

AZ ALLERGIÁS ASZTMA ÉS A SÚLYOS KORONAVÍRUS-BETEGSÉG

Dr. Rónai Zoltán

MyClinic Magánklinika, Pécs

A koronavírus-fertőzés elleni új terápiás módszerek kutatása során különösen fontos, hogy betekintést nyerjünk abba, hogyan zajlik a fertőzés terjedése és mi a szerepük a gyulladásos mediátoroknak a vírus szaporodásában. A SARS-CoV-2 omikron variánsával megfertőződtek túlnyomó többsége enyhe megfázáshoz hasonló vagy mérsékelt influenzaszerű tüneteket tapasztal, sőt, van aki tünetmentes, de a vírus annyira terjedőképes, hogy mélyen behatol a tüdőszövetekbe, és 2022-ben már több ezer ember súlyos betegségét és halálát okozta az Egyesült Államokban.

A fokozott váladéktermeléssel járó obstruktív tüdőbetegségek – például a COPD – a súlyos Covid-19 magas kockázatával járnak együtt. Számos tényező növeli a kockázatot, de a járvány előrehaladtával az epidemiológusok megállapították, hogy az allergiás – például penészgomba, pollen és állati eredetű allergének által okozott – asztmában szenvedők kevésbé hajlamosak a súlyos betegségre.

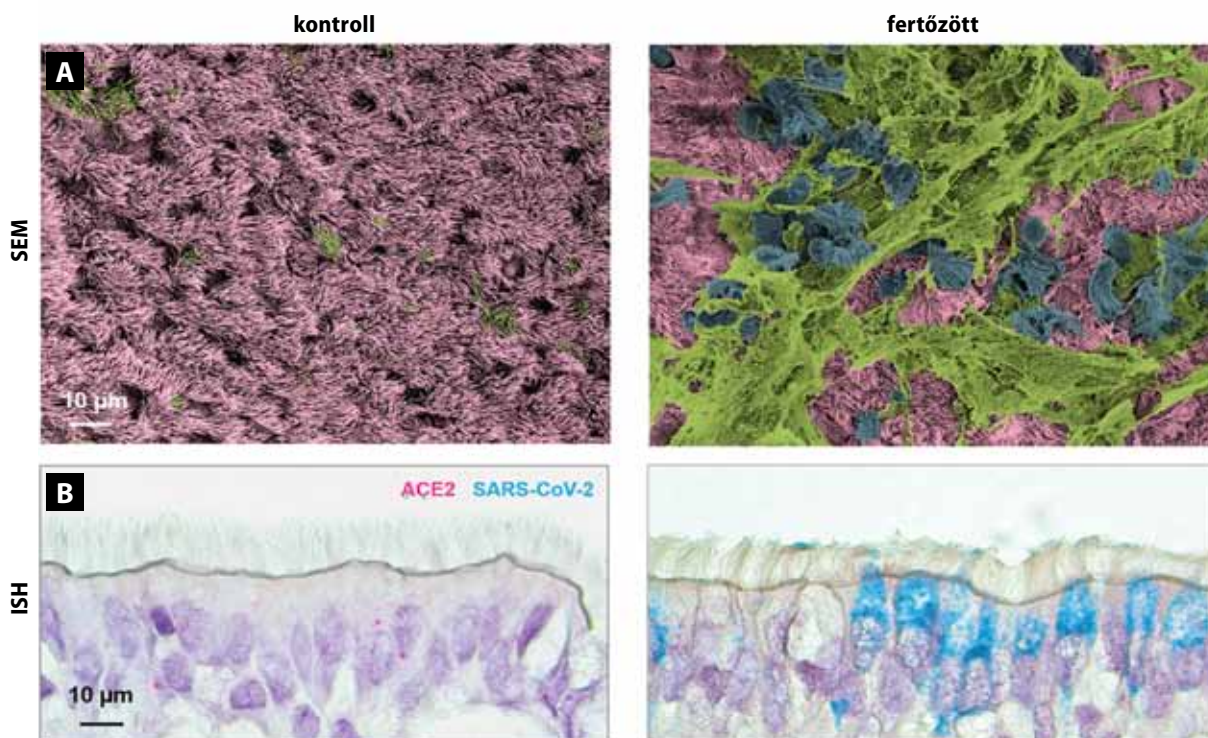
Morrison és munkatársai feltárták a betegség progressziójának biológiai okait, és magyarázatot adtak arra is, hogy az asztmás betegek egy része miért kevésbé fogékony a súlyos Covid-19-re. Rámutattak az interleukin-13

(IL-13) fontosságára a sejtek SARS-CoV-2 elleni védekezésében, ami segít megérteni azt a rejtélyes jelenséget, hogy az allergiás asztmában szenvedők sokkal kevésbé hajlamosak a súlyos szövődményekre, mint az általános lakosság, annak ellenére, hogy krónikus tüdőbetegségük van. Ugyanakkor ez nem mondható el a más légúti betegségekben, például a krónikus obstruktív tüdőbetegségben (COPD) szenvedőkről, akiknél nagyon magas a súlyos Covid-19 kockázata.

Kezdetből azt feltételezték, hogy valamilyen biomechanikus oka van az allergiás asztmában szenvedők nagyobb védettségének a súlyos szövődményekkel szemben. Számos jelentős sejteltváltozást írtak le, melyek legfőképpen az IL-13 hatásainak következtében jöttek létre. Ez arra enged következtetni, hogy az IL-13 egyedülálló szerepet játszik a SARS-CoV-2 fertőzés elleni védekezésben bizonyos betegpopulációkban.

ASZTMA-MODELL SZÖVETTENYÉSZETBEN

A kutatók vírus terjedésének megismerése céljából humán légúti epitheliális sejt kultúrákat fertőztek meg koronavírusal, és a gazda-vírus



1. ábra: Vírusbejutási markerek és váladékszekréció a kontroll és a SARS-CoV-2-vel fertőzött humán légúti hámsejttenyészetben. A kontroll és a fertőzött sejttenyészeteket fixálták és előkészítették az mRNA extrakcióhoz. (A) A kontroll és a fertőzött humán légúti hámsejttenyészetek felülnézeti képei pásztázó elektronmikroszkóppal (SEM) 96 órával az infekció után. A képeket Adobe Photoshop segítségével színezték, hogy azonosítsák az egészséges sejteket (rózsaszín), a légúti váladékot (zöld) és az extracelluláris mátrixról leváló és elhaló sejteket (kék). (B) RNS *in situ* hibridizáció (ISH) a kontroll és a fertőzött humán légúti hámsejteken 48 órával az infekció után ACE2 mRNA (lila) és SARS-CoV-2 mRNA jelöléssel (ciánkék).

kölcsönhatásokat vizsgálták elektronmikroszkóppal, immunhisztokémiai módszerekkel, RNS *in situ* hibridizációval és gén-expressziós analízisekkel.

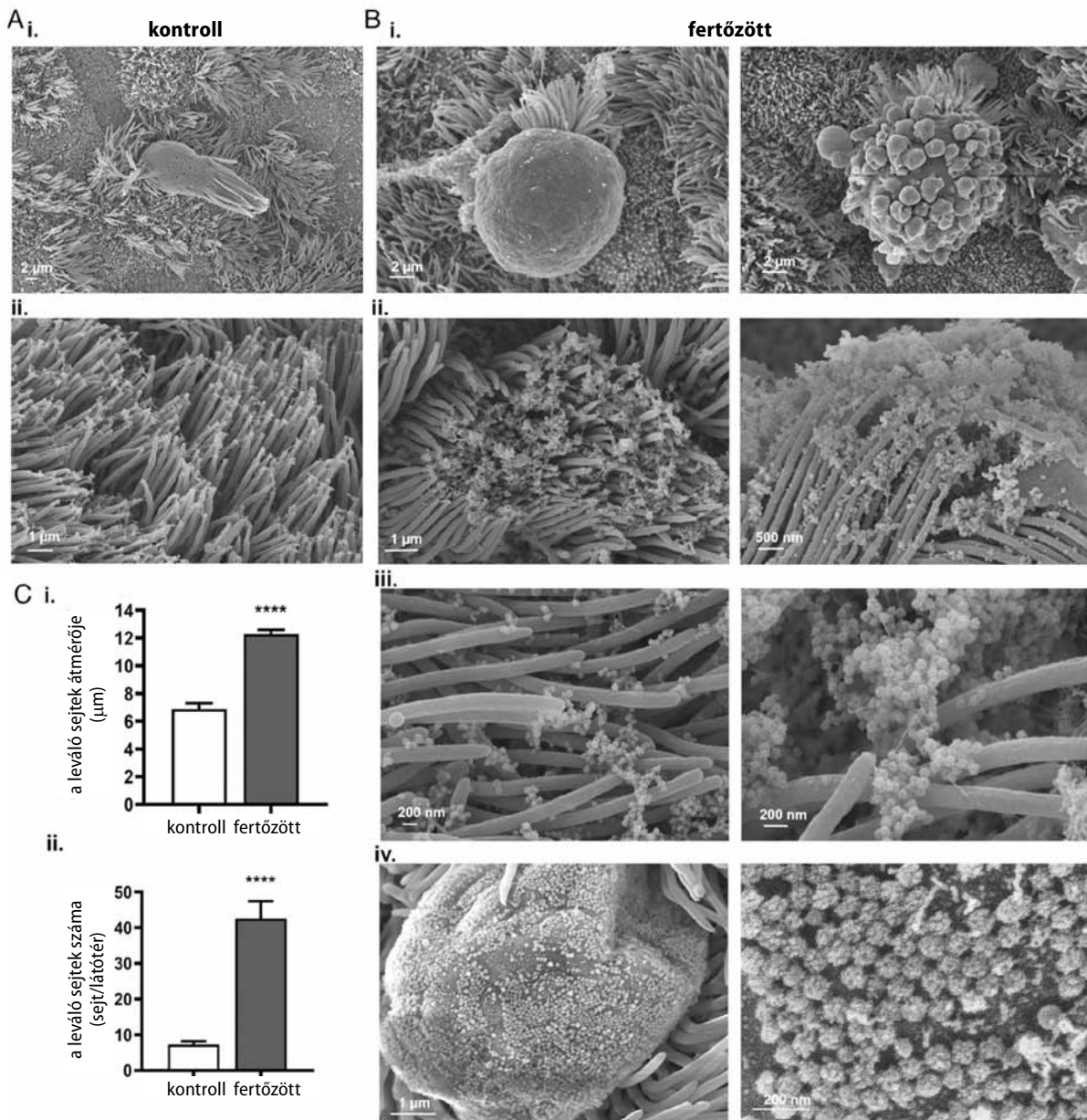
A légúti hámsejttenyészetekben az angiotenzin-konvertáló enzim 2 (ACE2) expressziója a fertőzés hatására nőtt, és ez szabályozta a vírus sejtropizmusát és a vírusterhelést. A fertőzött légúti sejtekkel végzett további kísérletekben kimutatták, hogy a légúti váladékot alkotó fő nyálkafehérje, a MUC5AC mennyisége jelentősen csökkent a sejtekben, valószínűleg amiatt, mert ezeket a fehérjéket szekretálják a sejtek azért, hogy megpróbálják elfogni a beható vírusokat (1. ábra). A vírusterhelés azonban folyamatosan nőtt, mert a MUC5AC termeléséért felelős sejtek túlterhelődtek az egyre fokozódó vírusfertőzés miatt.

Az asztmás légutak modellezése céljából a légúti hámsejteket IL-13-mal kezelték, aminek hatására csökkentek a vírustiterrek, csökkent

a vírus mRNA mennyisége, mérséklődött a sejtek leválása, valamint jelentősen csökkent a fertőzött sejtek száma. Bár a váladék túltermelésnek védő szerepe volt, az IL-13-mal kezelt sejtek a légúti váladék eltűnése ellenére is fenntartottak bizonyos fokú védelmet.

ELEKTRONMIKROSKÓPOS VIZSGÁLATOK

Elektronmikroszkópos vizsgálattal a koronavírus fontos jellemzői ismerhetők meg, ideértve a nagyméretű, gyorsan létrejövő, virionokkal megrakott vezikulumok keletkezését és a virionokkal teli hámsejtek tömeges leválását. Megfigyelték a vírus fokozott kiáramlását a fertőzött csillószőrös hengerhámsejtekből, és emellett más súlyos sejtkárosodásokat is feltártak, melyek a virionokkal teli csillószőrös hengerhámsejteknek a nyálkahártya felszínéről való leválásához vezettek. Ez a mechanizmus vezet oda, hogy a SARS-CoV-2 vírusok



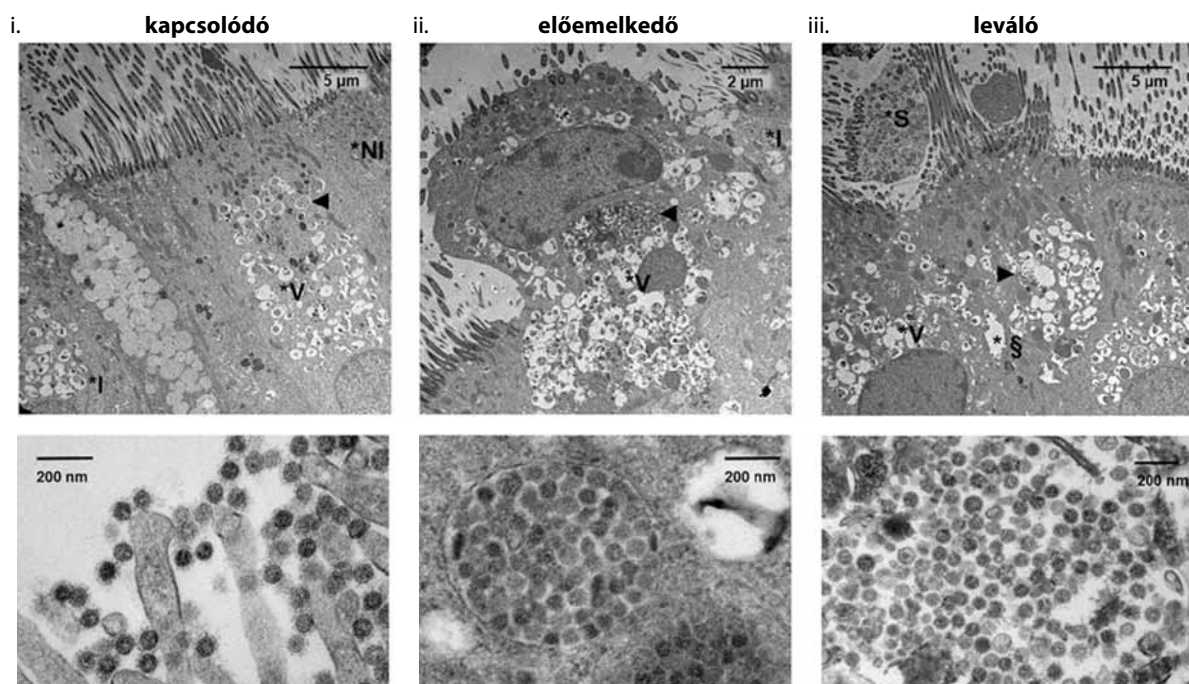
2. ábra: Tömeges vírus- és sejtleválás a SARS-CoV-2-vel fertőzött humán légúti hámsejttenyészetben. A hámsejteket foszfátpufferrel inkubálták (kontroll) vagy SARS-CoV-2-vel fertőzték és előkészítették pásztázó elektronmikroszkópos vizsgálathoz. (A) A kontroll sejtenyészet jellegzetes képei szórványos csillóleválással (i) és laza csillóvégekkel (ii). (B) A fertőzött sejtenyészet jellegzetes képei 96 órával az infekció után, ballonszerű leváló sejtekkel (i), virionokkal bevont csillóvégekkel (ii), a csillószálak között létrejövő virioncsoportokkal (iii), és a sejt kiboltosulása a sejtmembránon szét-szórt virionokkal (iv.). (C) Kvantitatív analízis: a leváló sejtek átmérője (i) és a leváló sejtek látóterenkénti száma 24 órával az infekció után (ii); n=18 fertőzött humán légúti hámsejttenyészet hat donortól, ****P < 0,0001.

tömegesen egybecsomagolva, nagy mennyiségben terjedjenek, és ez növeli annak az esélyét, hogy a fertőzött sejtek lejussanak a mélyebb tüdőszövetekbe (2. és 3. ábra).

AZ IL-13 HATÁSAI

Az allergiás asztmás betegek, akiknek a tüdejében nagy mennyiségben termelődik IL-13,

kevésbé fogékonyak súlyos Covid-19-re. Gén-expressziós analízissel és biokémiai vizsgálatokkal kimutatták, hogy az IL-13 befolyásolja a vírus bejutását, a replikációját és a sejtről sejtre való átvitelét. A Gene Expression Omnibus adatbázisok használatával végzett tömeges RNS-szekvenálási analízisekkel kimutatták, hogy az IL-13 serkenti azokat a géneket, amelyek a glikoprotein-szintézist, az iontranszpor-



3. ábra: A transzmissziós elektronmikroszkópos felvételek a SARS-CoV-2-vel fertőzött csillószőrös hengerhámsejtek átalakulásának három stádiumát mutatják be: a még szorosan kapcsolódó (i), az előemelkedő (ii) és a leváló (iii) stádiumot. A felső sorban kis nagyítású, az alsó sorban nagy nagyítású képek láthatók a fertőzött sejtekről a különböző stádiumokban. A szorosan kapcsolódó stádiumban a fertőzött sejtek citoplazmáját vakuólumok foglalják el, a sejtmag pedig érintetlen marad. Az előemelkedő stádiumban a fertőzött sejtek kifelé terjeszkednek, a vakuólumok virionokkal telnek meg, a sejtmagok pedig piknózis jeleit mutatják. A leválási stádiumban a csillószőrös hengerhámsejtek teljesen leválnak az alapjukról, az intracelluláris vakuólumok nagyok és virionokkal tömöttek, a sejtmagokon kariorrhexis jelei mutatkoznak, a sejtmembrán felbomlott, ami megkönnyíti a tartalom lumenbe jutását. A nagy nagyítású képeken jól látszanak a vírustüskék a nagy kontrasztú, ~100 nm-es gömb alakú struktúrákon. (*I: fertőzött sejt; *NI: nem fertőzött sejt; *V: vakuólum; ►: SARS-CoV-2 virionok; *S: leváló sejt; *S: megszakadt sejtkapcsolatok)

tot és a vírusellenes folyamatokat szabályozzák (bár ezek nem a tipikus interferon által indukált gének), és gátolja azokat a géneket, amelyek a csillóműködést és a riboszomális feldolgozást szabályozzák.

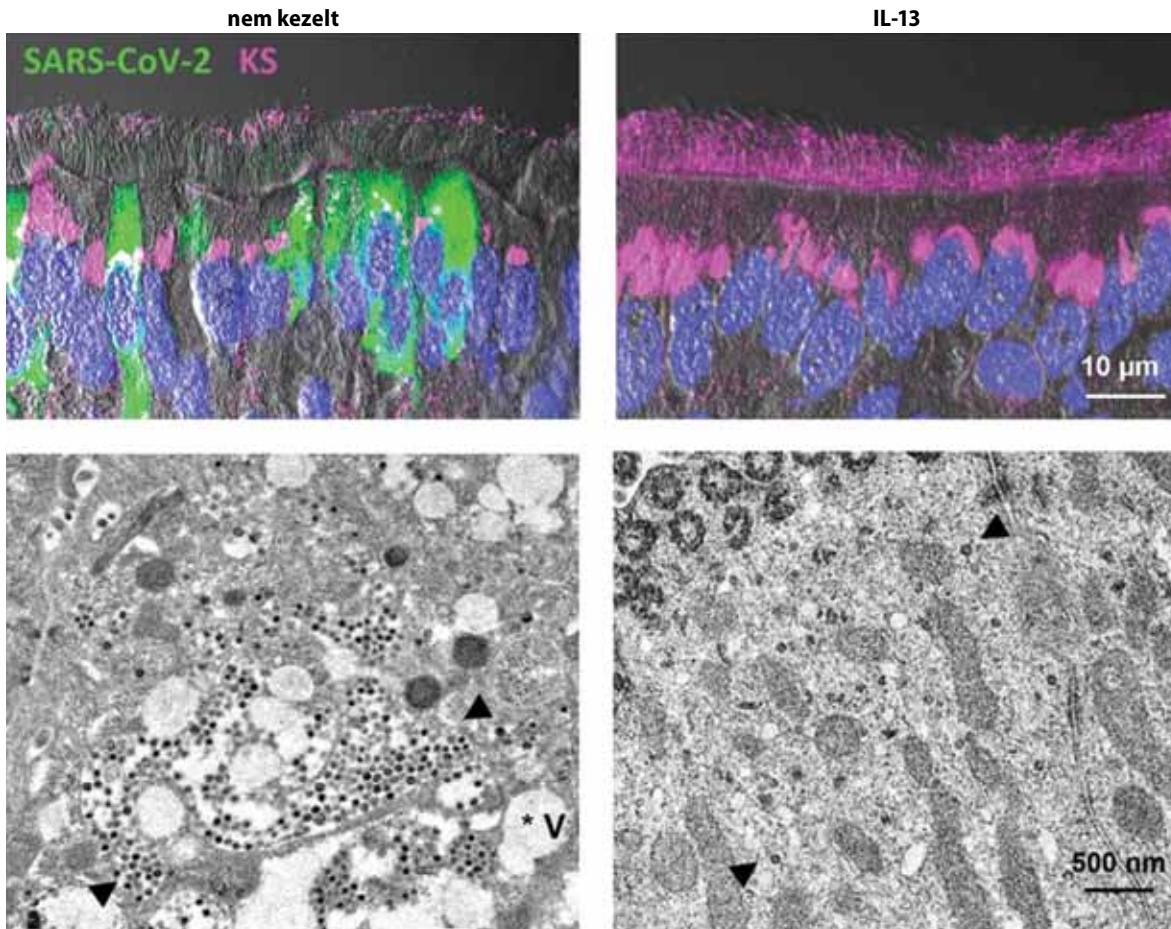
Kimutatták azt is, hogy az IL-13 csökkentette az ACE2 expressziót, az intracelluláris vírus-terhelést és sejtről sejtre történő vírusátvitelt, miközben növelte a ciliális keratán-szulfát bevonatot (4. ábra). Az IL-13 mérsékelte a SARS-CoV-2 által okozott intenzív vírus- és sejtleválást a nyálkahártyáról, ami befolyásolta a vírus bejutását, replikációját és terjedését.

Az IL-13 koronavírus-fertőzésre kifejtett hatásának vizsgálata előtt három nappal IL-13-mal előkezelték a sejtenyészeteket, és a kezelést végig fenntartották a fertőzési időszakban. A nem kezelt és az IL-13-mal kezelt sejtenyészeteket megfertőzték SARS-CoV-2 vírussal, majd négy napon keresztül figyelték a vírus

replikációját és a sejtek leválós programozott sejthalálát (anoikis).

A pásztázó elektronmikroszkópos vizsgálat kimutatta, hogy az IL-13 kezelés megakadályozza a hámkárosodást és a sejtek leválását a nem kezelt tenyészetekhez képest a fertőzés után 96 órán keresztül (5. A ábra). A fertőzés után 24, 48, 72 és 96 órával készített, haematoxilín-eozinnal megfestett szövettani metszetek egyértelmű különbséget mutattak a két csoport között, az IL-13-mal kezelt tenyészetekben kifejezett kehelysejt hiperplázia látszott (5 B. ábra).

A nem kezelt csoportban a hámsejtek károsodása idővel egyre nőtt, 48 óra elteltével a sejtek mérete és formája egyenetlenné vált, 96 óra elteltével pedig kifejezett sejtvésztes (látóterenként ~700 leváló sejt) volt megfigyelhető. Ezzel szemben az IL-13-mal kezelt csillószőrös hengerhámsejtek a vizsgálat egész ideje alatt



4. ábra: Az IL-13 hatása a vírusok sejtbe jutására és terjedésére. Felül: a nem kezelt és az IL-13-mal kezelt sejtenyészetek immunhisztokémiai összehasonlítása 72 órával a fertőzés után (SARS-CoV-2: zöld; keratin-szulfát [KS]: bíborvörös; sejtmagok: kék). Alul: A fertőzés után 24 órával készült transzmissziós elektronmikroszkópos képek a fertőzött csillószőrös hengerhámsejtek citoplazmájáról, melyek jól mutatják, hogy a virionok száma és az intracelluláris károsodás mértéke egyaránt csökkent az IL-13-mal kezelt sejtekben. (*V: vakuólum; ►: SARS-CoV-2 virionok)

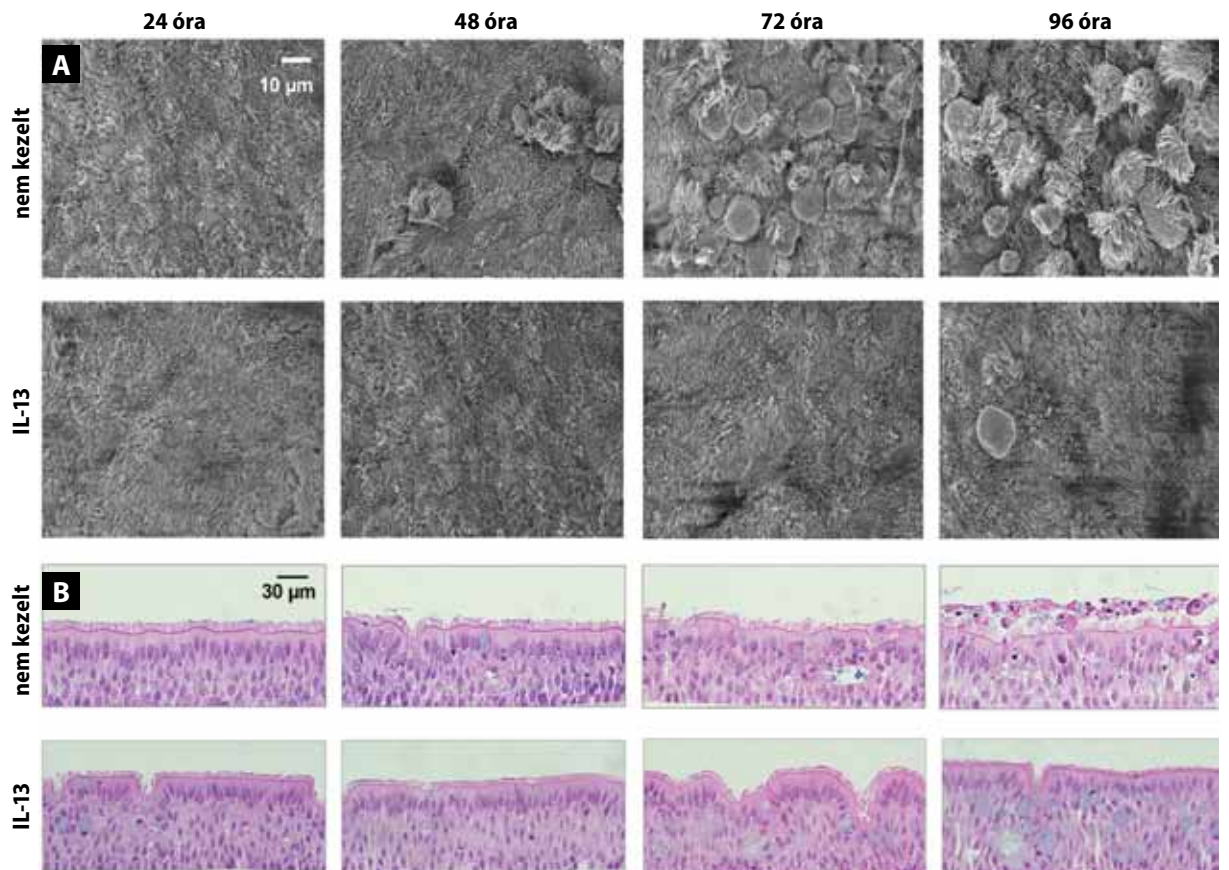
jól megtartották az alakjukat, és 96 óra elteltével a leváló sejtek száma kb. hatod akkora volt a kezelt csoportban, mint a nem kezeltéknél. Az IL-13 csoportban a jobb állapotú sejt kultúra korrelált a vírustiter jelentős csökkenésével (106 PFU/ml a nem kezeltéknél vs. 104 PFU/ml az IL-13-mal kezeltéknél).

Az IL-13 kezelés hatását a SARS-CoV-2 replikációjára hat donor sejtjein vizsgálták, és mindegyikükénél szignifikánsan csökkent a nukleokapszid mRNS mennyisége a nem kezelt sejtekhez képest. Érdekes módon az IL-13 minden egyes donor esetében más-más szintű védelmet biztosított, ami arra utal, hogy a beteg genetikai háttere és/vagy citokin profilja szerepet játszhat a koronavírus-betegség heterogenitásában.

A VÁLADÉKTERMELŐDÉS MEGVÁLTOZÁSA

A kutatók a korábbi epidemiológiai tanulmányokból tudták, hogy az allergiás asztmás betegek – akiről ismert, hogy náluk túltermelődik a MUC5AC fehérje – kevésbé érzékenyek a súlyos Covid-19-re. Azt is tudták, hogy az IL-13 citokin növeli a MUC5AC szekrécióját a tüdőben, amikor az asztmás betegek allergénnel találkoznak.

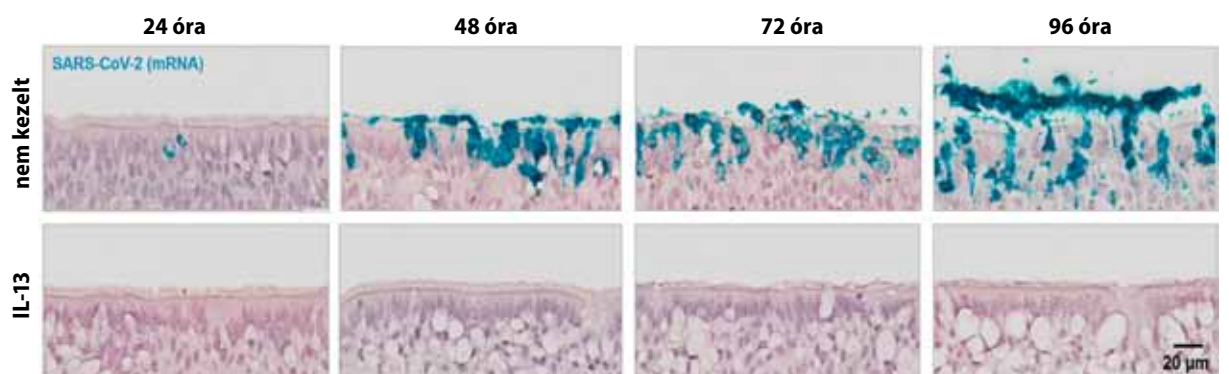
Úgy döntöttek, hogy utánozzák az asztmás légutakban zajló folyamatokat oly módon, hogy emberi légúti hámsejteket IL-13-mal kezelnek (6. ábra). Ezután megmérték a vírustiteret, a vírus-mRNS-t, a fertőzött sejtek kiürülésének sebességét és a fertőzött sejtek teljes számát. Mindegyik paraméter jelentősen csökkent. Azt találták, hogy ez még



5. ábra: Az IL-13-kezelés hatása a vírusreplikációra és a sejtek leválására. Három nappal a fertőzés előtt a humán légúti hámsjentyészeteket két csoportra osztották, a nem kezelt és az IL-13-mal kezelt csoportra (IL-13), amelyhez 1 ng/ml IL-13-at adtak. A 0. napon a sejteket SARS-CoV-2-vel fertőzték, majd 24, 48, 72 és 96 óra elteltével feldolgozták szövettani vizsgálat, vírustiter meghatározás és mRNS extrakció céljából. (A) A fertőzött légúti hámsjtek pásztázó elektronmikroszkópos képe a fertőzés után 24, 48, 72 és 96 óra elteltével a nem kezelt és az IL-13-mal kezelt csoportban. Vírusürítést, sejtduzzanatot és leválást figyeltek meg a fertőzés utáni 24 óra és 48 óra között a nem kezelt csoportban, míg az IL-13 csoportban 96 óráig csak kismértékű epiteliális károsodást észleltek. (B) A haematoxinil-eozinnal festett, fertőzött, kezeltlen és IL-13-mal kezelt hámsjtek jellemző szövettani képei 24, 48, 72 és 96 óra elteltével.

akkor is így történt, amikor a légúti váladékot eltávolították a tenyészetekből, ami arra utal, hogy más tényezők is szerepet játszottak az IL-13 SARS-CoV-2 elleni védőhatásában.

Ezek az eredmények összességében azt mutatják, hogy az IL-13 jelentősen befolyásolja a vírus sejtekbe jutását, a sejteken belüli replikációját és a terjedését, így korlátozza a vírus-



6. ábra: Az IL-13 kezelés hatása a fertőzésre és a légúti váladéktermelésre. A nem kezelt és az IL-13-mal kezelt fertőzött légúti hámsjentyészeteket jellegzetes RNS in situ hibridizációs képei a fertőzés után 24, 48, 72 és 96 órával, SARS-CoV-2 mRNS jelöléssel (ciánkék).

nak azt a képességét, hogy mélyebbre jusson a légutakban és súlyos betegséget váltson ki. Ez a kutatás is alátámasztja, mennyire fontos a koronavírus-fertőzés mielőbbi kezelése, és megmutatja, milyen fontosak az ACE2-vel és az IL-13-mal kapcsolatos specifikus mechanizmusok.

Bár az IL-13 és a hozzá hasonló citokinek terápiás ágensként nem használhatók, mert gyulladást váltanak ki, fontos megérteni azokat a természetes molekuláris útvonalakat, amelyeket a sejtek használnak, hogy megvédjék magukat a kórokozók inváziójával szemben, mivel ezek a vizsgálatok új terápiás célpontokat tárhatnak fel. ■

FORRÁSOK

1. Ehre C. SARS-CoV-2 infection of airway cells. *N Engl J Med* 2020; 383, 969. doi: 10.1056/NEJMicm2023328
2. Corcoran TE, Huber AS, Hill SL, et al. Mucociliary clearance differs in mild asthma by levels of type 2 inflammation. *Chest* 2021; 160: 1604-1613.
3. Press VG, Gershon AS, Sciruba FC, et al. Concerns about coronavirus disease-related collateral damage for patients with COPD. *Chest* 2020; 158: 866-868.
4. Zhu Z, Hasegawa K, Ma B, et al. Association of asthma and its genetic predisposition with the risk of severe COVID-19. *J Allergy Clin Immunol* 2020; 146: 327-329.
5. Chhiba KD, Patel GB, Vu THT, et al. Prevalence and characterization of asthma in hospitalized and nonhospitalized patients with COVID-19. *J Allergy Clin Immunol* 2020; 146: 307-314.
6. Jackson DJ, Busse WW, Bacharier LB, et al. Association of respiratory allergy, asthma, and expression of the SARS-CoV-2 receptor ACE2. *J Allergy Clin Immunol* 2020; 146: 203-206.
7. Green I, Merzon E, Vinker S, et al. COVID-19 susceptibility in bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2021; 9: 684-692.
8. Branco ACCC, Sato MN, Alberca RW. The possible dual role of the ACE2 receptor in asthma and coronavirus, (SARS-CoV2) infection. *Front Cell Infect Microbiol* 2020; 10: 550571.
9. Bonser LR, Eckalbar WL, Rodriguez L, et al. The type 2 asthma mediator IL-13 inhibits SARS-CoV-2 infection of bronchial epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2022; 66(4): 391-401.
10. Pezzulo AA, Tudas RA, Stewart CG, et al. HSP90 inhibitor geldanamycin reverts IL-13- and IL-17-induced airway goblet cell metaplasia. *J Clin Invest* 2019; 129: 744-758.
11. Cevik M, Tate M, Lloyd O, et al. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV viral load dynamics, duration of viral shedding, and infectiousness: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Microbe* 2021; 2(1): e13-e22.
12. Santiana M, Ghosh S, Ho BA, et al. Vesicle-cloaked virus clusters are optimal units for inter-organismal viral transmission. *Cell Host Microbe* 2018; 24(2): 208-220.
13. Ramakrishnan RK, Heialy SA, Hamid Q, Implications of pre-existing asthma on COVID-19 pathogenesis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2021; 320(5): L880-L891.
14. Hou YJ, Okuda K, Edwards CE, et al. SARS-CoV-2 reverse genetics reveals a variable infection gradient in the respiratory tract. *Cell* 2020; 182(2): 429-446.

A referátum az alábbi közlemény – Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) alapján készült – rövidített és átdolgozott változata:

Morrison CB, et al. SARS-CoV-2 infection of airway cells causes intense viral and cell shedding, two spreading mechanisms affected by IL-13.

Proceedings of the National Academy of Sciences 2022; 119 (16). <https://doi.org/10.1073/pnas.2119680119>