

## Streszczenie

Pandemia COVID-19, wywołana przez wirusa SARS-CoV-2, stanowiła w latach 2020–2023 największe globalne wyzwanie zdrowotne, społeczne, a także gospodarcze, wpływając na codzienne życie miliardów ludzi na całym świecie. Pomimo ogłoszenia przez WHO w maju 2023 roku zakończenia stanu zagrożenia zdrowia publicznego o zasięgu międzynarodowym spowodowanym przez COVID-19, choroba ta została uznana za chorobę endemiczną, występującą sezonowo.

COVID-19 jest wywoływany przez wirusa SARS-CoV-2, który stał się przedmiotem badań grup naukowych na całym świecie, stanowiąc główny temat badawczy w ponad 250 tysiącach pozycji literaturowych. Praca wielu interdyscyplinarnych zespołów uwydatniła znaczenie mechanizmów molekularnych leżących u podstaw zakażenia wirusowego, a także związanym z nimi tropizmem komórkowym oraz tkankowym. W miarę rozwoju wiedzy rosła także rola śródbłonka naczyniowego w patogenezie oraz propagacji tej choroby, a także występowaniu zaburzeń w obrębie całego organizmu w ramach zespołów long COVID oraz post-COVID.

Niniejsza praca skupia się wokół tematyki zakażenia komórek śródbłonka tętnicy płucnej przez wirus SARS-CoV-2 [1, 2]. W zależności od etapu infekcji oraz zachodzących w jej trakcie procesów, przedstawione badania koncentrowały się na fazy wczesnej, w trakcie której zachodzi przyłączenie i internalizacja wirusa (efekt receptorowy) oraz fazy późnej, podczas której obserwowany jest silny efekt komórkowy, związany z zachodzeniem procesów m.in. replikacji wirusa, a także jego składania i uwalniania potomnych wirionów.

W pierwszej części prezentowanych wyników głównym tematem jest interakcja wirusowego białka *spike* (białka S) z ACE2, stanowiącym główny receptor wirusowy dla SARS-CoV-2, a także regulacyjnej roli glikokaliksu (głównie siarczanu heparanu) w procesie wiązania wirusa z komórkami śródbłonka. W tym celu zastosowano podejście interdyscyplinarne, wiążące techniki genetyki molekularnej (transfekcja siRNA oraz RT-qPCR) z metodami fluorescencyjnymi i mikroskopią sił atomowych (AFM). Najważniejszą metodą była spektroskopia sił pojedynczej molekuly (SMFS), która umożliwiła zbadanie interakcji białka *spike* z ludzkimi komórkami śródbłonka tętnicy płucnej (HPAEC) oraz nabłonka oskrzeli (HBEC) dróg oddechowych. Opierała się ona na wykorzystaniu próbnika AFM pokrytego białkiem *spike* wirusa SARS-CoV-2 jako sondy obrazującej oddziaływanie białka z komórkami, głównie występującymi na jej powierzchni ACE2 oraz siarczanem heparanu. Przeprowadzone badania wykazały, że śródbłonkowy glikokaliks pełni podwójną rolę w trakcie zakażenia SARS-CoV-2. Pomimo sprzyjania ogólnej adhezji białka *spike*, siarczan heparanu przede wszystkim pełni rolę ochronną, osłaniając receptory ACE2 i blokując w ten sposób przyłączenie wirusa i jego wnikanie do wnętrza komórek. Tak więc zmiany w integralności glikokaliksu, mające miejsce m.in. w chorobach układu sercowo-naczyniowego oraz cukrzycy, mogą wpływać na podatność komórek śródbłonka na infekcję oraz sprzyjać rozwojowi powikłań naczyniowych u tych pacjentów w związku z COVID-19.

Druga część badań skupiała się głównie wokół zmian w nanomechanice komórek śródbłónka tętnicy płucnej, występujących na skutek zakażenia wirusem SARS-CoV-2. Zastosowane metody biologii molekularnej pozwoliły wykazać zachodzenie nieefektywnej infekcji (ang. *abortive infection*, infekcji poronnej) SARS-CoV-2 w badanych komórkach HPAEC, charakteryzującej się nieefektywną replikacją wirusa. Jednakże, pomimo braku skutecznego namnażania się patogenu, przeprowadzone badania z wykorzystaniem metod fluorescencyjnych oraz AFM wykazały, że wirus wnika do wnętrza komórek śródbłónka co skutkuje znacznymi zmianami w ich strukturze i fizjologii. Efekt bezpośredniego wpływu wirusa na komórki HPAEC obserwowany był przede wszystkim we właściwościach nanomechanicznych (elastyczności) komórek, które wraz ze wzrostem czasu post-infekcyjnego ulegały znacznemu usztywnieniu. Występujące w architekturze komórkowej zmiany zostały skorelowane z przekształceniami zachodzącymi w obrębie cytoszkieletu komórkowego, szczególnie włókien aktynowych, ale także filamentów pośrednich (wimentyny) oraz aktywnością białek regulujących (RhoA). Co więcej, reorganizacja zachodziła równocześnie z komórkowymi procesami adaptacyjnymi w zakresie mechanizmów związanych z homeostazą mitochondrialną, uszkodzeniem DNA oraz ogólną dysfunkcją śródbłónka. Dysfunkcja śródbłónka, związana z nadmiernym usztywnieniem komórek i skorelowaną z tym efektem zmniejszoną produkcją tlenu azotu, może prowadzić do powikłań naczyniowych, takich jak nadciśnienie, zakrzepica i nasilenie stanu zapalnego. Efekty te mogą zatem także leżeć u podstaw zaburzeń występujących u pacjentów ze stwierdzonym long COVID oraz post-COVID, a także wyjaśniać obserwowany efekt cięższego przebiegu COVID-19 u pacjentów z zaburzeniami sercowo-naczyniowymi oraz cukrzycą.

Innowacyjne podejście do tematu, objawiające się zarówno w interdyscyplinarności zastosowanych metod jak i zakresu badań, pozwoliło na lepsze poznanie procesów leżących u podstaw zakażenia SARS-CoV-2 w komórkach śródbłónka płucnego. Ponadto, otrzymane wyniki wykazały potencjał, jaki kryje się w wykorzystaniu technik mikroskopii sił atomowych w badaniach biofizycznych układów biologicznych w ujęciu wirusologicznym.