

## COVID-19

## Czy COVID-19 jest chorobą układu oddechowego czy chorobą układową?

Z badań wirusologów Ewa Biernacka

*Klinicyści nie powinni ignorować potencjalnych długofalowych konsekwencji zakażenia SARS-CoV-2 – uważa wirusolog prof. Krzysztof Pyrc z Małopolskiego Centrum Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego. Takie wnioski przedstawiono w artykule opublikowanym w styczniu 2021 r. w „Clinical Microbiology Reviews”, komentując wyniki badań klinicznych i laboratoryjnych dotyczących przebiegu COVID-19 w kontekście pytania: Czy COVID-19 jest chorobą układu oddechowego czy chorobą ogólnoustrojową? (Synowiec A, Szczepański A, Barreto-Duran E, Lie LK, Pyrc K. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): a systemic infection. Clin Microbiol Rev 2021; 34: e00133-20).*

Nasze rozumienie zagrożenia wynikającego z obecnej pandemii jest nadal ograniczone, choć towarzyszy jej bezprecedensowa liczba badań na całym świecie. Także długoterminowe konsekwencje zakażenia wirusem SARS-CoV-2 wymagają szerokiej dyskusji, od początku bowiem rozważane są i praktykowane różne strategie zarządzania epidemią. Choć COVID-19 dotyczy głównie płuc, obserwuje się też liczne objawy ze strony innych narządów. Możliwe trwałe uszkodzenia układu nerwowego lub rozrodczego, tkanki serca czy naczyń krwionośnych u dzieci wymagają badań nie tylko z powodów klinicznych, lecz także dlatego, że przyjęcie koncepcji uzyskania odporności stadnej przez przechorowanie może mieć trwałe szkodliwy wpływ na społeczeństwa, wykraczający poza samą pandemię.

**Zrozumieć wirusa**

Profesor Krzysztof Pyrc kieruje zespołem wirusologii w Małopolskim Centrum Biotechnologii. Stworzone przez niego w Krakowie laboratorium wirusologiczne i grupa Virogenetics badają przede wszystkim, w jaki sposób wirusy pokonują kolejne zabezpieczenia i dostają się do komórki oraz w jaki sposób zmieniają żywą komórkę

w fabrykę nowych cząstek wirusowych. Laboratorium bada te mechanizmy na poziomie pojedynczych komórek i pojedynczych cząsteczek, by zrozumieć, w jaki sposób wirus działa, i jednocześnie identyfikować słabe punkty, gdzie – jak obrazowo wyjaśnia profesor – można „włożyć kij w szprychy” jego replikacji. W poprzednich latach praca grupy Virogenetics skupiała się na wirusach mogących stanowić zagrożenie epidemiologiczne, takich jak koronawirusy, flawiwirusy, alfawirusy czy wirus grypy. Wraz z pojawieniem się SARS-CoV-2 badania nad nim zintensyfikowano, podejmując serię projektów – od badań w zakresie wirusologii strukturalnej, które próbują odpowiedzieć na pytania dotyczące zakażenia na najbardziej podstawowym dla nas poziomie pojedynczych atomów, poprzez wysiłki zmierzające do stworzenia skutecznych leków po stałe monitorowanie zmienności genetycznej SARS-CoV-2 w Polsce. Wirusy nie są „żywe”. Potrzebują gospodarza – żywej komórki, która dostarczy im *spiritus movens* produkcji składników wirionów (wirusowe mRNA, białko, genom) i pozwoli na namnożenie się i wytworzenie wirusów potomnych. Jak to się dzieje, że tak prosty zbitok materii organicznej powoduje tak duże spustoszenie w naszym orga-



”

prof. Krzysztof Pyrc: Zakażenie SARS-CoV-2 może przebiegać bezobjawowo, jako łagodna infekcja dróg oddechowych, ale również jako ciężka choroba prowadząca do uszkodzenia płuc, niewydolności wielonarządowej i śmierci

nizmie? – Ścisłe dopasowanie do „kodu” żywej komórki pozwala wirusom przeprogramować podstawowe ścieżki w komórce, których używa ona do pobierania pokarmu czy przekazywania sygnałów, i wykorzystywać je do swoich celów. Takie przesterowanie często kończy się śmiercią komórki i wywołuje alarm w organizmie, który w skrajnych przypadkach może przybrać postać zagrażającej życiu burzy cytokinowej – wyjaśnia prof. Krzysztof Pyrc.

– Zakażenie SARS-CoV-2 może przebiegać bezobjawowo (20–40 proc. przypadków), jako łagodna infekcja dróg oddechowych, ale również jako ciężka choroba prowadząca do uszkodzenia płuc, niewydolności wielonarządowej i śmierci. Płuca są głównym miejscem replikacji SARS-CoV-2, ale u zakażonych pacjentów występują też objawy ze strony przewodu pokarmowego, układu sercowo-naczyniowego, nerwowego, nerek i innych narządów. Cała gama powikłań, zwanych long COVID, u osób dorosłych może dotyczyć m.in. utrzymującej się duszności, uszkodzenia płuc, utraty zmysłów smaku i węchu, chronicznego zmęczenia, upośledzenia czynności układu sercowo-naczyniowego. U pacjentów pediatrycznych opisano występowanie ciężkiego powikłania SARS-CoV-2, jakim jest wieloukładowy zespół zapalny u dzieci (paediatric inflammatory multisystem syndrome – PIMS) – wymienia profesor.

– Dane kliniczne oraz dane post-mortem znajdują potwierdzenie w laboratorium – mówi prof. Krzysztof Pyrc.

Badania nad SARS-CoV-2 prowadzone w hodowlach tkankowych oraz organowych (układy badawcze, w których analiza jest prowadzona na wyhodowanych w laboratorium miniaturach organów odzwierciedlających organizację i złożoność tkanek *in vivo*) pokazują, że wirus faktycznie może zakażać bardzo wiele narządów.

### Rola ACE2

Jedną z przyczyn takiej klinicznej kolei rzeczy jest tropizm koronawirusów do komórek nabłonkowych wyścielających drogi oddechowe i układ pokarmowy. SARS-CoV-2 wykorzystuje enzym konwertujący angiotensynę 2 – białko ACE2 – jako



Fot. Jakub Ociepa/AG

receptor wirusowy, który dostaje się do komórek. Jednak nie wszystkie komórki z ekspresją tego enzymu są zakażane. Przypuszcza się, że czasem wymaga to dodatkowego kofaktora – neuropiliny 1.

Wysoką ekspresję ACE2 stwierdzono w komórkach nabłonka jelita krętego (ok. 30 proc. komórek), a także w komórkach mięśnia sercowego i komórkach kanalików proksymalnych nerki (odpowiednio 7,5 proc. i 4 proc. komórek ACE2+). „Szeroka dystrybucja białka ACE2 w tkankach wyjaśnia opisywaną u pacjentów dysfunkcję wielonarządową” – piszą autorzy artykułu w „Clinical Microbiology Reviews”.

W tym przeglądzie prac oceniających poszczególne sytuacje kliniczne z punktu widzenia ich mechanizmów molekularnych *ex vivo* wymieniono m.in. badania Sungnak i wsp., którzy także badali ekspresję ACE2 oraz proteazy aktywującej białko S (TMPRSS2) w różnych typach komórek. Autorzy ci zwrócili uwagę, że COVID-19 może być chorobą ogólnoustrojową.

Zebrane dane z wniosków badawczych różnych grup wirusologów stanowią swoisty przegląd zidentyfikowanych komórek i tkanek, w których może dochodzić do efektywnego zakażenia.

### Układ oddechowy

Stwierdzono, że komórki obecne w drogach oddechowych człowieka, ogólnie tkanki płuc i oskrzeli, wykazują niską ekspresję ACE2, komórki pęcherzykowe typu II wykazują wyższą ekspresję ACE2 i TMPRSS2. Hikmet i wsp. wykazali ekspresję ACE2 w ponad 150 typach komórek z różnych tkanek (analiza immunohistochemiczna), przy czym poziom ekspresji ACE2 w układzie oddechowym nie był wysoki. Agu-

”

W tkance mózgowej zmarłego pacjenta z COVID-19 obserwowano zarówno nacieki monocytarne, jak i limfocytarne, co wskazuje na możliwość wystąpienia zapalenia układu nerwowego podczas zakażenia SARS-CoV-2

iar i wsp. uzyskali podobne wyniki przy użyciu mikromacierzy oraz scRNA-seq – jednej z molekularnych technik analizy RNA na poziomie pojedynczych komórek, dającej możliwość badania rozwoju infekcji zależnej od heterogenności komórek gospodarza i dynamiki infekcji. Sungnak i wsp. zgłosili wysoką ekspresję zarówno ACE2, jak i TMPRSS2 w komórkach kubków nosowych i komórkach rzęskowych. Zhang i wsp. oraz Tindle i wsp. opisali wysoką ekspresję wirusowego białka N w komórkach nabłonka pęcherzyków płucnych w wybarwionych immunologicznie próbkach biopsji tkanki płuc od pacjenta zakażonego SARS-CoV-2, co sugeruje, że komórki te mogą być skutecznie zakażone. Hui i wsp. wykorzystali hodowle *ex vivo* ludzkiego oskrzela i płuc do wykazania, że komórki AT1, komórki rzęskowe i komórki kubkowe są podatne na zakażenie SARS-CoV-2. Zhou i wsp. wykazali wyższą infekcyjność i replikację SARS-CoV-2 niż SARS-CoV w organoidach dróg oddechowych i potwierdzili obserwację za pomocą analizy subgenomowego mRNA, transmisyjnej mikroskopii elektronowej (TEM) i barwienia immunofluorescencyjnego.

### Przewód pokarmowy

Co ciekawe, w cytowanych pracach wykazano znacznie wyższy poziom ekspresji ACE2 w tkankach jelit niż w płucach. ACE2 ulega silnej ekspresji w komórkach nabłonka żołądka i enterocytach jelita cienkiego,

w tym w dwunastnicy, jelicie czczym i krętym, słabiej w kolonocytach. SARS-CoV-2 infekuje tylko enterocyty, a nie komórki kubkowe, EWG, komórki kępkowe czy komórki Panetha. W dojrzałych enterocytach stwierdzono wyższy poziom ACE2 niż w niedojrzałych, przy porównywalnych poziomach replikacji. Może to wskazywać, że niski poziom ekspresji ACE2 jest wystarczający, aby wirus dostał się do komórki, lub że w dojrzałych enterocytach występuje dodatkowy czynnik restrykcyjny. Co ciekawe, ekspresja ACE2 wzrasta w obecności raka żołądka i jelita grubego. Jego zwiększoną ekspresję obserwuje się też u pacjentów z nieswoistym zapaleniem jelit. Chociaż ACE2 nie jest jedynym czynnikiem uczestniczącym w genecie infekcji, to być może pacjenci z rakiem i/lub nieswoistym zapaleniem jelit mogą mieć z nim skorelowane cięższe objawy żołądkowo-jelitowe. Jest to jednak obszar wymagający dalszych badań. Modele jednowarstwowych jelit ludzkich potwierdziły, że SARS-CoV-2 skutecznie infekuje i replikuje się w enterocytach. Oprócz ACE2 podczas wnikania wirusa występują dodatkowi „gracze” – w jelitach białko S, podobnie jak w innych narządach, jest aktywowane przez TMPRSS2, prawdopodobnie również TMPRSS4.

### Układ sercowo-naczyniowy

Celem zakażenia SARS-CoV-2 jest też układ sercowo-naczyniowy. Powszechnie wia-

# COVID-19

”

Modele jednowarstwowych jelit ludzkich potwierdziły, że SARS-CoV-2 skutecznie infekuje i replikuje się w enterocytach

► domo, że pacjenci z istniejącymi wcześniej chorobami układu krążenia są bardziej narażeni na powikłania COVID-19, a następstwami tej choroby są uszkodzenie mięśnia sercowego i niewydolność serca. Czy kliniczne objawy sercowo-naczyniowe mogą być wyłącznie wynikiem zakrzepicy? Istnieje kilka hipotez dotyczących mechanizmu powodującego uszkodzenie serca w przebiegu COVID-19. Dotyczą one bezpośredniego uszkodzenia, w którym pośredniczy zakażenie wirusem SARS-CoV-2, jak zakażenie płuc, indukowane ciężkie przypadki niedotlenienia powodujące uszkodzenie komórek mięśnia sercowego, kardiotoksyczność leków przeciwwirusowych, jak też uszkodzenia pośredniego na skutek nadmiernej odpowiedzi zapalnej. To ostatnie jest szczególnie istotne u pacjentów z wcześniej istniejącymi schorzeniami, ponieważ stan zapalny może być związany z pęknięciem blaszek miażdżycowych tętnic wieńcowych. Ponadto uszkodzenie komórek śródbłonna i utrata kardioprotekcji zapewnianej przez angiotensynę 1–7 (ogniwo układu renina–angiotensyna–aldosteron o działaniu wazodylatacyjnym, antyproliferacyjnym, hamującym procesy włóknienia, a także przeciwwakrzepowym) mogą również prowadzić do uszkodzenia mięśnia sercowego. W maju 2020 r. prof. Tomasz Pasiński w komentarzu do doniesienia PTK na temat międzynarodowego badania dotyczącego roli inhibitorów konwertazy angiotensyny (i sartanów – jak się okazało) w obniżaniu śmiertelności w COVID-19 z powodów sercowo-naczyniowych wyjaśnił, że w warunkach fizjologicznych enzym ACE2 bierze udział w przemianach białek układu RAA. Podczas zakażenia SARS-CoV-2 wirus wnika do komórki po połączeniu z receptorem ACE2. Jest to jednocześnie enzym, który przekształca silnie kurczącą naczynia angiotensynę II w rozszerzającą naczynia angiotensynę 1–7. „Po zakończeniu procesu receptor odszczepia się od komórki śródbłonna i enzym przestaje działać. W badaniach eksperymentalnych wykazano, że stosowanie inhibitorów konwertazy zwiększa aktywność ACE2, co może łagodzić wyżej omówiony proces” (źródło?).

Kilka raportów z badań dokumentuje podwyższone poziomy troponiny, kinazy kreatyninowej i dehydrogenazy mleczanowej w surowicy u osób z COVID-19. Wyższe stężenie troponin, odzwierciedlające uszkodzenie serca, występuje u 5–27,8 proc. hospitalizowanych pacjentów i wiąże się ze znacznie gorszym rokowaniem i zwiększo-



Fot. Jakub Ociepa/AG

nym ryzykiem zgonu. Wysoka ekspresja ACE2 w sercu sugeruje, że możliwy jest bezpośredni uraz. W istocie uważa się, że ze względu na wysoką ekspresję ACE2 docelowymi komórkami serca dla SARS-CoV-2 są perycyty – okołonaczyniowe komórki tkanki łącznej. Częstotki wirusa wykryto w tkance serca, a replikację wirusa wykazano w kardiomiocytach pochodzących z ludzkich komórek macierzystych z pluripotencjalnych komórek, co doprowadziło do widocznych efektów cytotatycznych i zmniejszenia kurczliwości.

### Komórki nerwowe

Udział ludzkich koronawirusów w chorobach neurologicznych sugerowano już dawno temu. U niektórych pacjentów z COVID-19 zgłaszano objawy neurologiczne, w tym bóle głowy, splątanie i zaburzenia świadomości. W ludzkich komórkach glejaka wielopostaciowego U251 zaobserwowano umiarkowaną replikację SARS-CoV-2, co może wskazywać na potencjał neurotropowy wirusa. Zaproponowano różne drogi neuroinwazji koronawirusa. W ludzkim mózgu ekspresja ACE2 zachodzi głównie w neuronach, astrocytach i oligodendrocytach zakrętu środkowego skroniowego i tylnej korze pojedynczej, a także w komórkach śródbłonna i mięśni gładkich tętnic. ACE2 i TMPRSS2 nie ulegają ekspresji w ludzkich neuronach węchowych czuciowych i opuszkach. Są one jednak wyrażane w komórkach podporowych, podstawnych komórkach

”

Wyższe stężenie troponin, odzwierciedlające uszkodzenie serca, występuje u 5–27,8 proc. hospitalizowanych pacjentów i wiąże się ze znacznie gorszym rokowaniem i zwiększonym ryzykiem zgonu

węchowych i komórkach okołonaczyniowych. Obserwacje te nie tylko wskazują na możliwość przedostania się SARS-CoV-2 drogą donosową do mózgu człowieka, ale mogą również wyjaśniać wystąpienie hiposmii i hipogeuzy w wczesnym stadium zakażenia SARS-CoV-2. Obserwowane objawy neurologiczne u chorych na SARS-CoV-2 mogą być również związane z nieprawidłową krzepnością krwi, skutkującą zakrzepicą naczyń krwionośnych i niedokrwiennymi tkanki. Wskazują na to doniesienia opisujące pacjentów z ciężkimi przypadkami SARS-CoV-2, u których występują napady padaczkowe i zaburzenia świadomości z towarzyszącym udarem niedokrwiennym. SARS-CoV-2 wykryto również w krążących monocytach i wykazano, że indukuje aktywację mikrogleju. Ponadto w tkance mózgowej zmarłego pacjenta z COVID-19 obserwowano zarówno nacieki monocytarne, jak

i limfocytarne, co wskazuje na możliwość wystąpienia zapalenia układu nerwowego podczas zakażenia SARS-CoV-2. Nie jest jasne, czy SARS-CoV-2 może w podobny sposób manipulować wrodzoną odpowiedzią immunologiczną gospodarza, aby wywołać uszkodzenie zapalne bariery krew-mózg i przedostać się do ośrodkowego układu nerwowego. Korzystając jednak z modeli organoidów splotu naczyniówkowego, Pellegrini i wsp. oraz Fadi i wsp. wykazali, że SARS-CoV-2 może zaburzać funkcjonowanie bariery krew-płyn mózgowo-rdzeniowy. Dalsze badania z wykorzystaniem modeli tkanki neuronalnej i bariery krew-mózg są konieczne do zbadania rozprzestrzeniania się SARS-CoV-2 i patologii w układzie neurologicznym.

### To jeszcze nie wszystko

Nie są to wszystkie narządy atakowane przez nowego koronawirusa. Wykryto go w komórkach układu odpornościowego, rozrodczego itd. – Obecnie mamy dostęp do wielu danych dotyczących replikacji SARS-CoV-2 w różnych tkankach w modelach *ex vivo*, jednak większość z nich będzie wymagała weryfikacji w warunkach klinicznych. Czy np. namnażanie się wirusa w trzustce może w kolejnych latach prowadzić do cukrzycy lub zwiększać ryzyko jej wystąpienia? – zastanawia się prof. Krzysztof Pyrc. Jak poważne będą konsekwencje takiego wieloukładowego zakażenia, pokażą najbliższe lata. ■