

KORONAWIRUS

Rozmawiała Ewa Biernacka

Wybawienia szukamy w nauce

Rozmowa z prof. dr. hab. Krzysztofem Pyrciem, kierownikiem Pracowni Wirusologii w Małopolskim Centrum Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego

W Pracowni Wirusologii tworzy pan modele zakażeń wirusami układu oddechowego: koronawirusami, ludzkim metapneumowirusem, wirusem grypy. Te zainteresowania sięgają czasu sprzed ataków wirusów odzwierzęcych na ludzką populację i pandemii SARS-CoV-2.

Koronawirusy zawsze były moim głównym tematem badawczym. Są cztery gatunki tzw. sezonowe, które co roku powodują 15–20 proc. wszystkich zakażeń układu oddechowego, na ogół o łagodnym i umiarkowanym przebiegu. Jednak koronawirusy są przede wszystkim wirusami nietoperzami. To właśnie u nietoperzy występuje najwięcej gatunków. Stanowią one również problem weterynaryjny, także w sensie ekonomicznym, np. epidemiczna biegunka świń, której epidemie odnotowano w Chinach i w Stanach Zjednoczonych.

SARS-CoV-2 jest wirusem odzwierzęcym, który zapewne wyewoluował i dostosował się do nowego gospodarza – człowieka. Stało się to albo na drodze selekcji naturalnej w organizmie gospodarza zwierzęcego i następnie przeniesienia na człowieka, albo selekcyjnego doboru naturalnego w trakcie namnażania się u człowieka, już po przeniesieniu. Dlaczego SARS-CoV-2 był zdolny wywołać pandemię i spowodować chorobę, która w pewnych przypadkach ma ciężki przebieg – śródmiąższowe zapalenie płuc, zakończone nawet zgonem? Czy stało się tak dlatego, że układ immunologiczny człowieka nigdy się z nim nie zetknął, czy też jego zjadliwość wynika z siły układu odpornościowego nietoperzy?

Nietoperze nie mają silniejszego układu odpornościowego niż człowiek, tylko inny. Układ odpornościowy nietoperza jest w stałej gotowości na poziomie pojedyn-



Fot. Elżbieta Wajtor

czej komórki dzięki mocnej odpowiedzi interferonowej. U człowieka ta odpowiedź jest słabsza, ale w reakcji na infekcję łatwiej dochodzi do mobilizacji sił obronnych całego organizmu i do rozwoju stanu zapalnego. Faktycznie koronawirusy mają ewolucyjnie wykształcone mechanizmy radzenia sobie z wrodzoną odpowiedzią u nietoperzy, ale to zjawisko jako źródło ich potencjału epidemicznego to tylko hipoteza. Dlaczego SARS-CoV-2 powoduje poważną chorobę? Tu czynników jest bardzo dużo. SARS-CoV-2, podobnie jak SARS, wiąże się z ważnym białkiem ludzkim, tzw. receptorem ACE-2. Gdy zaczyna się zakażenie, obniża on poziom tego białka na powierzchni zakażonych komórek. Zaburzony zostaje szlak renina–angiotensyna i sama obecność zakażenia wirusowego narusza homeostazę płuc. Dlaczego powoduje pandemię? Pandemię wywołują wirusy, które mają odpowiednie parametry, ale również dużo potencjalnych „ofiar” w populacji. Nasze układy immunologiczne nie znają tego patogenu, więc potencjalnie każdy może zachorować. A populacja globu liczy ok. 7,5 miliarda ludzi.

Nie jest on jednak pierwszym odzwierzęcym wirusem w populacji, a wirusy SARS, MERS, Zika, Ebola nie spowodowały pandemii.

SARS-CoV wygaśł dlatego, że warunki pogodowe – temperatura i wilgotność – były

infekcji układu oddechowego, które o tej porze roku są bardzo powszechne. W początkowej fazie objawy są łagodne albo nie ma ich wcale. I wirus skrycie zaraża.

Jakie cechy tego wirusa są badane jako istotne w przeciwdziałaniu zakażeniu i leczeniu COVID-19?

SARS-CoV-2 jest wirusem osłonkowym, którego genom stanowi jednoniciowe RNA, jednym z największych wirusów RNA. Glikoproteina S, tworząca jego „kolce”, warunkuje rozpoznanie receptorów na powierzchni komórki gospodarza i wnikanie wirusa do jej wnętrza. Koronawirusy wykazują tropizm do komórek nabłonkowych dróg oddechowych i układu pokarmowego. Receptorem, do którego wiążą się cząstki wirusa SARS-CoV-2, jest białko ACE-2 – konwertaza angiotensyny II, występujące u ludzi i u nietoperzy. Badania opublikowane w „Antiviral Research” (Sigrist i wsp. 2020) sugerują, że SARS-CoV-2 może wykorzystywać dodatkowo inne receptory. Unikalna budowa wirusa może wpłynąć na poszerzenie jego tropizmu do różnych komórek docelowych i zwiększenie wirulencji.

Jaki jest stan badań nad SARS-CoV-2, co o nim wiemy, np. na poziomie wirusologii molekularnej, m.in. dzięki podobieństwu do SARS-1? I czego nie wiemy?

Wiele grup badawczych przestawiło swoją działalność na badanie tego patogenu, a liczba nowych informacji o nim jest wprost nieprawdopodobna. Wystarczy mieć jakiś pomysł, a następnego dnia okazuje się, że inna grupa badawcza już nad nim pracuje albo już publikuje wyniki. Badane jest absolutnie wszystko. Koronawirusy są grupą względnie dobrze poznaną, jeśli chodzi o specyficzne dla nich receptory na komórkach gospodarza i mechanizmy namnażania się, dlatego wiedza zdobyta podczas poprzedniej epidemii SARS w 2002 r. pozwala obecnie na zastosowanie leków już dopuszczonych do leczenia ludzi. Znamy podstawowy receptor – główną ścieżkę przenoszenia się tego wirusa. Wiemy, że przenosi się drogą kropelkową, przez powierzchnie, przez dym. Jest wrażliwy na detergenty, na rozpuszczalniki organiczne, na światło UV, na temperaturę powyżej 60°C, w której traci zakaźność. Nie wiemy, czy są jakieś inne ścieżki jego przenoszenia się, czy możliwe jest zakażenie fekalno-oralne. Pojawiają się informacje, że może się przenosić nie ▶

”

Obecnie mamy do czynienia z wirusem, który ma stosunkowo długi okres inkubacji, a później wywołuje objawy typowe dla infekcji układu oddechowego, które o tej porze roku są bardzo powszechne. W początkowej fazie objawy są łagodne albo nie ma ich wcale. I wirus skrycie zaraża

na tyle niekorzystne, że przestał się efektywnie przenosić między ludźmi. To był maj, temperatury wzrosły powyżej 20°C. Dawał wyraźne objawy, więc łatwo było zidentyfikować pacjentów „zero”. Pandemię udało się opanować do tego stopnia, że wirus nigdy do nas nie wrócił w swojej wysoce patogennej formie. MERS-CoV jest ciągle z nami, jednak bardzo słabo przenosi się między ludźmi. Wirus Zika spowodował pandemię, ale nie dotarł do nas, bo u nas nie ma komarów, które go przenoszą. Wirus Ebola trudniej jest się zarazić i objawy są łatwiej uchwytne. Obecnie mamy do czynienia z wirusem, który ma stosunkowo długi okres inkubacji, a później wywołuje objawy typowe dla

KORONAWIRUS



Fot. Jakub Ocępa/AG



Pandemię wywołują wirusy, które mają odpowiednie parametry, ale również dużo potencjalnych „ofiar” w populacji. Nasze układy immunologiczne nie znają tego patogenu, więc hipotetycznie każdy może zachorować. A populacja globu liczy ok. 7,5 miliarda ludzi

► tylko drogą kropelkową, lecz także przez aerozole, przez powietrze – ale to na razie spekulacje. Wiemy, że po dostaniu się do dróg oddechowych człowieka musi znaleźć swój efektor na powierzchni komórek. Znamy główny efektor układu RAA – białko na szlaku renina–angiotensyna–aldosteron wykorzystywane przez tego wirusa (Ang-2), ale nie wiemy, czy tych białek nie ma więcej. Wirus wiąże się do tego białka (przeciwiała do antygenów). Jedną z zasad purynowych aktywuje wirusa, dochodzi do fuzji błony wirusa z błoną komórki. Wirus zakaża urzęsione komórki układu oddechowego, możliwe też, że zakaża inne komórki, i dokonuje remodelingu wnętrza komórki. W sporych ilościach produkowane są białka wirusowe, na początek np. polimeraza RNA (SARS-CoV-2 jest wirusem RNA i komórka nie posiada narzędzi do kopiowania jego genomu), zestaw narzędzi do tego jest przenoszony przez wirusa we własnym genomie, potem helikazy, wszystkie białka potrzebne do wyprodukowania białka genomu, do replikacji genomu wirusa. W tej maszynierii są też białka służące wirusowi do zablokowania odpowiedzi immunologicznej komórki, np. interferonu. Przez to nie uruchamia się czujnik, który powinien doprowadzić do indukcji odpowiedzi obronnej na poziomie pojedynczej komórki. W dużym białku powstającym na początku znajdują się wszystkie proteazy, które mają przecinać to wielkie białko na kawałki. Pocięte fragmenty służą jako

w pełni funkcjonalne białka. Jedną z proteaz odpowiedzialnych za cięcie białek, niezbędnych wirusowi do replikacji, jest proteaza Mpro. Warto wspomnieć, że prof. Marcin Drąg z Wrocławia z zespołem opisał preferencje substratowe enzymu. Po powstaniu całej tej maszynierii: kilkunastu różnych białek o różnych aktywnościach, tworzą się „organella” wewnątrzkomórkowe, które służą za fabryki białek strukturalnych oraz RNA wirusowego. Tam też dochodzi do składania się nowych wirionów, które wydostają się z komórki i później zakażają komórki sąsiednie lub wraz ze śliną wydostają się na zewnątrz podczas kaszlu, kichania czy po prostu mówienia. Chociaż wiemy, jak działa wirus SARS-CoV-2, diabeł tkwi w szczegółach. Aby zaprojektować bezpieczne i skuteczne leki, musimy poznać detale tego konkretnego wirusa. Na razie jeszcze nie rozumiemy, dlaczego ciężko chorują głównie ludzie starsi. Przed nami również trudne badania immunologiczne i wirusologiczne.

► **Nie wystarczyłoby znaleźć inhibitor proteazy Mpro odpowiedzialnej za efektywną replikację patogenu i transmisję zakażenia?**

Równie łatwo można by powiedzieć, że wystarczy zaprowadzić pokój na świecie. Poczesne miejsce proteaz wirusowych, w tym Mpro, w badaniach wynika głównie z faktu, że jednymi z najsukcesywniejszych leków przeciw wirusowi HIV są właśnie

inhibitory proteazy. Niestety, proteazy koronawirusów należą do innej klasy, są to proteiny cysteinowe, w przypadku których praca ta jest znacznie trudniejsza.

► **Zespół prof. Rolf Hilgenfelda, który miał wielki wpływ na wygaszenie epidemii SARS-1 w latach 2002–2003, i zespół prof. Marcina Drąga badają właśnie proteazy oraz inne białka wirusa SARS-CoV-2. Co wynika z tych badań?**

Są to bardzo cenne badania podstawowe. Uzyskana wiedza jest ważna dla zrozumienia biologii wirusa, jednak trudno mi się wypowiedzieć na temat ich praktycznego zastosowania.

► **Grupa badawcza Tunneling Group, czyli zespół pod kierunkiem dr. inż. Artura Góry z Politechniki Śląskiej, we współpracy z Politechniką w Turynie i Uniwersytetem Alberta w Kanadzie badała proteazę Mpro, porównując ją z enzymem SARS-1, w kontekście mutacji wirusa prowadzących do zmian w sekwencji głównej proteazy. Czy te prace również miały charakter badań podstawowych?**

W badaniach tych szukano bardziej stabilnego regionu Mpro, do którego potencjalne leki mogłyby się lepiej wiązać, sprawdzając skuteczność wiązania się innych związków. Pierwsze wyniki badań zespołu dr. Góry zostały udostępnione wszystkim zainteresowanym już na początku marca i czekają na recenzje w jednym z poważnych czasopism. To są próby wygrania wyścigu z przyrodą – przewidzenia dynamiki molekularnej wirusa, analizy ewolucyjnej białek Mpro, badania ich stabilności. Próby znalezienia miejsca zahamowania tej proteazy innego niż dotąd.

► **Firma biotechnologiczna z Tybingi CUREVAC pod kierownictwem dr Marioli Fotin-Mleczek ogłosiła, że opracowała szczepionkę opartą na białku RNA wirusa SARS-CoV-2. To jeden z efektów gorączkowej pracy firm farmaceutycznych nad tworzeniem testów diagnostycznych, leków i szczepionki koordynowanej przez WHO. Tempo i współpraca na niespotykaną skalę – imponujące.**

Badania nad szczepionkami toczą się w dużych firmach. Wszyscy robią, co mogą, żeby szybko taka szczepionka powstała – byłaby wybawieniem. Na przykład firmy Pfizer oraz BioNTech wspólnie rozwijają potencjalną szczepionkę przeciwko koronawirusowi na bazie platformy mRNA. Umowa o współpracy umożliwiła im przyspieszenie tworzenia potencjalnie pierwszej w swojej klasie szczepionki mRNA COVID-19 BioNTech – BNT162, której testy kliniczne mają się rozpocząć w kwietniu 2020 r. Można powiedzieć, że eksplodowały intensywne badania na całym świecie w celu opracowania skutecznej i bezpiecznej szczepionki przeciwko wirusowi SARS-CoV-2. Ta z Tybingi jest jedną z bardziej

obiecujących eksperymentalnych szczepionek RNA. Niedawno też amerykański National Institutes of Health ogłosił rozpoczęcie I fazy klinicznej badań nad nowatorską szczepionką mRNA-1273, opartą na fragmencie materiału genetycznego wirusa SARS-CoV-2 kodującym glikoproteinę S. Szczepionkę mRNA-1273 opracowali naukowcy z National Institute of Allergy and Infectious Diseases przy współpracy z firmą biotechnologiczną Moderna Inc. z Cambridge w Massachusetts. W badaniach w Kaiser Permanente Washington Health Research Institute w Seattle oceniających bezpieczeństwo i immunogenność endogennej glikoproteiny S wirusa SARS-CoV-2 uczestniczy 45 zdrowych ochotników w wieku 18–55 lat. Zostaną oni poddani szczepieniu mRNA-1273 i będą monitorowani przez 12 miesięcy.

► **Zanim doczekamy się szczepionki przeciwko SARS-CoV-2, badacze testują „stare” cząsteczki o pewnej skuteczności w mobilizowaniu układu odpornościowego przeciw zakażeniom wirusowym. Na przykład szczepionkę mającą aktywować układ immunologiczny osłabiony wiekiem – Bacillus Calmette-Guérin – BCG.**

Natea i Evangelos Giamarellos z Uniwersytetu w Atenach prowadzą badania w Holandii, Australii, Wielkiej Brytanii i w Niemczech nad tą szczepionką. Sprawdzają, czy stymuluje ona układ odpornościowy człowieka, który dzięki temu lepiej poradzi sobie przy zakażeniu wirusem SARS-CoV-2.

► **A jakie są szanse na szczepionkę i leki przeciwko SARS-CoV-2?**

GlaxoSmithKline w celu opracowania takiej szczepionki współpracuje z pięcioma firmami partnerskimi i grupami badawczymi na całym świecie, m.in. w USA i Chinach. Udostępnia swoją sprawdzoną technologię adiuwantową, której zastosowanie ma szczególne znaczenie w sytuacji pandemii, ponieważ może zwiększyć liczbę wytwarzanych dawek szczepionki. W odpowiedzi na prośbę Francuskiego Narodowego Instytutu Badań Zdrowia i Medycyny firma przekazała interferon beta-1a z myślą o zastosowaniu w badaniu klinicznym w kierunku zwalczania zakażeń SARS-CoV-2. Merck dołączył do inicjatywy Fundacji Billa i Melindy Gates, w ramach której 15 firm działających w obszarach ochrony zdrowia połączyło siły w walce z pandemią COVID-19. Współpraca ma na celu przyspieszenie rozwoju, produkcji, a także dostarczenia szczepionek, testów oraz leków na COVID-19. ■

Pytania przygotowano m.in. na podstawie: prof. Zuzanna Drulis-Kawa, Koronawirus SARS-CoV-2 – biologia, wykrywanie i zwalczanie, Przegląd Uniwersytecki on line, Uniwersytet Wrocławski oraz INFARMA (Związek Pracodawców Innowacyjnych Firm Farmaceutycznych).