

Молекуларни механизми плејотропних дејстава хлорокина и могућности примене у лечењу *COVID-19*

Проф. др Јован Поповић¹, Др Душица Поповић, *dr. sci. med*, истраживач сарадник²,
Доц. др Коста Поповић³

¹ Академија медицинских наука Српског лекарског друштва

² Универзитет у Новом Саду, Медицински факултет, Нови Сад

³ Универзитет у Новом Саду, Медицински факултет, Завод за фармацију

Сажетак

Хлорокин (и његови аналози) показују изразито плејотропно дејство. Најновија испитивања њихове примене су у лечењу канцера и *COVID-19*. Хлорокин спречава везивање гликопротеинских шиљака вируса *SARS-CoV-2* за *ACE2* и друге рецепторе са површине ћелије и њихову фузију и лако дифундује у ћелије и ендозоме цитоплазме повећавајући њихов *pH*. Ово има низ негативних ефеката по *SARS-CoV-2*, нарочито омотач и гликопротеинске шиљке вируса у ћелији. Реметећи киселу средину везикула инхибира *TLR* сигналне путеве у ћелији, што нисходно смањује активност *NF-κB* сигнализације са последичним антиканцерским дејствима, инхибицијом сигналних путева *HIF-1α*, *VEGF*, *P-gp*, *MRPs* и анти-*COVID-19* дејствима, преко цитокинских *TNF*, *IL-6*, *IL-1* и интерферонских механизма.

Кључне речи: хлорокин, *COVID-19*, *SARS-CoV-2*, антиканцерско дејство, антивирусни механизми

Увод

COVID-19 је болест [1] изазвана новим *SARS-CoV-2* вирусом (једноструки *RNA* ланац са омотачем) из породице корона вируса [2], чији је природни резервоар слепи миш. *SARS-CoV-2* су пронађени и код малајских панголина – љускавих мравоједа [4, 5], којих у Африци постоје 4 врсте. Није познато где је и због чега овај нови вирус настао [6, 7], а можда чак и није настао природним путем. До сада ниједан тип вируса корона, који су откривени релативно касно, шездесетих година, није се толико раширио и није изазивао тако тешку клиничку слику код одређених категорија људи, какву изазива овај вирус, од којег многи умиру [8]. Смртоносни вируси из ове групе били су *SARS* и потом *MERS*, који су кратко трајали, а код нас се нису ни раширили. Вирус се

није зауставио у летњим месецима, јер је вероватно потребна виша температура од 56°C да буде уништен. Може да преживи 96 сати на погодној површини ако је у биолошком материјалу (испљувак, серум) [3]. На површини вируса *SARS-CoV-2* налазе се шиљци *S*-гликопротеини (*S-spike*) који се везују за *ACE2* и друге рецепторе, преко којих вирус инвадира ћелије [9]. Преноси се капљично и додиром, уз инкубацију од 2-14 дана [3].

За сада постоји веома мало клиничких доказа о делотворности препоручених протокола [9-12] који се базирају на примени комбинација витамина *C*, *D3*, цинка, хлорокина, хидрохлорокина, регистрованих антивирусних лекова (ремдесивир, лопинавир, ритонавир), антибиотика (азитромицин), кортикостероида (метилпреднизолон), имunosупресивних лекова (тоцилизумаб-моноклонско антитело 2 против цитокинских *IL-6R* рецептора), интерферона (продукти *B*, *T* лимфоцита, макрофага и фибробласта, нпр. *β-1a*) и имуноглобулина (конвалесцентна плазма, хиперимуноглобулини).

Неки лекови регистровани за разне друге индикације могу да делују селективно на вирусне и ћелијске рецепторе, сигналне путеве, метаболичке процесе, биоенергетске факторе, ензиме, протеине, гене који регулишу пролиферацију вируса, а да при томе не погађају ћелије домаћина. Увођење нових лекова је изразито дуг, сложен и скуп процес истраживања. Коришћењем принципа откривања антивирусног ефекта код већ регистрованих лекова за друге индикације, директно се утиче на скраћивање времена и трошкова истраживања. На пример, антитуморска дејства нетоксичних лекова мебендазола [13, 14], метформина [15], кофеина [16], итраконазола [17], нитроглицерина [18], који су регистровани за неонколошке индикације, испитивана су на експерименталном фибросаркому. Као најделотворније показале су се комбинације метформина са кофеином [16], метформина са итраконазолом [17] и метформина са нитроглицерином [18]. Антималарик хлорокин (све исто важи и за хидрохлорокин и друге деривате хлорокина) показује екстремно плејотропно дејство [19]. Конкретно, објављено је да делује, осим код маларије, неуропротективно код Паркинсонове болести, користи се у реуматологији, лечењу амебног апсцеса јетре, системског еритематозног лупуса (због његовог имуномодулаторног деловања), инфекције *SARS-CoV-2* вирусом, малигних и хроничних болести јетре (за превенцију рака код цирозе јетре). Хлорокин инхибира *in vitro*, на културама малигних ћелија, *Toll-like receptor 9 (TLR9)* и нисходно сигнални пут *NF-κB* (20-23). Инхибиција *TLR9/NF-κB* нисходно може сузбити хипоксија-индуцибилни фактор 1 алфа (*hypoxia inducible factor 1α, HIF-1α*). Инхибиција *HIF-1α* даље нисходно супримира фактор васкуларног ендотелијалног раста (*vascular endothelial growth factor, VEGF*), *P*-гликопротеин (*P-gp*, такође познат као протеин резистенције на лекове, *multidrug resistance protein, MDRP*) и протеине сродне са *MDRP (multidrug*

resistance related proteins, MRPs) са могућим антиканцерским ефектом, инхибицијом ангиогенезе, уклањањем резистенције и повећањем осетљивости канцера на хемиотерапију.

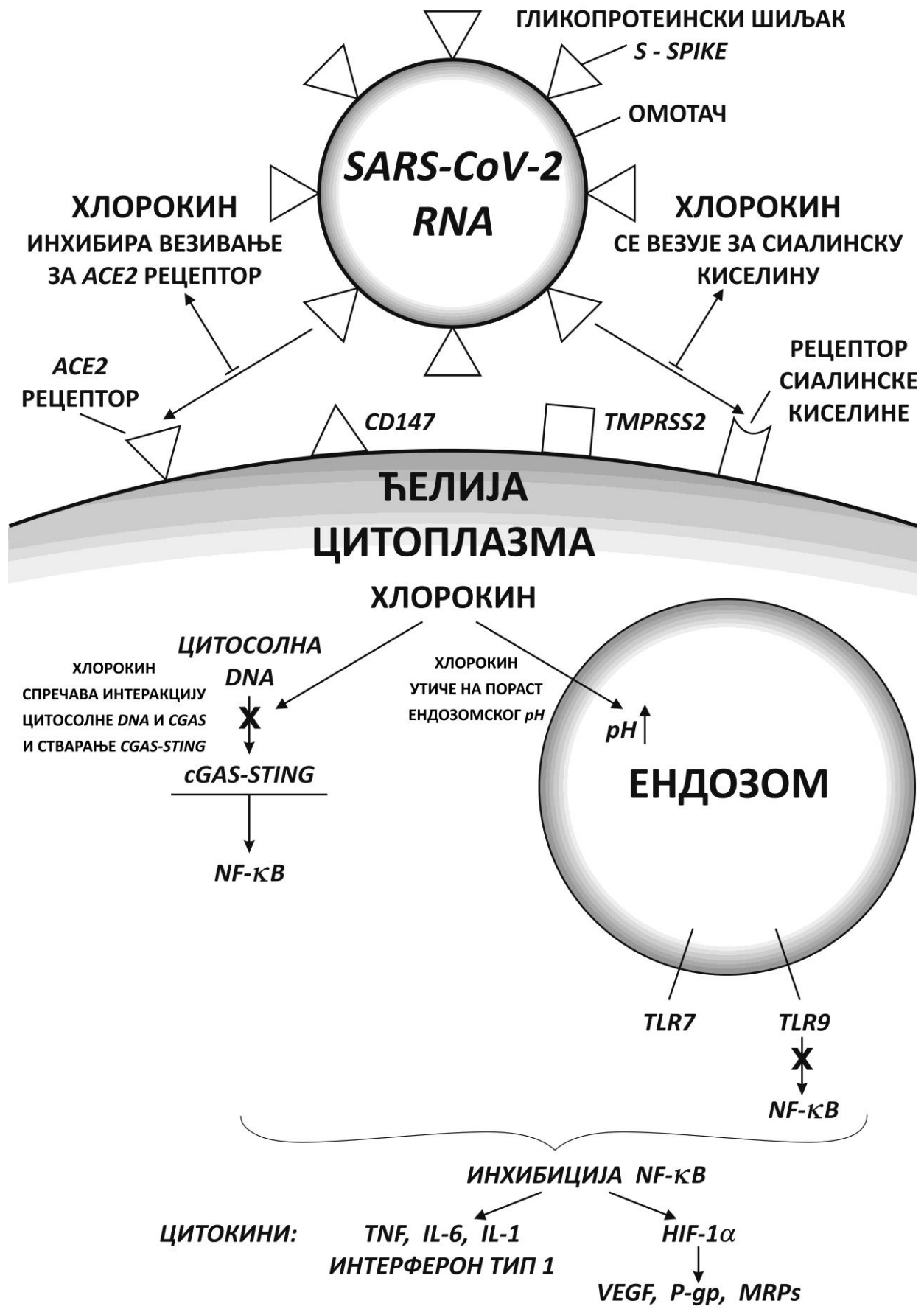
Цитофармакокинетика хлорокина

Хлорокин (и његови деривати) делује и при улазу и после улаза вируса у ћелију [24]. Дисосован, депротонован хлорокин лако дифундује кроз ћелијску мембрану према везикулама киселог pH у цитоплазми, као што су лизозоми, касни ендозоми и везикуле транс-Голџијеве (*Golgi*) мреже (*TGN*), где бива заробљен после протоновања. Протонован хлорокин не може изаћи напоље из таквих везикула и задржава се у ћелијама са ензимима из групе хидролаза. Како је хлорокин двопротонска слаба база и како његов депротонован облик може селективно ући у лизозоме (и друге везикуле са $pH < 7$), и у њима бити протонован инверзно пропорционално са pH , према *Henderson–Hasselbalch*-овој једначини [25, 26], он спада у групу лизозомотропних лекова [27]. Оптимална активност хидролаза се одвија у лизозомима, касним ендозомима и *TGN* уз помоћ протонске пумпе (H^+ -АТФ-азе) која одржава pH вредност 5,0 у тим компартманима [28]. Лизозомална H^+ -АТФ-аза омогућава инфлукс H^+ јона преко АТФ-зависних пумпи, што резултује у иреверзибилној кумулацији лека унутар лизозома из цитоплазме због разлике pH вредности.

Улазак вируса SARS-CoV-2 у ћелију

Верује се да *SARS-CoV-2* користи више врста површинских рецептора за улазак у ћелију, на које може утицати хлорокин и његови деривати (Слика 1). Најзначајнији је рецептор за ангиотензин-конвертујући ензим 2 (*ACE2*) који је и могући регулатор контагиозности *SARS-CoV-2* [29].

Хлорокин отежава везивање гликопротеинских шиљака - *spike (S)* на површини вируса са *ACE2* смањењем гликозилације [30]. Надаље, *SARS-CoV-2* улази у ћелију уз помоћ ганглиозида везаних у рецептор са сиалинском киселином [31]. Хлорокин спречава биосинтезу сиалинске киселине инхибицијом кинин редуктазе-2 [32]. *SARS-CoV-2* користи сиалински остатак као рецептор за улазак. Иначе, гликопротеини и ганглиозиди са ћелијске површине који садрже сиалинску киселину имају велики афинитет за везивање хлорокина [33]. Уз *ACE2* [29] и сиалинске рецепторе [33], као могући рецептори за улазак *SARS-CoV-2* у ћелију испитују се трансмембранска серин протеаза 2 (*TM-PRSS2*) [34, 35], као и индуктор екстрацелуларне матрикс металопротеиназе *CD147* басигин [9, 36].



Слика 1. Механизми деловања хлорокина и његових аналога код COVID-19

Цитофармакодинамика хлорокина

Хлорокин (и хидроксихлорокин) мења киселост средине у лизозомима због чега ћелија не може да настави са ендцитозом, егзозомском елиминацијом и фаголизозомском фузијом [37]. Надаље, хлорокин може да спречи интеракцију између цитосолне *DNA* и сензора нуклеинских киселина – цикличне *GMP-AMP* синтазе (*cGAS*) када је у цитосолу [38, 39]. Пораст лизозомског *pH* под утицајем хлорокина спречава ћелијску презентацију антигена, хемотаксу и протеолизу. Смањење презентације антигена, због пораста ћелијског ендозомалног *pH* услед присуства хлорокина смањује количину антиген-главног хистокомпатибилног комплекса (*A-MHC*), као и количину аутоантиген-*MHC* комплекса, јер је смањен афинитет аутоантигених сопствених пептида према *MHC*. Смањена количина комплекса сопствени пептиди-*MHC* у антиген презентујућим ћелијама изузетно је значајна за настанак клинички тешког облика *COVID-19*, смањену субординирану активности других циљних ћелија, као што су имунске *T*-ћелије и друге антиген презентујуће ћелије и њихово ослобађање цитокина [40]. Такође, промена *pH* ћелијске ендозомске средине у базну узрокује спорадичне интеракције између толичних рецептора *TLR7* и *TLR9* и њихових *RNA/DNA* лиганда, што супримира *TLR* сигнализацију. (*Toll-like receptors, TLRs* – названи по прототипу *Toll* рецептора винске мушице *Drosophila melanogaster*, који су *Christiane Nüsslein Volhard* и сарадници открили 1985. године, а 1995. добили Нобелову награду и који има важне улоге у ембрионалном развоју и урођеном имунитету мушице. Добио је име после проналазачевог усклика одушевљења „*Das ist toll!*” – „То је феноменално!” приликом открића на вентралном делу неразвијене ларве.) Ово има значајне последице у а) антивирусном и б) антиканцерском потенцијалу хлорокина.

а) Инхибиција *TLR9* инхибира нисходно *NF-κB* (нуклеарни фактор капа *B*), што нисходно инхибира про-инфламаторне цитокине, као што су *tumor necrosis factor (TNF)*, интерлеукин 6 (*IL6*) и *IL-1* (Слика 1). Исти ефекат има претходно поменуто дејство хлорокина у цитосолу, где спречава интеракцију цитосолне *DNA* и *cGAS* [39], што спречава стварање *cGAS-STING* (стимулатор интерферонских гена) комплекса и нисходних путева: прво, инхибиција *NF-κB* и њему нисходних про-инфламаторних цитокина *TNF*, *IL-6* и *IL-1* и друго, инхибиција синтезе интерферона (тип 1).

б) Антиканцерски потенцијал се огледа у дуалној инхибицији *NF-κB*, како инхибицијом *TLR9*, тако и инхибицијом *cGAS-STING* (Слика 1). Инхибиција *NF-κB* може нисходно да супримира *HIF-1α* и нисходно *VEGF*, *P-gp (MDRP)*, као и *MRPs* са могућим антиканцерским ефектима: смањење хипоксије тумора, инхибиција неоангиогенезе, синергизам са хемиотерапијом и др.

Хлорокин (и хидроксихлорокин) спречава пост-транслациону модификацију гликопротеинског омотача вируса у ендоплазматским и *TGN* везикулама, јер овај процес захтева учешће протеаза и

гликозил трансфераза, којима је потребна ниска *pH* вредност. Неутрализација киселог *pH* деактивира неколико ензима у везикулама, међу које спадају и гликозил трансферазе, те последично долази до инхибиције гликозилације. Инхибиција гликозилације има и две важне импликације у погледу домаћина. Прво, инхибиција гликозилације олакшава код домаћина развој имунског одговора на инфекцију [40]. Друго, инхибиција гликозилације оштећује целуларне *ACE2* рецепторе важне за везивање и фузију *SARS-CoV-2* вируса са ћелијом [41-43]. Објављено је и да се гликопротеински шиљак *spike (S)* протеин вируса *SARS-CoV-2* причвршћује унутар аутофагозома учешћем протеаза домаћина, као што су катепсини, који могу бити инхибисани порастом *pH* лизозома под утицајем хлорокина [43].

Закључак

До сада објављени научни радови говоре о великој плејотропији дејстава хлорокина и хидроксихлорокина, па и могућим обећавајућим терапијским ефектима код *COVID-19*, али и код канцера. Ипак, потребно је да се сачекају резултати већих проспективних рандомизованих, контролисаних клиничких студија пре утврђивањима места хлорокина и његових деривата у лечењу ових болести. У очекивању регистроване вакцине, која ће ипак представљати само превенцију, веома су корисна и добродошла даља претклиничка и клиничка испитивања хлорокина и његових аналога у терапији *COVID-19*.

Литература

1. Wu Z, McGoogan JM. 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*. Published February 24, 2020.
2. Khan S, Siddique R, Shereen MA, et al. The emergence of a novel coronavirus (SARS-CoV-2), their biology and therapeutic options. *J Clin Microbiol* 2020; pii: JCM.00187-20. (doi: 10.1128/JCM.00187-20).
3. Young BE, Ong SWX, Kalimuddin S, Low JG, Tan SY, Loh J et al. Epidemiologic Features and Clinical Course of Patients Infected with SARS-CoV-2 in Singapore. *JAMA*. Published online March 16, 2020. doi:10.1001/jama.2020.3204 (<https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2762688>).
4. Lam TT, Shum MH, Zhu HC, et al. Identifying SARS-CoV-2 related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature* 2020. (doi: 10.1038/s41586-020-2169-0).
5. Zhang T, Wu Q, Zhang Z. Probable pangolin origin of SARS-CoV-2 associated with the COVID-19 outbreak. *Curr Biol* 2020; pii: S0960-9822(20)30360-2. (doi: 10.1016/j.cub.2020.03.022).
6. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol* 2019; 17: 181–92. (doi: 10.1038/s41579-018-0118-9).
7. Ji W, Wang W, Zhao X, Zai J, Li X. Cross-species transmission of the newly identified coronavirus 2019-nCoV. *J Med Virol* 2020; 92: 433–40. (doi: 10.1002/jmv.25682).
8. Liu Y, Yan LM, Wan L, et al. Viral dynamics in mild and severe cases of COVID-19. *Lancet Infect Dis* 2020; pii: S1473-3099(20)30232-2. (doi: 10.1016/S1473-3099(20)30232-2).
9. Tripathy S, Dassarma B, Roy S, Chabalala H, Matsabisa MG. A review on possible modes of action of chloroquine/hydroxychloroquine: repurposing against SAR-CoV-2 (COVID-19) pandemic. *Int J Antimicrob Agents*. 2020;56(2):106028. doi:10.1016/j.ijantimicag.2020.106028

10. Gautret P, Lagier JC, Parola P, et al. Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. *Int J Antimicrob Agents* 2020: 105949. (doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105949).
11. Perinel S, Launay M, Botelho-Nevers E, et al. Towards optimization of hydroxychloroquine dosing in intensive care unit COVID-19 patients. *Clin Infect Dis* 2020. pii: ciaa394. (doi: 10.1093/cid/ciaa394).
12. Cao B, Wang Y, Wen D, et al. A trial of lopinavir-ritonavir in adults hospitalized with severe Covid-19. *N Engl J Med* 2020. (doi:10.1056/NEJMoa2001282).
13. Popović DJ, Poša M, Popović KJ, Kolarović J, Popović JK, Banović PZ: Application of a widely-used tropical anti-worm agent mebendazole in modern oncology. *Trop J Pharm Res.* 2017;16(10):2555-62.
14. Popović DJ, Lalošević D, Popović KJ, Čapo I, Popović JK, Miljković D. Effect of mebendazole on fibrosarcoma in hamsters. *Trop J Pharm Res.* 2017;16(10):2445-51.
15. Popović DJ, Lalošević D, Miljković D, Popović KJ, Čapo I, Popović JK. Effect of metformin on fibrosarcoma in hamsters. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2017;21(23):5499-505. doi: 10.26355/eurrev_201712_13941.
16. Popović DJ, Lalošević D, Miljković D, Popović KJ, Čapo I, Popović JK. Caffeine induces metformin anticancer effect on fibrosarcoma in hamsters. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2018;22:2461-7.
17. Popović KJ, Popović DJ, Miljković D, Lalošević D, Čapo I, Popović JK. Physicochemical and pathohistological changes in experimental fibrosarcoma tumors of hamsters treated with metformin and itraconazole. *Oncol Lett.* 2019;18(2):1697-712. <https://doi.org/10.3892/ol.2019.10509>
18. Popović KJ, Popović DJ, Miljković D, Popović JK, Lalošević D, Čapo I. Co-treatment with nitroglycerin and metformin exhibits physicochemically and pathohistologically detectable anticancer effects on fibrosarcoma in hamsters. *Biomed Pharmacother.* 2020, in press, online first 21st July 2020. <https://authors.elsevier.com/sd/article/S0753332220307034> M21 IF 4.545
19. Papanagnou P, Papadopoulos GE, Stivarou T, Pappas A. Toward fully exploiting the therapeutic potential of marketed pharmaceuticals: the use of octreotide and chloroquine in oncology. *Onco Targets Ther.* 2018;12:319-39. <https://doi.org/10.2147/OTT.S182685>.
20. Mohamed FE, Al-Jehani RM, Minogue SS, Andreola F, Winstanley A, Olde Damink SW et al. Effect of toll-like receptor 7 and 9 targeted therapy to prevent the development of hepatocellular carcinoma. *Liver Int.* 2015;35(3):1063–76. <https://doi.org/10.1111/liv.12626>.
21. Zhang Y, Li Y, Li Y, Li R, Ma Y, Wang H et al. Chloroquine inhibits MGC803 gastric cancer cell migration via the Toll-like receptor 9/nuclear factor kappa B signaling pathway. *Mol Med Rep.* 2015;11(2):1366–71. <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2839>.
22. Kuznik A, Bencina M, Svajger U, Jeras M, Rozman B, Jerala R. Mechanism of endosomal TLR inhibition by antimalarial drugs and imidazoquinolines. *J Immunol.* 2011;186(8):4794–804. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1000702>.
23. Weyerhäuser P, Kantelhardt SR, Kim EL. Re-purposing Chloroquine for Glioblastoma: Potential Merits and Confounding Variables. *Front Oncol.* 2018;8:335. <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00335>.
24. Wang M, Cao R, Zhang L, Yang X, Liu J, Xu M. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell Res.* 2020;30:269–71. doi: 10.1038/s41422-020-0282-0.
25. Savarino A, Boelaert JR, Cassone A, Majori G, Cauda R. Effects of chloroquine on viral infections: an old drug against today's diseases. *Lancet Infect Dis.* 2003;3:722–7.
26. Chan JF, Chan KH, Kao RY, To KK, Zheng BJ, Li CP. Broad-spectrum antivirals for the emerging Middle East respiratory syndrome coronavirus. *J Infect.* 2013;67:606–16. doi: 10.1016/j.jinf.2013.09.029.
27. Martin RE, Marchetti RV, Cowan AI, Howitt SM, Bröer S, Kirk K. Chloroquine transport via the malaria parasite's chloroquine resistance transporter. *Science.* 2009;325:1680–1682. doi: 10.1126/science.1175667.
28. Saftig P, Klumperman J. Lysosome biogenesis and lysosomal membrane proteins: trafficking meets function. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2009;10:623–35. doi: 10.1038/nrm2745.
29. Wang PH. Increasing host cellular receptor—angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) expression by coronavirus may facilitate 2019-nCoV infection. *bioRxiv.* 2020 Feb 27 doi: 10.1101/2020.02.24.963348.
30. Devaux CA, Rolain JM, Colson P, Raoult D. New insights on the antiviral effects of chloroquine against coronavirus: what to expect for COVID-19? *Int J Antimicrob Agents.* 2020 Mar 12 doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105938. [Epub ahead of print]
31. Tortorici MA, Walls AC, Lang Y, Wang C, Li Z, Koerhuis D. Structural basis for human coronavirus attachment to sialic acid receptors. *Nat Struct Mol Biol.* 2019;26:481–9. doi: 10.1038/s41594-019-0233-y.

32. Moore BR, Page-Sharp M, Stoney JR, Ilett KF, Jago JD, Batty KT. Pharmacokinetics, pharmacodynamics, and allometric scaling of chloroquine in a murine malaria model. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55:3899–907. doi: 10.1128/AAC.00067-11.
33. Fantini J, Di Scala C, Chahinian H, Yahi N. Structural and molecular modelling studies reveal a new mechanism of action of chloroquine and hydroxychloroquine against SARS-CoV-2 infection. *Int J Antimicrob Agents.* 2020 Apr 3 doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105960. [Epub ahead of print]
34. Matsuyama S, Nao N, Shirato K, Kawase M, Saito S, Takayama I. Enhanced isolation of SARS-CoV-2 by TMPRSS2-expressing cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2020;117:7001–3. doi: 10.1073/pnas.2002589117.
35. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell.* 2020;181 doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052. 271–80.e8
36. Chen Z, Mi L, Xu J, Yu J, Wang X, Jiang J. Function of HAb18G/CD147 in invasion of host cells by severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J Infect Dis.* 2005;191:755–60. doi: 10.1086/427811.
37. Kaufmann AM, Krise JP. Lysosomal sequestration of amine-containing drugs: analysis and therapeutic implications. *J Pharm Sci.* 2007;96:729–46. doi: 10.1002/jps.20792.
38. An J, Woodward JJ, Sasaki T, Minie M, Elkon KB. Cutting edge: antimalarial drugs inhibit IFN- β production through blockade of cyclic GMP–AMP synthase–DNA interaction. *J Immunol.* 2015;194:4089–93. doi: 10.4049/jimmunol.1402793.
39. Zhou D, Dai SM, Tong Q. COVID-19: a recommendation to examine the effect of hydroxychloroquine in preventing infection and progression. *J Antimicrob Chemother.* 2020 Mar 20 doi: 10.1093/jac/dkaa114. [Epub ahead of print]
40. Al-Bari MA. Targeting endosomal acidification by chloroquine analogs as a promising strategy for the treatment of emerging viral diseases. *Pharmacol Res Perspect.* 2017;5:e00293. doi: 10.1002/prp2.293.
41. Singh AK, Singh A, Shaikh A, Singh R, Misra A. Chloroquine and hydroxychloroquine in the treatment of COVID-19 with or without diabetes: a systematic search and a narrative review with a special reference to India and other developing countries. *Diabetes Metab Syndr.* 2020;14:241–46. doi: 10.1016/j.dsx.2020.03.011.
42. Wang M, Cao R, Zhang L, Yang X, Liu J, Xu M. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell Res.* 2020;30:269–71. doi: 10.1038/s41422-020-0282-0.
43. Colson P, Rolain JM, Lagier JC, Brouqui P, Raoult D. Chloroquine and hydroxychloroquine as available weapons to fight COVID-19. *Int J Antimicrob Agents.* 2020;55 doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105932.