

[COVID Information Commons \(CIC\) रिसर्च लाइटनिंग टॉक](#)

[Harvey Pollard द्वारा एक प्रस्तुति की प्रतिलिपि \(Uniformed Services University School of Medicine\), December 9, 2024](#)



शीर्षक: [COVID-19 वायुमार्ग की सूजन CFTR सिग्नलिंग के स्पाइक अवरोध के कारण होती है](#)

[हार्वे पोलार्ड सीआईसी डेटाबेस प्रोफाइल](#)

[एनआईएच पुरस्कार #: 1R01HL167048-01](#)

[स्लाइड के साथ YouTube रिकॉर्डिंग](#)

[दिसंबर 2024 सीआईसी वेबिनार सूचना](#)

[ट्रांसक्रिप्ट संपादक:](#) Sstuti Deepak Mehra

प्रतिलिपि

पावरपॉइंट स्लाइड 1

धन्यवाद - सभी को सुप्रभात, या शुभ दोपहर। इस वार्ता का शीर्षक है: "कोविड-19 वायुमार्ग में सूजन सार्स-कोव-2 स्पाइक प्रोटीन द्वारा CFTR सिग्नलिंग के कारण है।" चूंकि हम सभी कोविड महामारी से गुजरे हैं, इसलिए इसमें से बहुत कुछ आपके लिए नया नहीं होगा। लेकिन CFTR नया हो सकता है। इसका मतलब है - यह एक प्रोटीन उत्परिवर्तन का नाम है जो सिस्टिक फाइब्रोसिस नामक बीमारी का कारण बनता है। यह कुछ ऐसा है जिस पर हम काम करते हैं। वास्तव में, इस प्रोटीन का नाम याद रखना मुश्किल है, क्योंकि जो लोग शुरुआत में टोरंटो में बीमार बच्चों के अस्पताल में इसका अध्ययन कर रहे थे, उन्हें पता नहीं था कि यह क्या करता है। वे AM डायल पर एक रॉक स्टेशन, CFTR, कैनेडियन फ्रीक्वेंसी टोरंटो, 680 सुन रहे थे, और उन्होंने इसे CFTR कहने का फैसला किया। मुझे यह नाम इसी तरह याद है - यह पुराने दिनों में लोगों के काम करने के बारे में जानकारी देने का एक तरीका है जब उन्हें ठीक से पता नहीं था कि वे क्या कर रहे थे। किसी भी मामले में, प्रोटीन अपने आप में बहुत महत्वपूर्ण है, क्योंकि दुर्लभ बीमारियों में पाए जाने वाले कई प्रोटीन या जीन - वे दुर्लभ हैं क्योंकि उनके बिना जीना मुश्किल है। हमारे साथ USAMRI, यूनाइटेड स्टेट आर्मी मेडिकल रिसर्च इंस्टीट्यूट ऑफ इंफेक्शियस डिजीज के सहकर्मी भी हैं, जहाँ सबसे खराब वायरस का अध्ययन किया जाता है। हम ऐसा करने में सक्षम थे - यह एक सहयोग है - और जिस पेपर के बारे में मैं बात करने जा रहा हूँ, वह हाल ही में वैज्ञानिक रिपोर्टों में प्रकाशित हुआ था। हंग काओहुई एट अल को इस स्लाइड के नीचे एक उद्धरण के रूप में दिखाया गया है।

पावरपॉइंट स्लाइड 2

इस परियोजना का लक्ष्य सबसे पहले यह समझना था कि कोविड-19 वायुमार्ग में प्रो-इन्फ्लेमेटरी साइटोकाइन तूफान किस तरह से हुआ। यह अनिवार्य रूप से घातक है। दूसरा, इस तूफान को दबाने के लिए एक चिकित्सीय रणनीति खोजना। वैसे, अगर आप स्पाइक ट्रिगर को हिलते हुए देखते हैं, तो यह हिलना चाहिए, यह आपकी आँखें नहीं हैं।

पावरपॉइंट स्लाइड 3

सबसे पहले, हमने ACE2 से स्पाइक प्रोटीन की बाइंडिंग के लिए इन विट्रो परख विकसित की। फिर, हमने ऐसी संभावित दवाओं की तलाश की जो इस अंतःक्रिया को रोक सकें। अंत में, हमने पाया कि डिजिटॉक्सिन, डिगॉक्सिन या ओबैन जैसे कार्डियक ग्लाइकोसाइड स्पाइक-ACE2 बाइंडिंग के शक्तिशाली अवरोधक थे। बाइंडिंग को देखने वाले बहुत सारे अध्ययनों को देखने के बाद, हमने यह सवाल पूछा कि क्या दुनिया भर में स्वीकृत उन दवाओं में से कोई भी - और लाइसेंस प्राप्त डिगॉक्सिन यहाँ संयुक्त राज्य अमेरिका में लाइसेंस प्राप्त है - वास्तव में संक्रमण में हस्तक्षेप करती है

पावरपॉइंट स्लाइड 4

यह स्लाइड दिखाती है कि वायरस की संक्रामकता डेटा में मानव फेफड़ों की कोशिकाओं में डिजिटॉक्सिन और अन्य कार्डियक ग्लाइकोसाइड्स द्वारा बाधित होती है - A549 कोशिका, जो बहुत विशिष्ट है। सबसे ऊपर खुराक प्रतिक्रिया वक्रों की एक श्रृंखला है। x-अक्ष दवा की सांद्रता है और y-अक्ष हरे रंग में निरोधात्मक मान हैं, जिन्हें अनिवार्य रूप से K12 मान कहा जाता है।

शीर्ष पर एक सीर-वेल है, यह खुराक प्रतिक्रिया वक्रों की एक श्रृंखला है x-अक्ष दवा की सांद्रता और y-अक्ष हरे रंग में निरोधात्मक मान K1 मान अनिवार्य रूप से सभी तीन कार्डियक ग्लाइकोसाइड दवाओं के लिए EC50 मान प्रदर्शित करते हैं। दिलचस्प बात यह है कि वे हृदय विफलता के इलाज के लिए उपयोग की जाने वाली सांद्रता श्रेणियों में हैं। लाल रंग साइटोटॉक्सिसिटी है। यह संबंधित निरोधात्मक EC50 मानों से लगभग दस गुना अधिक है, जिसका अर्थ है कि आप इन दवाओं का उपयोग कोशिकाओं को नुकसान पहुँचाए बिना कर सकते हैं। नीचे के दो बॉक्स उन स्टेरायड न्यूक्लियस को दिखाते हैं जो इन दवाओं से संबंधित हैं, लेकिन शर्करा के बिना। ये उतने प्रभावी नहीं हैं। यह 2021 में वैज्ञानिक रिपोर्टों में प्रकाशित हुआ था, इसलिए हम यह देखकर बहुत खुश हैं कि हम वास्तव में कुछ इन विट्रो प्रयोगों को किसी ऐसी चीज़ में प्रसारित कर सकते हैं जो इन विट्रो के करीब थी।

पावरपॉइंट स्लाइड 5

CFTR के बारे में अतिरिक्त प्रारंभिक जानकारी है जिस पर जिसे मैं विशेष रूप से उजागर करना चाहता हूँ। यह एक जीन है जो दुर्लभ आनुवंशिक बीमारी सिस्टिक फाइब्रोसिस में सूजन को नियंत्रित करने के लिए जिम्मेदार है। और जैसा कि हम अगली कुछ स्लाइडों में देखेंगे, यह COVID-19 वायुमार्ग में सूजन को नियंत्रित करने के लिए ज़रूरी है।

पावरपॉइंट स्लाइड 6

मैं सिर्फ पहला भाग पढ़ने जा रहा हूँ क्योंकि इसमें वही बात है जो मैं कहना चाहता हूँ, इसके बाद हम आगे बढ़ेंगे। कोविड-19 महामारी की शुरुआत में, यह पाया गया कि घातक साइटोकाइन तूफान TNF अल्फा और NF कप्पा बी मार्ग के सक्रिय होने के कारण था, लेकिन यह कैसे हुआ, यह कोई नहीं जानता था।

इस स्लाइड के बीच में, आप एक सिग्नलिंग मार्ग देख सकते हैं जो TNF अल्फा से शुरू होता है, जो फिर कोशिका की झिल्ली में एक TNF रिसेप्टर से जुड़ता है और वहीं यह पहले इंटरसेल्युलर एडेप्टर, एक अणु जिसे TRADD कहा जाता है। DD का मतलब डेथ डोमेन है, आप जानते हैं, बहुत परेशान करने वाला। वह अणु TNF अल्फा से IKK तक सभी संकेतों को ले जाने के लिए एक महत्वपूर्ण निर्देशक है, जो तब I कप्पा बी अल्फा से जुड़ता है या फॉस्फोरलेट करता है, पर्याप्त कप्पा बी जारी करता है, जो नाभिक में प्रवेश करता है और IL-6, IL-8, TNF अल्फा जैसे साइटोकाइन्स और कई mRNAs का उत्पादन करता है जो तब संश्लेषित होते हैं और वायुमार्ग और शरीर के बाकी हिस्सों में स्रावित होते हैं। वास्तव में, साइटोकिन तूफान के संदर्भ में, हमने, सिस्टिक फाइब्रोसिस के साथ इस स्थिति का अध्ययन करते हुए, पाया कि कुछ

डिजिटॉक्सिन जैसी प्रतिकारी उम्मीदवार दवाओं को देख रहे थे - हमने आपको पहले ही दिखाया है कि वे संक्रमण में हस्तक्षेप करते हैं। हमने पाया कि डिजिटॉक्सिन, डिगाँक्सिन और ओबैन मूल रूप से उस प्रक्रिया को अवरुद्ध करते हैं। आप लाल अक्षरों और छोटे ब्लॉक, टी-जंक्शन में देख सकते हैं कि जब आप TNF अल्फा और TNFR1 के बीच एक बाइंडरी कॉम्प्लेक्स बनाते हैं, तो यह TRADD से जुड़ना चाहता है लेकिन ऐसा नहीं कर सकता। तो यह है- पहला प्रयोग सिर्फ साधारण पुरानी हेला कोशिकाओं में किया गया था, और यह वास्तव में प्रदर्शित किया गया था कि समस्या कहाँ है। CFTR का एक कार्य उस अणु TRADD को अवरुद्ध करना है और इस तरह CF वायुमार्ग में साइटोकाइन तूफान को रोकना है, लेकिन वास्तव में, चूंकि डिजिटॉक्सिन और CFTR सभी एक ही स्थान पर काम कर रहे हैं, इसलिए अनिवार्य रूप से, दवाएँ CFTR की नकल कर रही हैं। हमने अनुमान लगाया कि COVID-19 साइटोकाइन तूफान CFTR के नुकसान के कारण था और कार्डियक ग्लाइकोसाइड, जो मूल रूप से CFTR की नकल करेंगे, उपचारात्मक हो सकते हैं।

पावरपॉइंट स्लाइड 7

तो सवाल यह था कि क्या स्पाइक प्रोटीन एक्सपोजर CFTR को कम करता है? जिस तरह से हमने यह प्रयोग किया हवा-पानी के इंटरफेस पर तैयार किए गए मानव फेफड़े के अंग का उपयोग करना था। आप कुछ बेसल कोशिकाओं को डालते हैं जो हमें एक सहकर्मी से इस हवा-पानी के इंटरफेस में मिली थीं और 28 दिनों की कल्चर के दौरान, आप एक सुंदर उपकला विकसित करते हैं। आप नीचे इम्यूनोफ्लोरोसेंस द्वारा सत्यापित गाँब्लेट कोशिकाओं, सहायक कोशिकाओं और अन्य प्रकार की कोशिकाओं को देख सकते हैं। बाईं ओर हमने CFTR के स्तरों पर स्पाइक प्रोटीन के प्रभावों के वेस्टर्न ब्लॉट विश्लेषण का उपयोग किया। क्षैतिज अक्ष के साथ हमने पहले ऊपरी कॉलम, A, वुहान से पैतृक या मूल स्पाइक प्रोटीन में सांद्रता बढ़ाई। यह खुराक पर निर्भर, महत्वपूर्ण खुराक पर निर्भर, CFTR की हानि का कारण बनता है। फिर हमने एक बहुत अधिक जैविक रूप से सक्रिय स्ट्रेन को देखा। यह दक्षिण अफ्रीकी बीटा स्ट्रेन है, जो कि COVID वायरस के रूप में बहुत अधिक शक्तिशाली है। CFTR को कम करने में बहुत अधिक शक्तिशाली। आप बार ग्राफ और वेस्टर्न ब्लॉट में यह अंतर स्पष्ट रूप से देख सकते हैं। अतः हमने निष्कर्ष निकाला कि स्पाइक प्रोटीन का संपर्क CFTR के स्तर को कम कर देता है।

पावरपॉइंट स्लाइड 8

अगला सवाल यह था कि क्या स्पाइक प्रोटीन प्रो-इंफ्लेमेटरी NF कप्पा B सिग्नलिंग को सक्रिय करता है। खैर, मैंने सिग्नलिंग पाथवे के जो ग्राफ मैंने दिखाए हैं, उनमें प्रोटीन की एक श्रृंखला है। सबसे ऊपर से शुरू करते हुए, TNF अल्फा, TRADD, और इसी तरह। CFTR के खो जाने पर ये सक्रिय हो जाते हैं। जैसे-जैसे आप स्पाइक प्रोटीन की सांद्रता बढ़ाते हैं, फिर से, हम यहाँ वुहान स्ट्रेन का उपयोग कर रहे हैं, बाईं ओर के सभी लाल तीर वास्तव में उन स्थानों को दिखाते हैं जहाँ वृद्धि हो रही है। यदि आप ऊपर देखें, तो आप देखेंगे कि TRADD वास्तव में बढ़ रहा है। अंत में, IL-8, जो हमारे द्वारा मापे गए साइटोकिन्स में से एक है, भी बढ़ रहा है। इसलिए हाँ, स्पाइक प्रोटीन प्रो-इंफ्लेमेटरी NF कप्पा B सिग्नलिंग को सक्रिय करता है।

पावरपॉइंट स्लाइड 9

यहीं पर हमारे USAMRI सहकर्मी काम आए। क्या कार्डियक ग्लाइकोसाइड्स मूल वायरस द्वारा खोए गए CFTR से उपकला कोशिकाओं की रक्षा करते हैं? बाईं ओर आपको एक वेस्टर्न ब्लॉट दिखाई देगा। बीच में कई चीजें जोड़ी गई हैं। जहाँ यह 'केवल वायरस' कहता है, आप देखेंगे कि उस CFTR बैंड की तीव्रता का स्तर, इस मामले में डिमर है, मीडियम कंट्रोल की तुलना में काफी कम हो गया है और डिजिटॉक्सिन और ओउबैन स्तरों को बढ़ाते हैं। बार ग्राफ मूल रूप से बहुत समान चीजें दिखाता है। ये सभी चार स्वतंत्र प्रयोगों पर आधारित हैं। यहाँ वास्तविक स्थिति यह है कि हमारे लिए स्पाइक प्रोटीन के साथ प्रयोग करना बहुत

अच्छा है, लेकिन यह सत्यापित करना बहुत महत्वपूर्ण है कि यह वास्तविक वायरस और वास्तविक बीमारियों में हो रहा है। यह कुछ ऐसा था जिसे प्रदर्शित करने और सत्यापित करने में हमारी रुचि थी।

पावरपॉइंट स्लाइड 10

अगला सवाल यह है कि "स्पाइक केवल ACE2 से कैसे जुड़ता है, फिर भी CFTR स्तरों को कैसे प्रभावित करता है?" ऐसा कैसे हो सकता है? एक संभावना यह थी कि शायद मौजूद CFTR कोशिका झिल्ली में ACE2 से बंधा हुआ था। यह पता चला, हाँ, यह ACE2 से बंधा हुआ है। इस चित्र के बाएँ हाथ की ओर से पता चलता है कि, वास्तव में, CFTR और ACE2 वास्तव में विभेदित उपकला बनाने वाली बेसल कोशिकाओं और अविभेदित उपकला दोनों में पाए जाते हैं। CFTR वहाँ मौजूद है, ACE2 भी और वह सब कुछ भी जो एक प्रभावी संक्रमण शुरू करने के लिए आवश्यक है (जब तक आप एक संक्रमण को अच्छा कह सकते हैं)। दाएँ हाथ की ओर, यह दर्शाता है कि यदि आप ACE2 के विरुद्ध एंटीबॉडी लेते हैं और इसे इम्यूनो-प्रीसिपिटेट करते हैं, फिर उस इम्यूनो-प्रीसिपिटेट को बंधे हुए CFTR के लिए जाँचते हैं, तो निश्चित रूप से, आप बहुत सारे CFTR पा सकते हैं। ये दो डुप्लिकेट प्रयोग हैं, NRS बस सामान्य चूहे का सीरम है। आप इम्यूनोप्रीसिपिटेटेड CFTR को केवल बेसल कोशिकाओं में भी पा सकते हैं, इसलिए यह मूलतः उपकला की सभी परतों में उपलब्ध है।

पावरपॉइंट स्लाइड 11

मैं यहाँ रुककर सभी को यह याद दिलाना चाहता हूँ और इस पर जोर देना चाहता हूँ कि CFTR एक चक्रीय AMP सक्रिय क्लोराइड चैनल है। यह चैनल वायुमार्ग को हाइड्रेटेड बनाए रखने के लिए आवश्यक है। जब चैनल नहीं होता है, तो वायुमार्ग सूख जाता है और सूजन हो जाती है। इस विशेष मामले में, हमारे पास कोशिका की सतह में CFTR प्रोटीन है। ऊपर वायुमार्ग है, नीचे कोशिका का अंदरूनी भाग है। नोरेपीनेफ्राइन या एपिनेफ्राइन एक ऐसे प्रोटीन से बंध सकते हैं - एक अन्य प्रोटीन जो CFTR से बंधता है उसे बीटा 2 एड्रीनर्जिक रिसेप्टर कहा जाता है। यह चक्रीय AMP उत्पन्न करता है, प्रोटीन किनेज A सक्रिय होता है। यह फिर CFTR को फॉस्फोरेलेट करके सक्रिय करता है। चैनल गतिविधि सक्रिय होती है। आप क्लोराइड अणु को बाहर निकलते हुए देख सकते हैं।

मैं इसे क्यों दिखा रहा हूँ? ठीक है, अगर प्रोटीन खो रहा है, तो आप उम्मीद करते हैं कि चैनल गतिविधि भी खो जाएगी। यह एक तरह का परीक्षण है। क्या यह वास्तव में सही है कि स्पाइक प्रोटीन CFTR और उससे जुड़ी हर चीज़ को कम और निष्क्रिय करता है?

पावरपॉइंट स्लाइड 12

दाईं ओर आप मूल रूप से एक शास्त्रीय चैंबर प्रयोग देख सकते हैं। लेकिन हम वास्तव में बाएँ हाथ की ओर क्षैतिज अक्ष को देख सकते हैं - यह एक समय पाठ्यक्रम है और ऊर्ध्वाधर अक्ष तरल इंटरफ़ेस से वायु की दिशा में क्लोराइड परिवहन की गतिविधि दर्शाता है। यदि आप [अश्रव्य] को स्थिर करने के लिए कुछ IBMX या कुछ और जोड़ते हैं, तो हरा - चैनल खुल जाता है। आप एक स्पष्ट संकेत देख सकते हैं। यदि आप मुड़ते हैं और CFTR का अवरोधक जोड़ते हैं, तो यह कम हो जाएगा, लेकिन यदि आप स्पाइक प्रोटीन जोड़ते हैं, तो आप लगभग 50% संकेत खो देते हैं। इस प्रयोग में, यहाँ स्पाइक वुहान स्ट्रेन है, इसलिए यह इनमें से सबसे कम शक्तिशाली है, लेकिन यदि आप 24 घंटे के दौरान संवर्धित होने वाले इस सेल कल्चर में ओउबिन या डिजिटॉक्सिन या डिगॉक्सिन जोड़ते हैं, तो स्पाइक प्रभाव खो जाता है। दाएँ हाथ की ओर, आप बार ग्राफ के साथ उस कहानी को देख सकते हैं, लेकिन नीचे जहाँ "CFTR" लिखा है, आप देख सकते हैं कि जब आपने स्पाइक जोड़ा है, तो आपको और भी कम CFTR मिलता है। अतः स्पाइक प्रोटीन उसी प्रणाली में CFTR प्रोटीन की हानि का कारण बनता है, और उपकला में तीनों कार्डियक ग्लाइकोसाइड से उपचार करने पर यह हानि रोकी जाती है। चैनल गतिविधि की हानि, प्रोटीन की हानि, सभी एक ही समय

में होती हैं। इसका अर्थ है कि हमने इस अवधारणा को ठोस रूप से प्रमाणित किया है कि स्पाइक प्रोटीन और उस मामले के लिए वायरस ने CFTR के स्तर को कम कर दिया है।

पावरपॉइंट स्लाइड 13

हमारा निष्कर्ष यह है कि डेटा इस परिकल्पना का समर्थन करता है कि COVID-19 साइटोकाइन तूफान CFTR की कमी के कारण है। दूसरा निष्कर्ष यह है कि CFTR की कमी TNF α /NF कप्पा B सिग्नलिंग को चलाने के लिए TRADD को सक्रिय करती है। डिजिटॉक्सिन, डिगॉक्सिन और ओबैन शायद उपचारात्मक थे, पहला, संक्रमण को रोकते हुए - यानी वायरस को ACE2 से बंधने से रोककर, और दूसरा सूजन को रोककर, TRADD को अवरुद्ध करके और इस तरह खोए हुए CFTR की क्रिया को प्रतिस्थापित करके। हम सुझाव देते हैं कि कार्डियक ग्लाइकोसाइड का लाभ यह है कि यह COVID-19 के लिए एक ऐसा औषधि परिवार है जिसमें COVID-19 के लिए दो संभावित और समवर्ती चिकित्सीय क्रियाएँ हैं।

पावरपॉइंट स्लाइड 14

हमें इन स्वीकृतियों का उल्लेख करना आवश्यक है। आंशिक रूप से इसमें शामिल हैं, यूनिफॉर्म सर्विसेज़ में हमारी प्रयोगशाला और USAMRIID में हर्बर्ट और फ़्लोरेज़ प्रयोगशालाएँ। हमें रक्षा विभाग का एक अस्वीकरण भी शामिल करना होगा जो इस तथ्य के बारे में बात करता है कि हम किसी को कुछ बेचने की कोशिश नहीं कर रहे हैं। हम इसके लिए आपका धन्यवाद करते हैं।

पावरपॉइंट स्लाइड 15

धन्यवाद - मैं प्रस्तुति में बाद में पूछे जाने वाले किसी भी प्रश्न का उत्तर देने के लिए उत्सुक हूँ।