry by using human ACE2. *Cell*, 181(4), 894-904.

Wölfel, R., Corman, V. M., Guggemos, W., Seilmaier, M., Zange, S., Müller, M. A., & Wendtner, C. (2020). Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*, 581(7809), 465-469.

Wrapp, D., Wang, N., Corbett, K. S., Goldsmith, J. A., Hsieh, C. L., Abiona, O., & McLellan, J. S. (2020). Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*, 367(6483), 1260-1263.

Wu, C., Chen, X., Cai, Y., Zhou, X., Xu, S., Huang, H., & Song, Y. (2020). Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China. *JAMA internal medicine*, 180(7), 934-943.

Wu, D., Wu, T., Liu, Q., & Yang, Z. (2020). The SARS-CoV-2 outbreak: what we know. *International Journal of Infectious Diseases*, 94, 44-48.

- Wu, F., Wang, A., Liu, M., Wang, Q., Chen, J., Xia, S., & Huang, J. (2020). Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in a COVID-19 recovered patient cohort and their implications.
- Wu, F., Zhao, S., Yu, B., Chen, Y. M., Wang, W., Song, Z. G., & Zhang, Y. Z. (2020). A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*, *579*(7798), 265-269.
- Wu, H. Y., & Brian, D. A. (2010). Subgenomic messenger RNA amplification in coronaviruses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *107*(27), 12257-12262.
- Wu, J. T., Leung, K., Bushman, M., Kishore, N., Niehus, R., de Salazar, P. M., ... & Leung, G. M. (2020). Estimating clinical severity of COVID-19 from the transmission dynamics in Wuhan, China. *Nature medicine*, *26*(4), 506-510.
- Wu, Y., Wang, F., Shen, C., Peng, W., Li, D., Zhao, C., & Liu, L. (2020). A noncompeting pair of human neutralizing antibodies block COVID-19 virus binding to its receptor ACE2. *Science*, *368*(6496), 1274-1278.
- Wu, Z., & McGoogan, J. M. (2020). Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72 314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *Jama*, *323*(13), 1239-1242.
- Xia, J., Tong, J., Liu, M., Shen, Y., & Guo, D. (2020). Evaluation of coronavirus in tears and conjunctival secretions of patients with SARS-CoV-2 infection. *Journal of medical virology*, *92*(6), 589-594.
- Xia, S., Zhu, Y., Liu, M., Lan, Q., Xu, W., Wu, Y., & Lu, L. (2020). Fusion mechanism of 2019-nCoV and fusion inhibitors targeting HR1 domain in spike protein. *Cellular & molecular immunology*, *17*(7), 765-767.
- Xiao, K., Zhai, J., Feng, Y., Zhou, N., Zhang, X., Zou, J. J., & Shen, Y. (2020). Isolation of SARS-CoV-2-related coronavirus from Malayan pangolins. *Nature*, *583*(7815), 286-289.
- Yan, R., Zhang, Y., Li, Y., Xia, L., Guo, Y., & Zhou, Q. (2020). Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science*, *367*(6485), 1444-1448.
- Yang, X., Yu, Y., Xu, J., Shu, H., Liu, H., Wu, Y., & Shang, Y. (2020). Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *The Lancet Respiratory Medicine*, *8*(5), 475-481.

Yang, Y., Yang, M., Yuan, J., Wang, F., Wang, Z., Li, J., & Liu, Y. (2020). Laboratory diagnosis and monitoring the viral shedding of SARS-CoV-2 infection. *The innovation*, 1(3), 100061. 10.1016/j.xinn.2020.100061

Zhang, Y. Z., & Holmes, E. C. (2020). A genomic perspective on the origin and emergence of SARS-CoV-2. *Cell*, 181(2), 223-227.

Zhao, Y., Zhao, Z., Wang, Y., Zhou, Y., Ma, Y., & Zuo, W. (2020). Single-cell RNA expression profiling of ACE2, the receptor of SARS-CoV-2. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 202(5), 756-759.

Zhou, H., Chen, X., Hu, T., Li, J., Song, H., Liu, Y., & Shi, W. (2020). A novel bat coronavirus closely related to SARS-CoV-2 contains natural insertions at the S1/S2 cleavage site of the spike protein. *Current biology*, 30(11), 2196-2203.

Zhou, P., Yang, X. L., Wang, X. G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., & Shi, Z. L. (2020). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *nature*, 579(7798), 270-273.

Zhou, R., To, K. K. W., Wong, Y. C., Liu, L., Zhou, B., Li, X., & Chen, Z. (2020). Acute SARS-CoV-2 infection impairs dendritic cell and T cell responses. *Immunity*, 53(4), 864-877.

Zhu, N., Zhang, D., Wang, W., Li, X., Yang, B., Song, J., & Tan, W. (2020). A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *New England journal of medicine*.

Ziegler, C. G., Allon, S. J., Nyquist, S. K., Mbanjo, I. M., Miao, V. N., Tzouanas, C. N., & Zhang, K. (2020). SARS-CoV-2 receptor ACE2 is an interferon-stimulated gene in human airway epithelial cells and is detected in specific cell subsets across tissues. *Cell*, 181(5), 1016-1035.

<https://www.koronavirus.hr/>

<https://www.who.int/>

## **9. SAŽETAK**

Virus SARS-CoV-2 je patogen koji najčešće inficira dišni sustav i kod čovjeka uzrokuje virusnu bolest COVID-19. Od kraja 2019., do kraja kolovoza 2021., od bolesti COVID-19, preminulo je 4,5 milijuna ljudi te je zabilježeno preko 214 milijuna slučajeva zaraze na globalnoj razini. Iako je od pojave virusa prošlo dosta vremena, pandemija COVID-19 ne jenjava i virus SARS-CoV-2 trenutno predstavlja, vjerojatno najveću ugrozu za zdravlje čovjeka. Stjecanje imuniteta krda jedini je način kako spriječiti rasprostranjivanje virusa i posljedično njegovu evoluciju te sačuvati zdravlje i živote mnogih ljudi. Struktura viriona, genom i virusni proteini virusa SARS-CoV-2, razlikuju se od onih kod koronavirusa s kojima je čovječanstvo ranije bilo upoznato. Interakcija virusa SARS-CoV-2 i receptora ACE2 je od 10 do 20 puta jača nego ista interakcija kod virusa SARS-CoV. Visoka koekspresija transmembranske serinske proteaze 2 i receptora ACE2 u dijelovima dišnog sustava rezultira tkivnim tropizmom virusa SARS-CoV-2 prema dišnom sustavu. Cjepiva, od kojih je dio temeljen na novoj mRNA tehnologiji, ušla su u uporabu i pokazuju odlične rezultate. Također je važno naglasiti da postoje ograničenja cjepiva u slučaju infekcija novim varijantama koje se neprestano pojavljuju. Relativno mali broj cijepljenih na globalnoj razini, omogućuje rasprostranjivanje virusa i kontinuiranu evoluciju te pojava novih varijanti donosi nove izazove, posebice medicinskom sustavu i znanosti koja treba pronaći rješenje kako uspješno kontrolirati pandemiju.

### **KLJUČNE RIJEČI**

bolest COVID-19, evolucija virusa, koronavirus, receptor ACE2, virus SARS-CoV-2



## **10. SUMMARY**

SARS-CoV-2 is a virus that causes a contagious respiratory disease COVID-19. From the end of 2019 to this moment (late August of 2021), around 4,5 million people have died from the disease COVID-19. More than 214 million cases of the disease have been identified worldwide. Although a lot of time has passed since the virus SARS-CoV-2 has emerged, COVID-19 still is a big threat to humans. Herd immunity is the only way of slowing down the evolution of SARS-CoV-2, preserving health, and saving the lives of many people. The structure, genome, and viral proteins of virus SARS-CoV-2 differ from those we have encountered in the past. The interaction between the virus SARS-CoV-2 and receptor ACE2 is 10-20 times stronger than the same interaction of the virus SARS-CoV. High coexpression of transmembrane protease serine 2 and receptor ACE2 in the respiratory system results in tissue tropism of the virus SARS-CoV-2 towards respiratory system. Vaccines, some of which are based on RNA technology, have been developed and are showing solid results. The vaccines have their limitations in case of protecting people from new emerging variants of the virus SARS-CoV-2. A relatively small number of vaccinated people globally enables virus spreading and its evolution. Therefore, new variants are appearing and bringing new challenges, especially to the research community and the healthcare system, whose task is to find a solution of controlling the pandemic

## **KEYWORDS**

coronavirus, COVID-19, receptor ACE2, SARS-CoV-2, viral evolution

## **11. ŽIVOTOPIS**

Rođen sam 22.12.1999. u Sisku. Pohađao sam Gimnaziju Sisak i završio opći smjer 2018. godine. Iste godine sam upisao preddiplomski studij Biologije na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Interes za biologiju sam pronašao već u osnovnoj školi i shodno tome sam upisao ovaj studij. Sudjelovao sam na međunarodnom projektu PROMISE vezanom uz P4 medicinu te je biomedicina je jedno od mojih područja interesa. U slobodno vrijeme uživam u ispijanju kava i druženju s prijateljima.