

# Seosed interferoonide ja COVID-19 vahel: mõju haiguspildile ning rakendused ravis

Martti Vanker<sup>1</sup>

Juhendaja: Kai Kisand<sup>2</sup>

I ja III tüüpi interferoonid (IFNid) on rakkudest sekreteeritavad valgud, mis osalevad keha viirusvastases kaitses. SARS-CoV-2 kodeeritud valgud pärsvad IFNide süsteemi, et viirus saaks takistamatult paljuneda. I ja III tüüpi IFNide tase sõltub muu hulgas peremeesorganismi-poolsetest teguritest. Kui infektsiooni algusfaasis on I ja III tüüpi IFNide tase ebapiisav, kulgeb COVID-19 raskelt. Inhaleeritavad I ja III tüüpi IFNid on COVID-19 varajases faasis manustatuna potentsiaalsed COVID-19 ravimikandidaadid.

## INTERFEROONIDE KLASSEFIKATSIOON JA INTERFEROONIRETSEPTORID

Interferoonid (IFN) on auto- ja parakriinselt toimivad tsütokiinid, mille nimi viitab nende tsütokiinide võimele sekkuda (ingl *interfere*) viirusinfektsiooni kulgu. Need tsütokiinid moodustavad ühe esimestest immuunsüsteemi viirusvastastest kaitseliinidest. Lisaks kaasasündinud immuunsuse viirusvastase toime vahendamisele pärsvad IFNid rakkude jagunemist ning stimuleerivad omandatud immuunsust.

IFNid jagatakse kolme perekonda – neist I ja III tüüpi osalevad muu hulgas kaasasündinud immuunsuse toimimises. II tüüpi IFN ehk IFN- $\gamma$  on seevastu oluline omandatud immuunsuse osa. Käesolevas ülevaates on käsitletud I ja III tüüpi IFNe, kuna viimased on kaasasündinud viirusvastases immuunsuses kesksel kohal kui IFN- $\gamma$ . I tüüpi IFNid on suur perekond struktuurilt sarnaseid tsütokiine – kõige enam uuritud I tüüpi IFN on IFN- $\alpha$ , mille eristatakse 13 alatüüpi. I tüüpi IFNide hulka kuuluvad ka ilma alatüüpidega IFN- $\beta$ , IFN- $\epsilon$ , IFN- $\kappa$  ja IFN- $\omega$ . III tüüpi IFNide perekonnas on IFN- $\lambda$  neli subtüüpi (IFN- $\lambda$ 1–4) (vt tabel 1). Praeguseks on I tüüpi IFNe rohkem uuritud kui III tüüpi, kuna I tüüpi IFNe kirjeldati esimest korda rohkem kui 60 aastat tagasi, aga III tüüpi IFNid avastati alles käesoleva sajandi alguses (1–3).

## INTERFEROONIDE SÜSTEEMI TOIMIMINE

### Interferoonide sekretsiooni käivitumine

Nii I kui III tüüpi IFNide sekretsiooni eelduseks on patogeeni äratundmine ohureseptorite (ingl *pattern recognition receptors*) abil (vt joonis 1). Kirjeldatud on palju erinevaid ohureseptoreid, mis eristuvad üksteisest näiteks selle poolest, milliseid molekule nad on võimelised ära tundma ning millises rakuosas nad paiknevad.

Viirusinfektsiooni puhul on kõige olulisemad viiruste nukleiinhapete suhtes

**Tabel 1.** Esimest ja kolmandat tüüpi interferoonide omaduste võrdlus

I tüüpi IFN		III tüüpi IFN
IFN- $\alpha$ (13 subtüüpi), IFN- $\beta$ , IFN- $\epsilon$ , IFN- $\kappa$ , IFN- $\omega$	Esindajad inimesel	IFN- $\lambda$ 1 (IL-29), IFN- $\lambda$ 2 (IL-28A), IFN- $\lambda$ 3 (IL-28B), IFN- $\lambda$ 4
Tugevam, kiirem, süsteemne, põletikku tekitav	Toime iseloom	Nõrgem, aeglasem, barjääridele suunatud, vähem põletikku tekitav
1957. aastal (Isaacs, Lindenmann jt)	Esmakordne kirjeldamine	2003. aastal (Kotenko, Sheppard jt)
Alamühikud IFNAR1 ja IFNAR2	Retseptori ehitus	Alamühikud IFNLR1 ja IL-10R $\beta$
Kõik tuumaga rakud	Retseptori ekspressioon	Epiteelkude ja leukotsüütidest peamiselt neutrofiidid

IFN – interferoon; IL – interleukiin; IFNAR – alfainterferooni retseptor; IFNLR – lambdainterferooni retseptor

Eesti Arst 2022; 101(6–7):365–373

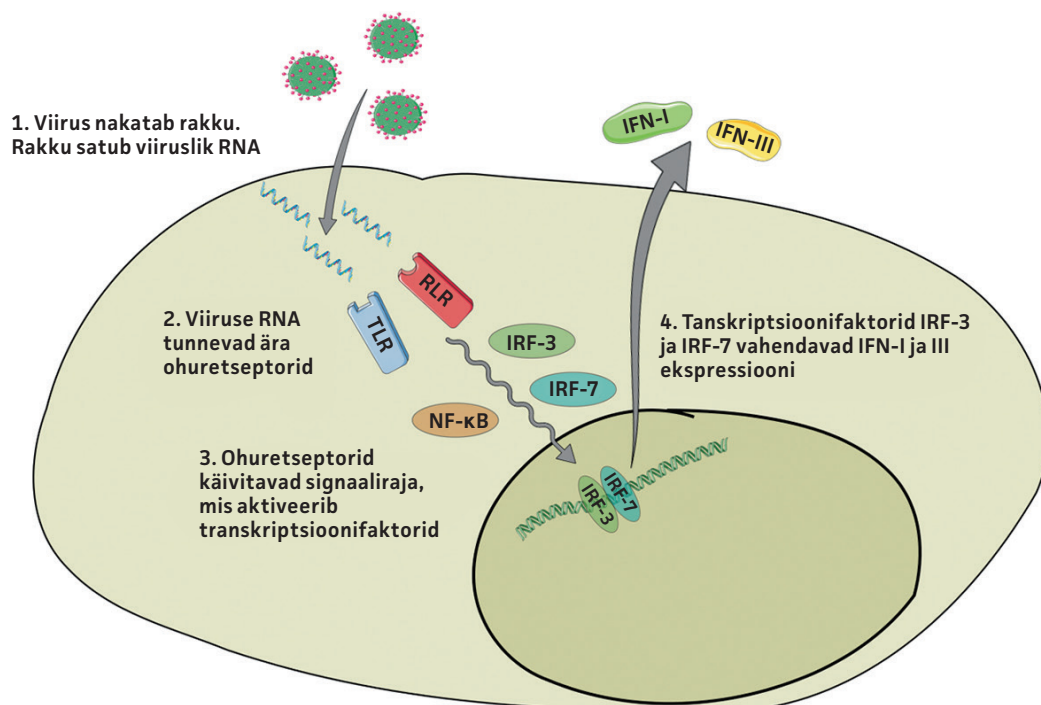
Saabunud toimetusse: 05.04.2021  
Avaldamiseks vastu võetud: 27.09.2021  
Avaldatud internetis: 28.06.2022

<sup>1</sup>TÜ meditsiiniteaduste valdkonna arstiteaduse eriala 5. kursuse üliõpilane, <sup>2</sup>TÜ bio- ja siirdemeditsiini instituut

Kirjavahetajaautor: Martti Vanker  
martti.vanker@ut.ee

Võtmesõnad: COVID-19, SARS-CoV-2, interferoonid, tsütokiinid, kaasasündinud immuunsus

Eesti Arstiteadusüliõpilaste Seltsi ja ajakirja Eesti Arst artiklikonkursile „Minu esimene publikatsioon“ esitatud töö.



RLR – RIG-I laadne retseptor; TLR – Tolli-laadne retseptor; IRF – interferooni regulaatorne faktor; NF-κB – ingl *nuclear factor kappa B*; IFN-I – I tüüpi interferoon; IFN-III – III tüüpi interferoon

**Joonis 1.** Esimest ja kolmandat tüüpi interferoonide sekretsiooni käivitumine. Autori koostatud joonis. Käesolevas ning järgnevates joonistes on kasutatud ettevõtte Les Laboratoires Servier (<https://smart.servier.com/>) graafilisi elemente, CC BY 3.0.

spetsiifilised ohuretseptorid. SARS-CoV-2 on RNA-genoomiga ning seetõttu on selle viiruse äratundmisel olulised ohuretseptorid, mis talitlevad RNA-sensoritena. Nn RNA-sensorite näideteks on RIG-I (retinoehappe indutseeritav geen I) ning TLR7 (Tolli-laadne retseptor 7). RIG-I ning TLR7 erinevad üksteisest rakuosa poolest, kus nad paiknevad: RIG-I on tsütosoolis, aga TLR7 endosoomide membraanides (4).

Kui ohuretseptor seondub patogeeni omase molekuliga, käivitub signaalirada, mis põhjustab põletikutsütokiinide (nt IL-1, IL-6 ja TNF) ning I ja III tüüpi IFNide ekspressiooni. Kui põletikutsütokiinide sünteesi eelduseks on transkriptsioonifaktori NF-κB (ingl *nuclear factor kappa B*) aktiveerumine, siis I ja III tüüpi IFNide ekspressioon toimub transkriptsioonifaktorite IRF-3 ja/või IRF-7 (interferooni regulaatorne faktor 3 ja 7) vahendusel (4).

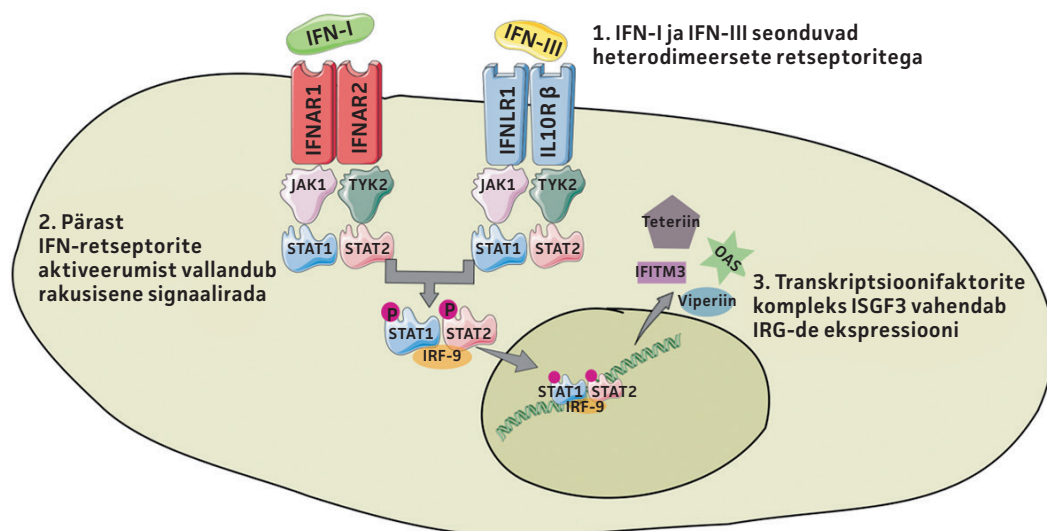
Väga paljud rakutüübid on võimelised tootma I tüüpi IFNe, aga kõige võimsamalt teevad seda plasmatsütoidsed dendriitrakud, mis moodustavad perifeerse vere mononukleaarsetest rakkudest vähem kui 0,5%. Plasmatsütoidsetel dendriitrakkudel

on tugev eeldus IFNide tootmiseks, kuna nad ekspresseerivad kõrgel tasemel RNA-sensorina toimivat TLR7-t ning IFNide ekspressiooniks vajalikku IRF-7-t. III tüüpi IFNide produktsiooni juures on plasmatsütoidsete dendriitrakkude kõrval olulised ka epiteelirakud, keratinotsüüdid ja fibroblastid (5, 6).

### Interferoonide käivitatud signaalirajad

IFNide afiinsus oma retseptori suhtes on väga varieeruv: I tüüpi IFNide seast on kõige afiinsem IFN-β, millele järgnevad IFN-α alatüübid. Võrreldes kõige suurema ja kõige väiksema afiinsusega IFNe, võib seondumistugevuse vahe olla tuhandekordne (7). Väiksema afiinsusega IFNidel on rakukultuuris SARS-CoV-2 suhtes nõrgem viirusvastane toime kui beetainterferoonil, kuid see vahe on oluliselt väiksem kui afiinsuse järgi oletada võiks (8).

Pärast seda kui on moodustunud kompleksid IFNide ja nende retseptorite vahel, aktiveerub JAK-STAT signaalirada (vt joonis 2). Üks olulisemaid transkriptsioonifaktoreid, mille moodustumist JAK-STAT signaalirada stimuleerib ning seeläbi IFNide



JAK – Januse kinaas; TYK – türosiini kinaas; STAT – ingl *signal transducer and activator of transcription*; IRG – interferoonide reguleeritud geen; ISGF – interferoonide stimuleeritud geenifaktor; OAS – oligoadenülaadi süntetaas; IFITM – interferoonide indutseeritud transmembraanne valk

**Joonis 2.** I ja III tüüpi interferooni käivitatud signaalirada. Autori koostatud joonis.

toimet vahendab, on ISGF3 (interferoonide stimuleeritud geenifaktor 3). Geene, mille ekspressioon on IFNidest sõltuv, nimetatakse interferoonide reguleeritud geenideks (IRG).

### Interferoonide viirusvastane toime

Vaatamata sellele, et I ja III tüüpi IFNid kasutavad erinevaid retseptoreid, kutsuvad need kaks tsütokiini esile kattuva IRGde ekspressioonimustri. Siiski on I ja III tüüpi IFNide toimeulatus ning -iseloome mõneti erinevad – I tüüpi IFNide toime on süsteemne, tugev ning lühiajaline; III tüüpi IFNide toime on lokaalne (limaskestad), nõrgem ning pikaajaline (vt tabel 1). Nende kahe lähedalt seotud tsütokiini erinev toimeulatus on otseselt seotud sellega, et I tüüpi IFNide retseptor (IFNAR) ekspresseerub kehas oluliselt laialdasemalt kui III tüüpi IFNide retseptor (IFNLR) (9).

Arvatakse, et III tüüpi IFNid kujutavad endast varasemat kaitseliini kui I tüüpi IFNid – sellele viitab IFNLRi ekspressioon limaskestadel, mis puutuvad haigustekitajaga esimesena kokku. Samuti on esmase kaitseliinina III tüüpi IFNidel omadus tekitada väiksemat põletikuvastust kui I tüüpi IFNidel. See on eriti oluline seedetraktis, mille epiteeli kokkupuude mikroobidega on teiste limaskestadega võrreldes kõige intensiivsem. Seega peaks sellise arusaama kohaselt olema tugevam kaitseliin ehk I

tüüpi IFNid vajalikud alles siis, kui III tüüpi IFNide pakutav kaitse ammendub (10).

IRGde produktid ehk IFNidest sõltuvad viirusvastased valgud võivad pärssida mis tahes etappi viiruse replikatsioonitsükli. Mõned replikatsioonitsükli etapid on sagedasemad sihtmärgid kui teised – enamasti on sihtmärgiks varajased etapid nagu viirusosakese sisenemine ning genoomi replikatsioon. Järgnevates lõikudes on toodud mõnede IRGde viirusvastane toime, et illustreerida IFNide indutseeritud vastuse mitmekesisust (11).

Viirusosakese rakku sisenemist inhibeerib näiteks IFITM3 (IFNide indutseeritud transmembraanne valk), mis pärssib endotsütoosi teel sisenevate ümbriisega viiruste (sh koroonaviiruste) ühinemist rakumembraaniga (12). Seevastu NCOA7 (ingl *nuclear coactivator*) geeniprodukt surub alla viirusosakeste endotsütoosi tänu vesiikulites asetseva vesinikpumba indutseerimisele: vesiikulite sisu hapestub ning endotsüteeritud materjal laguneb (13). Viirusosakese lagundamist pärast rakku sisenemist vahendab näiteks TRIM5α (ingl *tripartite motif*). See mitme funktsiooniga valk moodustab retroviiruste kapsiidile võrgustiku ning viirusosake lagundatakse proteasoomides (14).

Viirusvalkude translatsiooni pärssivate IRGde näiteks on IFIT-perekonna (IFNide indutseeritud valgud, millel on tetratri-

kopeptiidi kordused) valgud. Need valgud takistavad translatsiooni alustamist ning seeläbi hoiavad ära viirusvalkude sünteesi, kuna seonduvad võõra nukleiinhaptega (15). Teistsuguse toimemehhanismiga on valk ZAP (ingl *zinc-finger antiviral protein*), mis seostub viirusliku RNAGA, tundes selle ära CG dinukleotiidi järgi ning suunab selle eksosoomidesse lagundamiseks (16). Ka OASi (oligoadenülaadi süntetaas) ensüümid vahendavad viirusliku RNA lagundamist, kuna nad on tundlikud kaheaheelalise RNA suhtes ning aktiveerivad RNAas L-i, mis on RNAd lagundav ensüüm (17).

Viiruse genoomi amplifikatsiooni pidurdab näiteks viperiin, mille viirusvastane toime on kinnitatud mitmete RNA- ja DNA-genoomiga viiruste puhul. See ensüüm katalüüsib selliste ribonukleotiidide metaboliitide teket, mis viiruse RNA-ahelasse sattudes peatavad ahela edasise sünteesi (18).

Viirusosakese rakust väljumist takistavatest IRGdest on kõige põhjalikumalt kirjeldatud teteriini. Teteriin on transmembraanne valk, millel on omadus siduda punguvad viirusosakesed rakumembraani külge, mistõttu viiruse vabanemine väheneb (16).

Lisaks viirusvastaste valkude ekspresiooni indutseerimisele on I ja III tüüpi IFNidel mõju ka omandatud immuunsusele. Esiteks, I tüüpi IFNid moduleerivad T-rakkude elulemust ja diferentseerumist. I tüüpi IFNid võivad T-rakulist immuunsust stimuleerida või alla suruda: mõju sõltub T-raku aktiveeritusest (19). Teiseks, I tüüpi IFNid soodustavad mitmete mehhanismide kaudu võõrantigeenide esitlemist lümfootsüütidele. Üheks näiteks oleks I ja II tüüpi

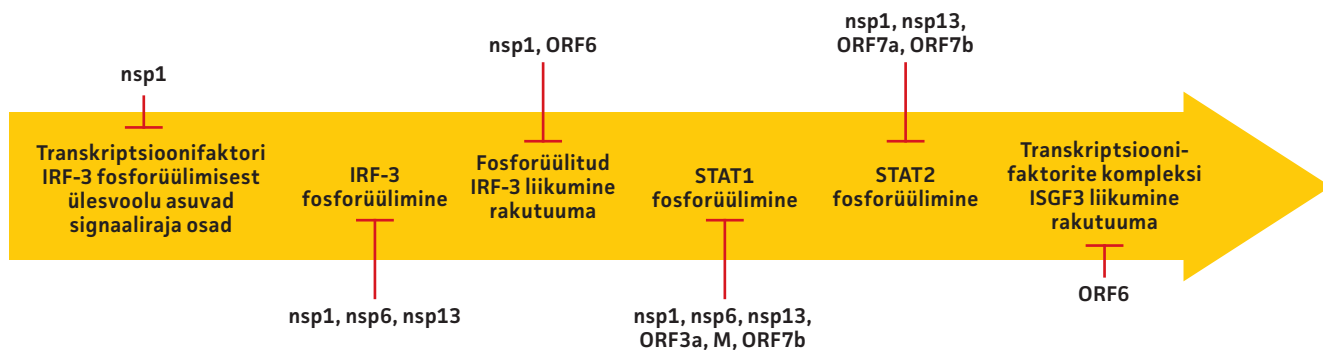
koosobivuskomplekside (MHC/HLA) ekspresiooni suurendamine (10). Ka III tüüpi IFNid moduleerivad T-rakulist immuunsust, kuid tõenäoliselt toimub see kaudsel teel, kuna T-rakud ekspresseerivad IFNLRi vähe või üldse mitte (20).

I ja III tüüpi IFNid mõjuvad ka kehbarjäärade toimimisele. Nimelt põhjustavad need tsütokiinid tiheliiduste tihedamat paiknemist hematoentsefaalbarjääris ning hingamis- ja gastrointestinaalbarjääris. Nende barjäärade tihedamaks muutumine vähendab viirusosakeste tungimist barjäärade taga asuvatesse ruumidesse, näiteks hingamisteedest vereringesse. Eeltoodud IFNide toimeid vahendavad teised rakusisesed signaalirajad kui IRGde ekspresiooni puhul (10).

### SARS-COV-2 KAITSEMEHHANISMID INTERFEROONIDE VASTU

SARS-CoV-2 võime kaitsta ennast peremehe I ja III tüüpi IFNide suhtes ei ole inimest nakatavate viiruste seas eriline. Mõned teised viirused, mis kodeerivad IFNide antagoniste, on näiteks Ebola viirus ning A-grupi gripiviirus (21, 22).

SARS-CoV-2 kodeerib oma üheaheelalises RNA-genoomis 16 mittestruktuurset valku (nsp1–16, ingl *non-structural protein*), nelja struktuurset valku (sh ogavalk ja ümbri-sevalk) ning seitset lisavalku (ingl *accessory proteins*, ORF-valgud). Xia jt tootsid koekultuuris kõiki eelmainitud SARS-CoV-2 geeniprodukte, v.a nsp3, ning testisid nende valkude võimet suruda alla rakukultuuri IFN-β sekretsiooni. Analüüsitud viirusvalkudest pärssisid IFN-β tootmist kolm mittestruktuurset valku (nsp1, nsp6 ja



nsp – ingl *non-structural protein*; ORF – ingl *open reading frame*; M – membraanivalk

Joonis 3. SARS-CoV-2 kodeeritud interferoonide süsteemi antagonistid. Joonis on koostatud Xia jt järgi.

nsp13) ning üks lisavalk (ORF6) (vt joonis 3). Kõige tugevamad IFN- $\beta$  produktsiooni pärssijad olid nsp1 ning ORF6, mis surusid IFNide tootmist alla rohkem kui 90% (23).

Uuritud viirusvalgud olid suunatud IFNide produktsiooniks vajaliku signaaliraja erinevate osiste pihta. Kõige võimsama antagonistliku toimega nsp1 toimib mitmele sihtmärgile, mis paiknevad I ja III tüüpi IFNide produktsiooniks vajalikust transkriptsioonifaktorist IRF-3 nii üleskui ka allavoolu (vt joonis 3). Tõenäoliselt surub nsp1 muu hulgas alla I tüüpi IFNide translatsiooni, sidudes ning lagundades mRNA-d – seda on varem korduvalt tõestatud SARS-CoV nsp1 puhul (24). Võimsuselt teine viirusvalk ORF6 pärssis fosforüülitud IRF-3-e liikumist rakutuuma, mistõttu oli I ja III tüüpi IFNide ekspressioon häiritud. Nõrgema toimega viirusvalkude nsp6 ja nsp13 juuresolekul on häiritud IRF-3 fosforüülimine, mis samuti takistab IRF-3 liikumist rakutuuma.

Eraldi tuleks käsitleda viirusvalke, mis Xia jt järgi suruvad alla I tüüpi IFNide indutseeritud signaalirada, seega IRGde ekspresseerumist. Leiti, et SARS-CoV-2 kodeerib kümnet valku, millel on märkimisväärne toime I tüüpi IFNide signaaliraja suhtes – nende hulgas on ka eelnevas lõigus mainitud nsp1, ORF6, nsp6 ja nsp13. Kümnest I tüüpi IFNide signaaliraja vastasest viirusvalgust seitse (sh nsp1, nsp6 ja nsp13) surusid alla STAT1 ja/või STAT2 fosforüülimist ning seeläbi nende liikumist rakutuuma (vt joonis 3). Küllalt tugeva IFN- $\beta$  produktsiooni allasurujana mainitud ORF6 pärssib I tüüpi IFNide signalisatsiooni, blokeerides STAT1 liikumist rakutuuma, mistõttu IRGde ekspressiooni ei saa toimuda.

Avaldatud uurimistulemused ei ole SARS-CoV-2 viirusvalkude interferoonidevastase potentsiaali osas kooskõlas, kuna uurimuste meetodika on erinev (23, 25, 26). Vasturääkivused tulemustes võivad olla põhjustatud varieeruvusest ekspressiooniplasmiidi kogustes, mida kasutati rakkude transfekterimiseks, et toota viirusvalku. Samuti ei ole teada, millises hulgas ekspresseeruvad viirusvalgud viirusinfektsiooni ajal *in vivo*, seega võib *in vitro* eksperimentides saadavaid tulemusi mõjutada katsemudelil kasutatud viirusvalgu kogus.

Vaatamata sellele, et nii MERS-CoV, SARS-CoV kui SARS-CoV-2 kuuluvad koroonaviiruste hulka, on nendel viirustel ükstei-

sest eristuvad IFNide süsteemi pärssimise mehhanismid (23). Viiruste SARS-CoV ja SARS-CoV-2 genoom on ligi 90% ulatuses kattuv, kuid nende viiruste IFNide antagonistide sugulus ei ole nii suur (27, 28). Xia jt analüüsisid kolme eelmainitud koroonaviiruse ühiseid IFNide antagonistide ning leidsid, et mõned SARS-CoV-2 viirusvalgud (nsp1, nsp6) on märkimisväärselt potentsamad kui kahel teisel koroonaviirusel (23). Lokugamage jt võrdlesid mitmel rakuliinil SARS-CoV ja SARS-CoV-2 tundlikkust I tüüpi IFNide suhtes ning leidsid, et tervikuna on SARS-CoV-2 partiklid I tüüpi IFNide suhtes tundlikumad kui SARS-CoV partiklid (28).

## INTERFEROONIDE SÜSTEEMI AKTIIVSUSE SEOS COVID-19 HAIGUSPILDIGA

Haiglaravil olevatel COVID-19-patsientidel mõõdetud I ja III tüüpi IFNide tase on viirusinfektsiooni kohta ebaadekvaatselt madal. Hospitaliseerimise esimestel päevadel oli haigete veres nii IFN- $\alpha$  kui IFN- $\lambda$ 1 sisalduse mediaan madalam kui grippi põdejalatel sarnasel ajal (vt joonis 4) (29). Ka Contoli jt uuringus leiti, et hospitaliseeritud COVID-19-patsientide IFN- $\alpha$  taseme mediaan on kordades madalam kui teistel ägeda hingamispuudulikkuse tõttu hospitaliseeritud patsientidel (30). Erinevalt alfainterferoonist oli Hadjadj jt uuringu valimisse kuulunud 50 COVID-19-patsiendil vere IFN- $\beta$  sisaldus nii madal, et seda ei olnud võimalik kvantifitseerida (31). Väga madal IFN- $\beta$  tase veres iseloomustas ka Contoli jt uuringu valimisse kuulunud 54 COVID-19 patsienti – IFN- $\beta$  tase oli määratav vähem kui veerandil patsientidest (30).

Kerge ja mõõduka haiguskuluga COVID-19-patsientidel on oluliselt kõrgem IFN- $\alpha$  tase kui kriitilises seisus COVID-19-patsientidel (31). Viimast leidu kinnitab ka Contoli jt uuring, kus paraneva seisundiga COVID-19-patsientide IFN- $\alpha$ 2 tase oli positiivse dünaamikaga, kuid letaalse lõppega patsientidel püsis IFN- $\alpha$ 2 tase stabiilselt madalal (30). Lisaks kõrgeks tõusnud IFN- $\alpha$  tasemele on COVID-19 kergema kulu puhul kõrgem ka IFN- $\lambda$ 2, kuid mitte teiste III tüüpi IFNide alatüüpide sisaldus veres (32).

Erinevalt I ja III tüüpi IFNidest on hospitaliseeritud COVID-19-patsientidel põletikutsütokiinide TNF ja IL-6 tase tugevalt ning püsivalt tõusnud, sõltumata haiguskulu raskusest – tekib nn tsütokiinide torm (31,



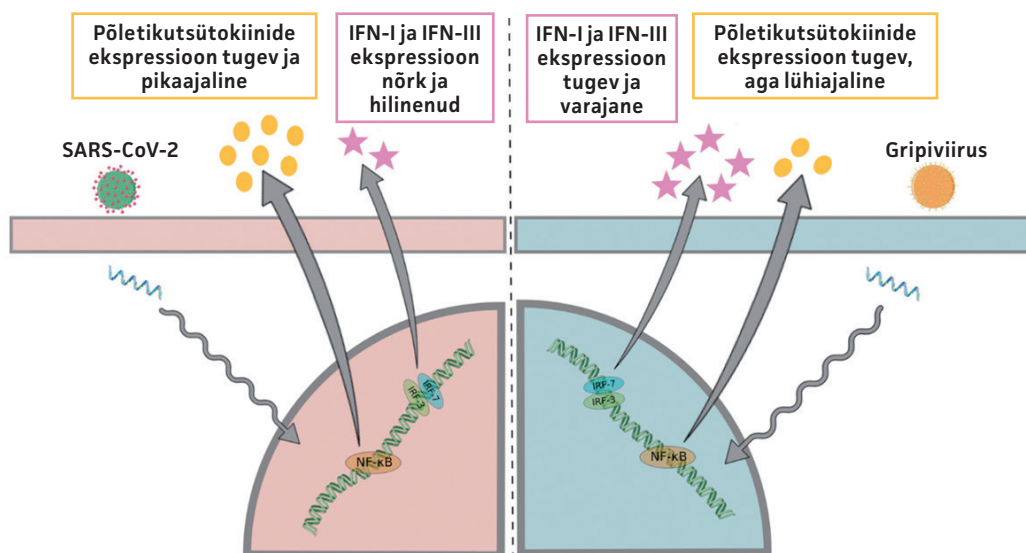
33). Lisaks klassikalistele põletikutsütokiinidele on üles reguleeritud kemokiinid, mis võivad olla hingamispuudulikkuse tekkes olulise patogeneetilise tähendusega, n-ö meelitades alveolaarruumidesse neutrofiile ja monotsüüte (34). Ka teiste viirusinfektsioonide puhul on põletikutsütokiinide tase kõrge, kuid tavaliselt üksnes lühiajaliselt (vt joonis 4). Näiteks grippi haigestunute põletikutsütokiinide tase on sarnane COVID-19-põdejatega, kuid viimastel püsib põletikutsütokiinide tase kõrgel mitmeid nädalaid, mis on oluliselt kauem kui grippi haigestunutel (29).

I ja III tüüpi IFNide sisaldust veres saaks teiste biomarkeritega kombineerituna potentsiaalselt kasutada COVID-19 haigusliku prognoosimiseks ning raviotsuste tegemiseks. IFN- $\alpha$ 2 madal tase haiguse teisel nädalal seostus Hadjadj jt uuringus suurenenud riskiga sattuda kriitilisse haigusseisundisse ning Contoli jt järgi seostub IFN- $\alpha$ 2 positiivne dünaamika kliinilise seisundi paranemisega (30, 31). Ometi on Lucase jt uuringu järgi kauem aega hospitaliseeritud need patsiendid, kellel on enne teist haigusnädalat suhteliselt kõrgem IFN- $\alpha$ 2 sisaldus veres (33). Ka IFN- $\lambda$ 1 kõrge tase hospitaliseerimise esimestel päevadel seostus Galani jt järgi eesootava kriitilise seisundiga (29). Viimast seost ei kinnita Lucase jt uuring, kus enne teist haigusnädalat mõõdetud

IFN- $\lambda$ 2 sisaldus veres ei olnud seotud haiguse raskuse ega surmlõppega – on tõenäoline, et uuringus tehtud järeldused oleksid teistsugused, kui tsütokiinide tase oleks määratud infektsiooni varasemas faasis (33).

Ootamatut seost III tüüpi IFNide kõrge taseme ja kriitilisse seisundisse sattumise vahel saab põhjendada III tüüpi IFNide potentsiaaliga soodustada sekundaarsete infektsioonide teket alumistes hingamisteedes või kahjustada muul moel hingamisbarjääri – seda on tõestatud hiiremudelil. Ilmselt on superinfektsiooni tekkeriski suurenemine põhjustatud III tüüpi IFNide põletikuvastasest toimest, mis ekstreemsetel juhtudel jätab organismi vastuvõtlikuks oportunistlike mikroobide põhjustatud infektsioonide suhtes (36). Lucase jt leitud seost kõrge IFN- $\alpha$ 2 veresisalduse ja suremuse vahel võib selgitada hilinenud I tüüpi IFNide vastusega, mis Channappanavari jt järgi koondab kopsukoosse põletikulise toimega monotsüüte ja makrofaage – seda on samuti tõestatud üksnes hiiremudelil. Õigeaegse I tüüpi IFNide vastuse olulisust illustreerib Channappanavari jt uuringus tehtud loomkatse, kus MERS-CoV-ga nakatatud hiirtel hoidis kõigil juhtudel surmlõppe ära kuus tundi pärast viirusega nakatamist manustatud IFN- $\beta$  (37).

Seoses sellega, et I ja III tüüpi IFNide usaldusväärseks kvantifitseerimiseks



IFN-I – I tüüpi interferoon; IFN-III – III tüüpi interferoon; IRF – interferooni regulatoorne faktor; NF- $\kappa$ B – ingl *nuclear factor kappa B*

**Joonis 4.** Raske COVID-19 ja gripi immuunvastuse võrdlus haiguse algsfaasis. Autori koostatud joonis Blanco-Melo jt järgi (35).

napib endiselt meetodeid, on nende taseme hindamiseks kasutatud ka nn interferoonide jälge ehk IRGde ekspresioonitaset. Kui võrrelda erineva raskusastmega COVID-19-patsientide immuunrakkude IRGde ekspressiooni, on uuringute tulemused vasturääkivad. Üldistades võib öelda, et mõned IRGd ekspresseeruvad aktiivsemalt kriitilises seisus haigetel ning teised IRGd ekspresseeruvad tugevamalt mittekriitilises seisundis haigetel. Ammendavat IRGde ekspresioonianalüüsi on keeruline teha IRGde rohkuse tõttu – see on ilmselt põhjus, miks erinevates uuringutes kasutatud IRGde paneelid omavahel ei kattu.

Näiteks Galani jt tegid ekspresioonianalüüsi 9 COVID-19-patsiendi leukotsüütidel ning leidsid, et kriitilises seisus haigetel on viirusvastaste IFIT- ja OAS-geenide ekspresioon enamasti kõrgem kui mittekriitilises seisus haigetel (29). Seevastu Hadjadj jt analüüsisid 32 COVID-19-patsiendi geeniekspressiooni leukotsüütides ning tegid 6 IRG (sh viperiin) ekspressiooni põhjal vastupidise järelduse – kerge COVID-19 kulu korral on IRGde ekspressiooni keskvärtus suurem kui kriitilise haigusseisundi puhul (31).

Võib järeldada, et SARS-CoV-2 infektsiooni ajal domineerib põletikutsütokiinide sekretsioon, sest seda tasakaalustav I ja III tüüpi IFNide vastus on puudulik. Seetõttu toimib viiruse esilekutsutud immuunvastus mõnel juhul organismi kahjustava, mitte kaitsva jõuna. Häirunud I ja III tüüpi IFNide süsteem COVID-19-infektsiooni ajal võib olla põhjustatud nii viiruse- kui ka inimesepoolsetest teguritest. Esiteks on näidatud, et SARS-CoV-2 kodeerib valke, mis suruvad peremeesraku viirusvastast kaitset alla (23). Teiseks, inimesel võib olla geneetiline eelsoodumus viirusinfektsioonide raskemaks kuluks viirusvastase süsteemi kaasasündinud defektide tõttu (38). Kolmandaks, I ja III tüüpi IFNide toimimine võib olla häiritud patsiendi veres olevate autoantikehade tõttu, mis neutraliseerivad sekreteeritud IFNe (39).

I ja III tüüpi IFNide süsteemi toimimise ja COVID-19 kulu vaheliste seoste kinnitamiseks ning edasiseks uurimiseks on vaja viia läbi longitudinaalseid uuringuid. Nagu ka teiste tsütokiinide puhul, sekreteeritakse IFNe üksnes lühiajaliselt – Galani jt järgi langes hospitaliseeritud gripihaigetel IFN- $\alpha$  sisaldus esimese haiglanädala jooksul

kiiresti (29). Seetõttu võivad läbilõikeliste uuringute tulemused I ja III tüüpi IFNide süsteemi toimimist kas ala- või ülehinnata. Täiendavad uuringud aitaksid vastata küsimusele, kas COVID-19-t raskelt põdejad iseloomustab madal I tüüpi IFNide tase juba infektsiooni alguses või ammendub I tüüpi IFNide süsteem pärast esialgset taseme tõusu infektsiooni alguses (31). Samuti aitaksid I ja III tüüpi IFNide osalust COVID-19 patogeneesis selgitada uuringud, mis hospitaliseeritud mõõduka ja raske haiguskuluga patsientide kõrval kaasaks valimisse asümptomaatilisi või väheste sümptomitega nakatunuid.

## INTERFEROONIDE KASUTAMINE COVID-19 RAVIS

Mitmeid haigusi on püütud ravida ning ravitakse siiani I tüüpi IFNidega, kusjuures kasutatud on erinevaid I tüüpi IFNide esindajaid. Hulgiskleroos ehk polüskleroos (*sclerosis multiplex*) on süsteemne autoimmuunhaigus, mille relapseeruvate vormide esmavaliku ravimiks on rekombinantne IFN- $\beta$ . Esimest tüüpi IFNide toimemehhanism hulgiskleroosi puhul on ebaselge, kuid arvatakse, et see seostub põletikuvas-tase toimega. Seevastu hematoloogiliste kasvajate ning mõnede soliidtuumorite raviskeemis on kasutatud alfainterferooni, et stimuleerida rakulist immuunsust. Ka B- ja C-hepatiidi ravis on varem kasutatud pikendatud poolväärtusajaga I tüüpi IFNe. Erinevalt I tüüpi IFNidest ei ole ükski IFN- $\lambda$  alatüüp ravimina kasutusel, kuid mitmed kliinilised uuringud viirushepatiidi patsientidega on näidanud IFN- $\lambda$  kui ravimikandidaadi ohutust (40).

Iraanis viidi läbi juhuslikustatud juhtkontrolluuring, kuhu kaasati üle 90 COVID-19-patsiendi. Ravirühmale manustati naha alla kahe nädala vältel IFN- $\beta$ 1-te. Võrreldes kontrollrühmaga oli ravirühmal enam kui kaks korda väiksem 28 päeva suremus. Veelgi enam, suremus vähenes üksnes nendel patsientidel, kellele manustati I tüüpi IFNi kümne päeva jooksul sümptomite tekkest. Patsientidel, kellel alustati IFN-ravi hiljem, oli suremus sarnane kontrollrühmaga. Uuringutulemusi võis väikse valimi kõrval mõjutada asjaolu, et ravirühmas oli kortikosteroidravi saanute arv üheksa inimese võrra suurem kui kontrollrühmas. Samuti kallutab tulemusi see, et IFN-ravi saanute rühmas jäeti andmeanalüüsist välja neli

patsienti, kes surid enne neljanda IFNi-doosi saamist (41).

WHO moodustatud konsortsium korraldas 30 riiki hõlmanud juhuslikustatud juhtkontrolluuringu, kuhu kuulus üle 2000 COVID-19-patsiendi. Ravirühmale manustati naha alla või veenisisesi IFN- $\beta$ 1-te. Uuringus sedastati, et ravirühma suremus oli üle 10% suurem kui kontrollrühmal. Nende tulemuste võrdlemist teiste uuringutega takistab see, et ravirühmast moodustasid rohkem kui 30% sellised patsiendid, kes said lisaks ka lopinaviiri. Samuti kasutati WHO uuringus ebatavalist IFNi manustamiskeemi. IFNi manustati naha alla üksnes kolm doosi kuue päeva jooksul ning veenisisesi üks kord päevas kuue päeva jooksul (42).

Rohkem kui neljasaja Hiina Hubei provintsi COVID-19-patsiendi andmed kaasati retrospektiivsesse kohortuuringusse, kus uuriti nebuliseeritud (inhaleeritava) IFN- $\alpha$ 2b mõju haiguse kulule. Patsientide seas, kellele manustati IFNi viie päeva jooksul haiglasse saabumisest, oli suremus võrreldes kontrollrühmaga väiksem. Seevastu seostus IFNi manulus pärast viiendat haiglas viibimise päeva kontrollrühmaga võrreldes kõrgema suremusega. Ka selles uuringus kasutati osa patsientide ravis lisaks kortikosteroidide, kuid sellega seonduvaid andmeid ei kaasatud uuringusse (43). Võib arvata, et IFN- $\beta$  on COVID-19-vastase ravimina lootustandvam kui IFN- $\alpha$ 2b, kuna viimasel on vähemasti *in vitro* uuringute järgi vähemalt sada korda nõrgem viirusvastane toime võrreldes beetainterferooniga (8).

Synairgen on ravimifirma, mis viib läbi 2. faasi ravimiuuringuid kroonilise obstruktiivse kopsuhaiguse (KOK) ravimikandidaadiga, milleks on nebuliseeritud IFN- $\beta$ . Sama ravimikandidaadiga tehti juhuslikustatud topeltpimendatud juhtkontrolluuring, kuhu kaasati ligi 100 hospitaliseeritud COVID-19-patsienti. Sümptomite tekkest ravi alustamiseni kulunud aja mediaan oli 10 päeva. Ravirühmal oli kaks korda suurem šanss, et kliiniline seisund (sh hapnikravi vajadus) on 15. haiglaravi päevaks paranenud. Uuringuperioodi lõpul ehk 28. päeval oli haigusest taastunud 58% patsientidest ravi- ning 35% platseeborühmas. Järelduste tegemist selles uuringus mõjutab ravirühma kasuks see,

et raske COVID-19 põdejaid oli enam kui kontrollrühmas (vastavalt 77% ja 58%) (44).

Inhaleeritavate IFNide eeliseks on vähem kõrvaltoimeid ja parem biosaadavus. IFNide laialdasemat kasutust haiguste ravis on takistanud kõrvaltoimed. Esimeste ravinädalate jooksul põhjustab lihasesisesi või nahaalusi manustatud IFN väga sageli gripilaadseid sümptomeid nagu palavik, külmavärinad, pea-, liigese- ja lihasevalud. Teiste kõrvaltoimetena on IFNide puhul olulised neutropeenia ning depressioon (45).

Eelnevalt väljatoodud Synairgeni nebuliseeritud IFN- $\beta$  uuringus oli ravimil kõrvaltoimeid sarnasel määral platseeboga (vastavalt 54% ja 60%), mis tõestab lokaalselt manustatud I tüüpi IFNi ohutust (44). Lisaks on inhaleeritav ravimvorm COVID-19 puhul otstarbekas, kuna SARS-CoV-2 peamine ründepunkt on hingamisepiteel.

2021. aasta augusti seisuga on veebilehe ClinicalTrials.gov järgi käimas neli kliinilist uuringut, kus uuritakse III tüüpi IFNe kui COVID-19 ravimikandidaate. Võrdluseks olgu välja toodud, et samal ajal on alustatud IFN- $\alpha$  puhul kuue ning IFN- $\beta$  puhul kümne kliinilise uuringuga, kus uuritakse raviefekti COVID-19 suhtes. Kõik neli III tüüpi IFNide kliinilist uuringut kasutavad pegüleeritud ehk pikendatud poolestusajaga IFNi, mida manustatakse nahaalusi.

I ja III tüüpi IFNide rakendamisel COVID-19 ravis on suur ühisosa. Esiteks, I ja III tüüpi IFNe võiks manustada suure terviseriskiga inimestele profülaktiliselt või võimalikult varajases COVID-19 staadiumis, aga kindlasti mitte kriitilises seisus haigetele. Teiseks, raskes seisundis haigetele manustatud I ja III tüüpi IFNid võivad soodustada hingamispuudulikkuse teket või selle süvenemist. Kolmandaks, eelistatud ravimvorm võiks olla inhaleeritav I või III tüüpi IFN, kuna hingamisteed on SARS-CoV-2 peamine ründepunkt ning ka kõrvaltoimete tekkerisk on väiksem. Praegu ei ole veel teada, millise I ja III tüüpi IFNide esindaja kasutamine oleks COVID-19 ravis enim põhjendatud või milline on optimaalne IFNide ravidoos ja ravikuuri pikkus.

#### VÕIMALIKU HUVIKONFLIKTI DEKLARATSIOON

Autoritel puudub huvikonflikt seoses käsitletud teemaga.



## SUMMARY

## Interferons and COVID-19: impact on disease severity and applications in treatment

Martti Vanker<sup>1</sup>Supervisor: Kai Kisand<sup>2</sup>

Type I and type III interferons (IFNs) are antiviral proteins secreted from virus-infected cells. The severe course of COVID-19 is characterized by inadequately low type I and type III IFN levels during the early disease phase: SARS-CoV-2 encodes proteins capable of inhibiting the antiviral defence of the host, which enables rapid viral replication. Inhalable type I and type III IFNs are potential COVID-19 drug candidates that could drastically reduce the risk of developing severe disease.

## KIRJANDUS / REFERENCES

- Isaacs A, Lindenmann J. Virus interference. I. The interferon. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 1957;147:258–67.
- Kotenko SV, Gallagher G, Baurin VV, et al. IFN- $\lambda$ s mediate antiviral protection through a distinct class II cytokine receptor complex. *Nat Immunol* 2003;4:69–77.
- Sheppard P, Kindsvogel W, Xu W, et al. IL-28, IL-29 and their class II cytokine receptors IL-28R. *Nat Immunol* 2003;4:63–8.
- Park A, Iwasaki A. Type I and Type III Interferons – induction, signaling, evasion, and application to combat COVID-19. *Cell Host Microbe* 2020;27:870–8.
- Reizis B. Plasmacytoid dendritic cells: development, regulation, and function. *Immunity* 2019;50:37–50.
- Ank N, West H, Bartholdy C, et al. Lambda interferon (IFN- $\lambda$ ), a Type III IFN, is induced by viruses and IFNs and displays potent antiviral activity against select virus infections in vivo. *J Virol* 2006;80:4501–9.
- Lavoie TB, Kalie E, Crisafulli-Cabatu S, et al. Binding and activity of all human alpha interferon subtypes. *Cytokine* 2011;56:282–9.
- Mantlo E, Bukreyeva N, Maruyama J, et al. Antiviral activities of type I interferons to SARS-CoV-2 infection. *Antiviral Res* 2020;179:104811.
- Prokunina-Olsson L, Alphonse N, Dickenson RE, et al. COVID-19 and emerging viral infections: The case for interferon lambda. *J Exp Med* 2020; 217. DOI: 10.1084/jem.20200653.
- Lazear HM, Schoggins JW, Diamond MS. Shared and distinct functions of type I and type III interferons. *Immunity* 2019;50:907–23.
- Schoggins JW. Interferon-stimulated genes: what do they all do? *Annu Rev Virol* 2019;6:567–584.
- Chesarino NM, Compton AA, McMichael TM, et al. IFITM3 requires an amphipathic helix for antiviral activity. *EMBO Rep* 2017;18:1740–51.
- Doyle T, Moncorgé O, Bonaventure B, et al. The interferon-inducible isoform of NCOA7 inhibits endosome-mediated viral entry. *Nat Microbiol* 2018;3:1369–76.
- Kutluay SB, Perez-Caballero D, Bieniasz PD. Fates of retroviral core components during unrestricted and TRIM5-restricted infection. *PLoS Pathog* 2013;9. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003214.
- Vladimer GI, Górna MW, Superti-Furga G. IFITs: emerging roles as key anti-viral proteins. *Front Immunol* 2014;5. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00094.
- Chemudupati M, Kenney AD, Bonifati S, et al. From APOBEC to ZAP: Diverse mechanisms used by cellular restriction factors to inhibit virus infections. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Cell Res* 2019;1866:382–94.
- Chakrabarti A, Jha BK, Silverman RH. New insights into the role of RNase L in innate immunity. *J Interferon Cytokine Res* 2011;31:49–57.
- Gizzi AS, Grove TL, Arnold JJ, et al. A naturally occurring antiviral ribonucleotide encoded by the human genome. *Nature* 2018;558:610–14.
- Crouse J, Kalinke U, Oxenius A. Regulation of antiviral T cell responses by type I interferons. *Nat Rev Immunol* 2015;15:231–42.
- Zanoni I, Granucci F, Broggi A. Interferon (IFN)- $\lambda$  takes the helm: immunomodulatory roles of type III IFNs. *Front Immunol* 2017;8. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01661.
- Xu W, Edwards MR, Borek DM, et al. Ebola virus VP24 targets a unique NLS binding site on karyopherin alpha 5 to selectively compete with nuclear import of phosphorylated STAT1. *Cell Host Microbe* 2014;16:187–200.
- Marazzi I, Ho JSY, Kim J, et al. Suppression of the antiviral response by an influenza histone mimic. *Nature* 2012;483:428–33.
- Xia H, Cao Z, Xie X, et al. Evasion of type I interferon by SARS-CoV-2. *Cell Rep* 2020;33. DOI: 10.1016/j.celrep.2020.108234.
- Huang C, Lokugamage KG, Rozovics JM, et al. SARS coronavirus nsp1 protein induces template-dependent endonucleolytic cleavage of mRNAs: viral mRNAs are resistant to nsp1-induced RNA cleavage. *PLOS Pathog* 2011;7. DOI: 10.1371/journal.ppat.1002433.
- Yuen C-K, Lam J-Y, Wong W-M, et al. SARS-CoV-2 nsp13, nsp14, nsp15 and orf6 function as potent interferon antagonists. *Emerg Microbes Infect* 2020;9:1418–28.
- Konno Y, Kimura I, Uriu K, et al. SARS-CoV-2 ORF3b is a potent interferon antagonist whose activity is increased by a naturally occurring elongation variant. *Cell Rep* 2020;32:108185.
- Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med* 2020. DOI: 10.1056/NEJMoa2001017.
- Lokugamage KG, Hage A, de Vries M, et al. Type I interferon susceptibility distinguishes SARS-CoV-2 from SARS-CoV. *J Virol* 2020; 94. DOI: 10.1128/JVI.01410-20.
- Galani I E, Rovina N, Lampropoulou V, et al. Untuned antiviral immunity in COVID-19 revealed by temporal type I/III interferon patterns and flu comparison. *Nat Immunol* 2021;22:32–40.
- Contoli M, Papi A, Tomassetti L, et al. Blood interferon- $\alpha$  levels and severity, outcomes, and inflammatory profiles in hospitalized COVID-19 patients. *Front Immunol* 2021; 12. DOI: 10.3389/fimmu.2021.648004.
- Hadjadj J, Yatim N, Barnabei L, et al. Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients. *Science* 2020;369:718–24.
- Yosuke F, Homma T, Inoue H, et al. Downregulation of type III interferons in patients with severe COVID-19. *J Med Virol* 2021;93:4559–63.
- Lucas C, Wong P, Klein J, et al. Longitudinal analyses reveal immunological misfiring in severe COVID-19. *Nature* 2020;584:463–9.
- Zhou Z, Ren L, Zhang L, et al. Heightened innate immune responses in the respiratory tract of COVID-19 patients. *Cell Host Microbe* 2020;27:883–90.
- Blanco-Melo D, Nilsson-Payant BE, Liu W-C, et al. Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19. *Cell* 2020; 181: 1036–1045.
- Broggi A, Ghosh S, Sposito B, et al. Type III interferons disrupt the lung epithelial barrier upon viral recognition. *Science* 2020;369:706–12.
- Channappanavar R, Fehr AR, Zheng J, et al. IFN-I response timing relative to virus replication determines MERS coronavirus infection outcomes. *J Clin Invest* 2019;129:3625–39.
- COVID-19 Host Genetics Initiative. Mapping the human genetic architecture of COVID-19. *Nature* 2021;1–8.
- Bastard P, Rosen LB, Zhang Q, et al. Autoantibodies against type I IFNs in patients with life-threatening COVID-19. *Science* 2020; 370. DOI: 10.1126/science.abd4585.
- Schreiber G. The role of type I interferons in the pathogenesis and treatment of COVID-19. *Front Immunol* 2020;11:595739.
- Davoudi Monfared E, Rahmani H, Khalili H, et al. A randomized clinical trial of the efficacy and safety of interferon  $\beta$ -1a in treatment of severe COVID-19. *Antimicrob Agents Chemother* 2020; 64. DOI: 10.1128/AAC.01061-20.
- Consortium WST. Repurposed antiviral drugs for Covid-19 — interim WHO solidarity trial results. *N Engl J Med* 2020, 384. DOI: 10.1056/NEJMoa2023184.
- Wang N, Zhan Y, Zhu L, et al. Retrospective multicenter cohort study shows early interferon therapy is associated with favorable clinical responses in COVID-19 patients. *Cell Host Microbe* 2020;28:455–64.
- Monk PD, Marsden RJ, Tear VJ, et al. Safety and efficacy of inhaled nebulised interferon beta-1a (SNG001) for treatment of SARS-CoV-2 infection: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Respir Med* 2020; 9. DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30511-7.
- Calabrese LH, Lenfant T, Calabrese C. Interferon therapy for COVID-19 and emerging infections: Prospects and concerns. *Cleve Clin J Med* 2020. DOI: 10.3949/ccjm.87a.ccc066.

<sup>1</sup> student, Faculty of Medicine, University of Tartu, Estonia,  
<sup>2</sup> Institute of Biomedicine and Translational Medicine, University of Tartu, Estonia

Correspondence to:  
 Martti Vanker  
 martti.vanker@ut.ee

Keywords:  
 COVID-19, SARS-CoV-2, interferons, cytokines, congenital immunity