

Pandemiczny koronawirus SARS-CoV-2 jest przyczyną choroby zwanej COVID-19, która charakteryzuje się między innymi zapaleniem płuc o ciężkim przebiegu. Do połowy grudnia 2020 na świecie potwierdzono ponad 69 milionów przypadków a ponad 1,5 miliona chorych zmarło. Niekiedy infekcja przebiega bezobjawowo lub ma łagodny przebieg, lecz u wielu chorych dochodzi do ostrej niewydolności oddechowej i często śmierci. Trudności w zahamowaniu rozprzestrzeniania się wirusa wynikają z braku swoistych objawów (te mogą przypominać objawy innych zakażeń), braku skutecznych metod leczenia, długiego czasu, który mija od zakażenia do wystąpienia objawów, a także transferu wirusa przez osoby zakażone bezobjawowo. Skuteczna odpowiedź układu odpornościowego, zarówno naturalna (wrodzona), jak i nabyta (wytworzenie swoistych przeciwciał) jest kluczowa dla przebiegu infekcji i jej następstw. Kiedy odpowiedź wrodzona nie wyeliminuje patogenu lub nie pobudzi odpowiednio układu odporności nabytej, może dojść do rozwoju przedłużającej się, silnej, zagrażającej życiu reakcji zapalnej. Przejawia się ona między innymi tzw. burzą cytokinową, prowadzącą do niewydolności oddechowej i uszkodzenia narządów. Układ dopełniacza stanowi ważny element pierwszej linii obrony organizmu przed patogenami. Niektóre z jego czynników mogą rozpoznawać antygeny SARS-CoV-2, w tym tzw. glikoproteinę Spike (Spike glycoprotein, S-gp) – białko powierzchniowe wirusa, zawierające łańcuchy cukrowe - glikany. Białko to jest podobne do odpowiedniej struktury znanego wcześniej innego koronawirusa - SARS-CoV-1 i zawiera reszty mannozy. Glikany bogate w mannozę mogą odgrywać istotną rolę w interakcji wirusa z kolektynami, takimi jak MBL, CL-K1, CL-L1 lub SP-D (wyjaśnione niżej). Ponadto, uważa się, że S-gp może być strukturą rozpoznawaną przez ludzkie fikoliny. Kolektyny i fikoliny, będące czynnikami odporności wrodzonej działają podobnie do przeciwciał, lecz w przeciwieństwie do nich, ich swoistość (czyli zdolność do rozpoznania „obcego”) jest szeroka. Takie, swoiste dla cukrów czynniki, nazywane są lektynami. Wymienione lektyny, z wyjątkiem SP-D, mają zdolność aktywacji dopełniacza (na tzw. drodze lektynowej), dzięki współdziałaniu z enzymami MASP, występującymi z nimi w kompleksach. Niektóre z nich (MBL, CL-K1, SP-D) swoście rozpoznają mannozę. Na podstawie danych dotyczących SARS-CoV-1 i ostatnich doniesień literaturowych na temat SARS-CoV-2, sądzimy, że oddziaływanie układu dopełniacza z antygenami powierzchniowymi drugiego z wymienionych wirusów może mieć kluczowe znaczenie dla przebiegu i następstw COVID-19: może przyczyniać się do eliminacji wirusa lecz, z drugiej strony, przy nadmiernej aktywacji, do wystąpienia niepożądanych, ciężkich objawów, takich jak wstrząs połączony z uszkodzeniem narządów. Możliwość niekorzystnego wpływu aktywacji dopełniacza sugerują wstępne, obiecujące próby leczenia COVID-19 za pomocą jej inhibitorów (czynników hamujących), włączając selektywny (wybiórczy) inhibitor drogi lektynowej - narsoplimab. Ponadto, lektyny te prawdopodobnie mogą modyfikować wiązanie swoistych przeciwciał do glikoproteiny Spike i, w zależności od etapu zakażenia, nasilać lub hamować ich działanie antywirusowe. Aby poznać rolę glikozylacji SARS-CoV-2 w oddziaływaniu z kolektynami i fikolinami, proponujemy badanie wiązania tych czynników - rekombinowanych i obecnych w surowicy (występujących w kompleksach z MASP, a więc zdolnych do aktywacji dopełniacza) do glikoproteiny Spike SARS-CoV-2 i uzyskanych na drodze modyfikacji jej wariantów o zmienionej strukturze glikanów. Planujemy wytworzenie (w systemie niewymagającym użycia wirusa SARS-CoV-2) rekombinowanej glikoproteiny S oraz 3 jej wariantów o zmienionym wzorze cukrowym i ocenę znaczenia glikanów (zwanych N-glikanami) w rozpoznaniu wirusa przez wybrane lektyny. Glikoproteina Spike SARS-CoV-1 uzyskana w podobny sposób posłuży jako kontrola pozytywna. Planujemy także zbadanie niektórych konsekwencji biologicznych oczekiwanych interakcji (aktywacja dopełniacza, wpływ na oddziaływanie S-gp ze swoistymi przeciwciałami). Badanymi lektynami będą: lektyna wiążąca mannozę (MBL), kolektyna wątrobowa 1 (CL-L1), kolektyna nerkowa 1 (CL-K1), fikolina-1, fikolina-2 i fikolina-3. Dodatkowo analizować będziemy także kolektynę surfaktantu płucnego D (SP-D), która, jak wspomniano, nie aktywuje dopełniacza (rozpoznaje jednak mannozę i występuje zarówno w surowicy, jak i w układzie oddechowym). Ostatnio w Polsce wystąpiły przypadki dziecięcego wielonarządowego zespołu zapalnego tymczasowo związanego z SARS-CoV-2 (PIMS-TS). Choroba rozwija się zazwyczaj 3-4 tygodnie po infekcji wirusem SARS-CoV-2, często u dzieci/młodzieży, u których nie wystąpiły (lub wystąpiły łagodne) objawy COVID-19. U pacjentów PIMS-TS występuje gorączka, w większości przypadków silne bóle brzucha, biegunka i/lub wymioty. Powikłaniami szczególnie zagrażającymi życiu są uszkodzenia narządów wewnętrznych, w tym serca. Objawy PIMS-TS przypominają znaną wcześniej chorobę Kawasaki, w ciężkich przypadkach także wstrząs toksyczny. Planujemy badania wpływu wspomnianych lektyn na oddziaływanie powstałych w wyniku przebytego przez pacjentów z rozpoznaniem PIMS-TS zakażenia SARS-CoV-2 przeciwciał z glikoproteiną Spike i konsekwencji biologicznych takich oddziaływań. W badaniach tych wykorzystamy próby surowicy chorych pozostałe po rutynowych badaniach diagnostycznych. Realizacja projektu może przyczynić się do opracowania nowych metod diagnostyki COVID-19, strategii terapii i zapobiegania chorobie (np. do stworzenia szczepionki w oparciu o określone glikany). Może też przyczynić się do lepszego zrozumienia podstaw rozwoju PIMS-TS – nowej, słabo jeszcze poznanej, ciężkiej choroby, dotykającej dzieci i młodzież.