

keré se vážou na ribozomy. Ty jsou zřejmě parazity bakterií nebo prvoků. Není známo, že by cirkoviry a gyroviry nalézané ve stolicích a na kůži zdravých lidí způsobovaly nějaké onemocnění. Avšak prasečí cirkovirus neškodný pro člověka vyvolává devastující onemocnění selat. V počátcích výroby kontaminoval rotavirovou vakcínu Rotarix, do níž se dostal s prasečím trypsinem. Rotaviry jsou přitom původci vážného průjmového onemocnění dětí, které způsobuje ztráty na životech zejména v rozvojových zemích, a vakcína představuje jedinou preventivní ochranu. Nehoda potvrdila nutnost molekulárně genetické kontroly výroby očkovacích látek. Komenzální je snad i flavivirus GBV-C, jehož náhodný nálezn pochází od pacienta G. Barkera, který se léčil na hepatitidu.

Viroem zdravého člověka obsahuje často kromě fágů a výše uvedených snad komenzálních virů také patogenní viry. Většinou jsou kontrolovány naším imunitním systémem. Polyomaviry JC a BK začínají být patogenní po imunosupresi – po transplantaci ledvin nebo biologické léčbě některými protilátkami způsobují těžká onemocnění či odhojení transplantátu.

Chronické celoživotní a většinou bezpříznakové infekce způsobují herpetické viry, které postihují celé lidstvo. Počet nálezů se odhaduje na 10 miliard (jeden člověk může být nosičem několika různých herpesvirů). Jde o virus herpes simplex, virus Epstein-Barrův nebo cytomegalovirus, jejichž rané bezpříznakové fáze jsou naopak faktorem posilujícím vývoj a zráním našeho imunitního systému. Naproti tomu chronické infekce viry hepatitidy B a C, postihující stamiliony lidí, nebo HIV, který nakazil desítky milionů lidí, své hostitele mrzačí až zabíjejí.

Planetární aktivita virosféry

Viry hrají velkou roli v planetárních geochemických cyklech uhlíku. To má význam pro současné diskuze o uhlíkové stopě a vlivu na globální klima. Bohatě organické sedimenty jsou místem větší mikrobiální aktivity i produkce virů. Viro-sféra ovlivňuje geochemické cykly uhlíku, dusíku, síry, kyslíku, uvolňuje ze svých bakteriálních hostitelů aminokyseliny a nukleotidy a činí je dostupné dalším organismům.

Kromě toho se viry uplatňují v evoluci buněčných organismů díky horizontálnímu přenosu genů. Ten umožňuje tok genů mezi fylogeneticky vzdálenými organismy, jako jsou prokaryota a eukaryota, nebo viry a buněčné organismy, a evoluci příjemců genů tím, že je vybaví novými funkcemi. Od prvního nálezů horizontálního přenosu z fágu na bakterii *Corynebacterium diphtheriae* v r. 1951 byla zaznamenána řada případů přenosu genů viry. Mnoho dávných virových infekcí zanechalo také stopy v lidském genomu – záznam endogenních retrovirů tvoří celou jeho desetinu.

Četné geny virového původu přítomné v lidském genomu jsou velmi užitečné – např. gen pro syncytin, nezbytný pro vytváření placenty nebo retrovirový gen *ARC* pro protein, který je přenášen jako nosič RNA mezi neurony a slouží k uchování paměti a účastní se možná i vzniku našeho vědomí. Další gen endogenního retroviru zamezuje imunitní reakci matky proti imunologicky cizorodému plodu. Jiná domestikace dávného retroviru zanechala benefit v podobě zesilovače interferonové, tedy buněčné protivirové imunitní odpovědi. Retroviry jsou významnými dělníky evoluce.

Původ virů

Pátrání po původu virů, otázky, zda jsou živé organismy, nebo vlastně ne, jsou otázkami filozofickými a nepřinášejí vědecké odpovědi. A to i přesto, že se viry chovají jako živé, podléhají evoluci, a jsou dokonce jejími spoluvůdci. Výzkum virů přinese ještě mnoho překvapení, jak o tom svědčí chemická syntéza polioviru na počátku století (Wimmer a kol. 2002).

Mnohé však napovídá objev obřích DNA virů, obsahujících některé geny metabolismu, zpracování DNA či histonů. Tyto zvláštní viry, větší než mnohé bakterie, vypadají jako relikty z období počátku života. Mají dokonce vlastní parazity – viry virů zvané virofágy, proti nimž se brání mechanismem podobným bakteriálnímu CRISPR-Cas, což je prokaryotický imunitní systém, zajišťující rezistenci vůči cizím genetickým elementům.

Viry virů připomínají vtipnou Swiftovu báseň v záhlaví článku a kruhem tak uzavírají fascinující vlnu do světa virů, který se nám začal otevírat v posledních letech.

Post scriptum

Článek byl napsán jen několik týdnů před tím, než se vynořila nová mutace netopýřího SARS viru – SARS-CoV-2, schopná vyvolat pandemii. Potvrdila se tak znovu nenahraditelná preventivní účinnost vakcín v boji proti virovým chorobám (bližší také v článku Lži a mýty proti očkování v Živě 2016, 3: LIII–LV).

Použitá literatura uvedena na webu Živy. Tématu je také věnován článek v Živě 2019, 5: 212–215; více i Živa 2015, 3: 106–107; 2017, 3: 118–120 nebo 2018, 2: 58–62.

Daniel Sojka, Jan Dvořák

Současné vyhlídky na efektivní terapii COVID-19

Ve snaze co nejrychleji získat vakcínu nebo lék proti COVID-19 nalézají uplatnění především znalosti získané z předchozích koronavirových epidemií SARS a MERS. Z předkládaného výběru slibných preparátů je patrné, že existuje hned několik možností účinné terapie COVID-19. I když zatím nelze spolehlivě označit ten, který pomůže zastavit probíhající pandemii v co nejkratší době, jisté je, že minulé stejně jako současná epidemie nás vyzbrojují znalostmi pro opravdu rychlý a efektivní boj s nevyzpytatelnými koronaviry.

Koronaviry jsou jednovláknové RNA viry, které získaly název podle typického vzhledu koruny pod elektronovým mikroskopem – z kulovitého lipidového obalu vyčnívají paličkovité výběžky, které mají lytickou, hemaglutinační a adsorpční aktivitu. Ačkoli hned několik koronavirů způ-

sobuje běžné záněty horních cest dýchacích, v posledních dvou dekáдах se tyto viry staly původci dvou závažných epidemií: SARS (Severe Acute Respiratory Syndrome), způsobený koronavirem SARS-CoV, a MERS (Middle East Respiratory Syndrome), vyvolaný koronavirem MERS-CoV.

Tyto zoonózy (nemoci přenosné na člověka ze zvířat) mají přirozený rezervoár výskytu v populacích netopýřů. U první SARS-CoV jsou to netopýři rodu vrápenec (*Rhinolophus*). Na člověka se epidemie SARS přenesla přes cibetkovitou šelmu oviječe maskovaného (*Paguma larvata*) zřejmě v souvislosti s čínskými „mokrymi trhy“, kde se prodávají a pro zákazníky usmrcují i divoká zvířata. U MERS-CoV je hlavním rezervoárem viru egyptský netopýř slujový (*Taphozous perforatus*) a na člověka se nejspíše přenáší z velbloudů. Takové „přeskoky“ zoonotických koronavirů mohou být běžné s tím, že se v lidské populaci až na výjimky neuchytí, a teprve moderní diagnostické postupy jsou schopné tyto výjimečné infekce detekovat. Recentní epidemie koronavirů mohou souviset i se stále větším civilizačním tlakem na ekosystémy a intenzivním opakovaným kontaktem se zvířecími hostiteli. Ochota virové RNA k mutacím v kombinaci se zvýšenou hustotou mobilního obyvatelstva pak dále podporují pandemické rozšíření. Netopýři zřejmě představují typického rezervoárového hostitele díky své specifické imunitě vytvářející ideální podmínky pro vznik mutovaných virů s potenciálem vitální adaptace na jiné živočichy.

V prosinci 2019 způsobil nový koronavirus vypuknutí respiračních infekcí v čínském Wu-chanu a jeho pandemii

v současnosti decimuje celý svět. Virus byl pojmenován SARS-CoV-2, protože shoda jeho RNA genetické informace se SARS-CoV je přibližně 82 %. Nemoc způsobená SARS-CoV-2 se nazývá COVID-19. Také vznik SARS-CoV-2 je nejspíše evolučně spjatý s netopýry a k jeho další adaptaci pravděpodobně došlo opakovanou cirkulací mezi člověkem a zvířecími hostiteli.

● **Vakcíny:** Přestože by bylo historickým úspěchem najít v rámci několika měsíců bezpečnou, účinnou a hlavně globálně dostupnou vakcínu proti COVID-19, mnoho týmů se o ni aktivně pokouší. Ze čtyř kandidátů pro klinické studie je nejdále vývoj vakcíny mRNA-1273 americké společnosti Moderna Therapeutics. Ta je založena na aplikaci lipidických nanočástic (LNP) naplněných molekulami RNA kódujícími virové proteiny. Imunitní buňky v lymfatických uzlinách vakcinovaného jedince tuto RNA zpracovávají jako vlastní messenger (m)RNA a produkují virální proteiny. Ty posléze vyvolávají imunitní odpověď a tvorbu COVID-19 protektivních protilátek. Ačkoli je vakcína již zkušebně aplikována lidem v americkém Seattlu, dostupnost pro běžné použití se odhaduje nejdříve v r. 2021. Urychlujícím krokem v testování mRNA-1273 bylo kritizované přeskočení fáze testování na pokusných zvířatech, k němu se přikročilo jak z důvodu pandemie, tak i díky slibným předchozím výsledkům s více než tisícovkou mRNA vakcín v klinických studiích včetně experimentální vakcíny proti MERS-CoV.

● **Terapeutika:** Léčiva schopná snížit nebo eliminovat důsledky COVID-19 zejména u pacientů v kritickém stavu jsou z časového hlediska nadějnější než vakcíny, především pak experimentální léčiva vyvíjená proti jiným RNA virovým onemocněním včetně zmíněných SARS a MERS. Favoritem je remdesivir, což je terapie na bázi nukleotidových analogů vyvinutá společností Gilead Sciences, efektivní proti viru Ebola a řadě dalších jednořetězcových RNA virů. Remdesivir je v těle zpracováván na funkční metabolit GS-441524, který interferuje s aktivitou virové RNA-dependentní RNA polymerázy a kontrolní (proof-reading) aktivitou viro-

vé exoribonukleázy (ExoN). To způsobuje snížení produkce virové RNA a důsledkem je zastavení množení viru v těle. Remdesivir, účinný i proti SARS a MERS u experimentálně infikovaných zvířat, vykázal jak antivirovou aktivitu, tak silnou genetickou bariéru vůči rezistenci v experimentech se SARS-CoV-2. Aktuálně probíhá celkem 6 klinických studií (viz www.gilead.com), jejichž výsledky by měly být dostupné od dubna 2020. Podobně působí i favipiravir – inhibitor RNA-dependentní RNA polymerázy, vyvíjený japonskou společností Toyama Chemical, s aktivitou proti mnoha RNA virům. Pilotní aplikace COVID-19 pozitivním pacientům v čínskému Šen-čenu zveřejněná v únoru 2020 potvrdila, že favipiravir významně zkrátil dobu pro odstranění viru z těla na 4 dny ve srovnání s 11 dny v kontrolní skupině a že přes 90 % pacientů v experimentální skupině mělo zlepšené CT vyšetření s pouze mírnými vedlejšími účinky.

Do popředí zájmu se dostalo i antimalarikum chlorochin a jeho derivát hydroxychlorochin, a to po slibných výsledcích kontroverzní francouzské studie provedené na 40 pacientech pozitivních SARS-CoV-2, kterým byl podán lék v kombinaci s antibiotikem azitromycinem. V paralelně probíhající čínské studii s více než stovkou infikovaných pacientů snížil chlorochin příznaky a celkovou dobu infekce. V současnosti je hydroxychlorochin podáván mnoha hospitalizovaným pacientům v New Yorku a také začínají rozsáhlé studie, které reálně zhodnotí efekt tohoto antimalarika na stovkách testovaných jedinců. V Číně se zkouší několik dalších známých antivirových léků – např. inhibitory neuraminidázy, jako je oseltamivir (Tamiflu), ale v jejich případech z principiálních důvodů chybí větší naděje na úspěch.

● **Proteázové inhibitory:** Značný potenciál pro specifickou chemoterapii COVID-19 představuje inhibice proteolytických enzymů (proteáz, peptidáz), jejichž aktivita je nutná pro invazi a množení SARS-CoV-2 v hostitelských buňkách. Lopinavir, inhibitor proteázy viru HIV, vykazoval podle studie publikované v r. 2004 účinek proti infekci SARS-CoV (studie ovšem měla

značné rezervy v experimentálním designu). Lopinavir je podáván jako retrovirální terapie v kombinaci se stabilizační látkou ritonavir (inhibitor cytochromu P450) pod názvem Kaletra. Začátkem února 2020 se v Thajsku kombinací Kaletry a protichřipkového přípravku oseltamivir podařilo vyléčit pacientku s COVID-19. V březnu 2020 však byla v prestižním časopise New England Journal of Medicine publikována studie LOTUS China (Lopinavir Trial for Suppression of SARS-CoV-2 in China), která při léčbě dospělých pacientů se závažným průběhem COVID-19 lopinavirem-ritonavirem nepozorovala žádný přínos nad rámec standardní péče. Ačkoli slibné výsledky s lopinavirem vykazovaly i předchozí studie s MERS, stále chybí „proof of concept“ – cílová proteáza, která by byla důležitá pro invazi nebo množení koronavirů. Rozsáhlejší studie však mohou ještě účinek lopinaviru na COVID-19 potvrdit.

Analogie se SARS-CoV pomohla také rychle pochopit molekulární mechanismus invaze SARS-CoV-2 do hostitelských buněk. Virus využívá angiotenzin-konvertující enzym 2 (ACE2) hostitelských buněk jako vstupní receptor (obr. 1). Spike (S) protein koronaviru vazbou na ACE2 umožňuje vstup viru do napadených buněk, avšak tato vazba vyžaduje předchozí proteolytické štěpení virového S proteinu proteázou TMPRSS2 z povrchu hostitelské buňky. Aplikace camostat mesylátu, inhibitoru TMPRSS2, zabraňuje SARS-CoV-2 infekci plicních buněk. Nové specifické inhibitory a neutralizační protilátky TMPRSS2 proto mají značný potenciál pro potlačení koronavirové infekce.

Hlavní proteáza (M^{pro}, také 3CL^{pro}) představuje asi nejlépe charakterizovaný terapeutický cíl koronavirů. M^{pro} je nezbytná pro zpracování polyproteinů translatovaných z virové RNA při replikaci viru v infikovaných buňkách a inhibice její aktivity vede k zastavení tohoto množení. Protože nejsou známy lidské proteázy s M^{pro} substrátovou specifitou (aminokyselinovým složením cílového místa ve štěpeném proteinu), předpokládá se, že terapeutika založená na inhibici M^{pro} proteázy budou mít minimum vedlejších účinků. K takovým patří i recentně publikovaný peptidomimetický α -ketoamid (derivát biologicky aktivního peptidu) odvozený od širokospektrálního inhibitoru hlavních proteáz MERS-CoV a SARS-CoV. Jeho farmakokinetické vlastnosti včetně experimentálně ověřené možnosti aplikace inhalací přinášejí u těchto inhibitorů velkou naději pro současný i budoucí boj s koronaviry.

Podpořeno projektem Grantové agentury ČR (reg. č. 20-05736) a Centrem pro výzkum patogenity a virulence parazitů (č. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000759) financovaným Evropským fondem pro regionální rozvoj (ERDF) a Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.

1 Modelové schéma invaze koronavirů SARS-CoV/SARS-CoV-2 a vyznačené možné terapeutické strategie. Blíže v textu. Upraveno podle: M. Hoffmann (www.eurekalert.org/multimedia/pub/226254.php?from=457812). Orig. D. Sojka

