

IMMUNOLOGIA w dobie COVID-19

pod patronatem Polskiego Towarzystwa Immunologii
Doświadczalnej i Klinicznej

23 i 26 czerwca 2020

Odporność populacyjna
a COVID-19: czy i kiedy?

Korelacje genotyp-fenotyp
w pierwotnych niedoborach
odporności

Wtórne niedobory odporności
u dorosłych: przyczyny,
diagnoza i postępowanie

Standardized high-dimensional
immune monitoring of COVID-19
patients with mass cytometry

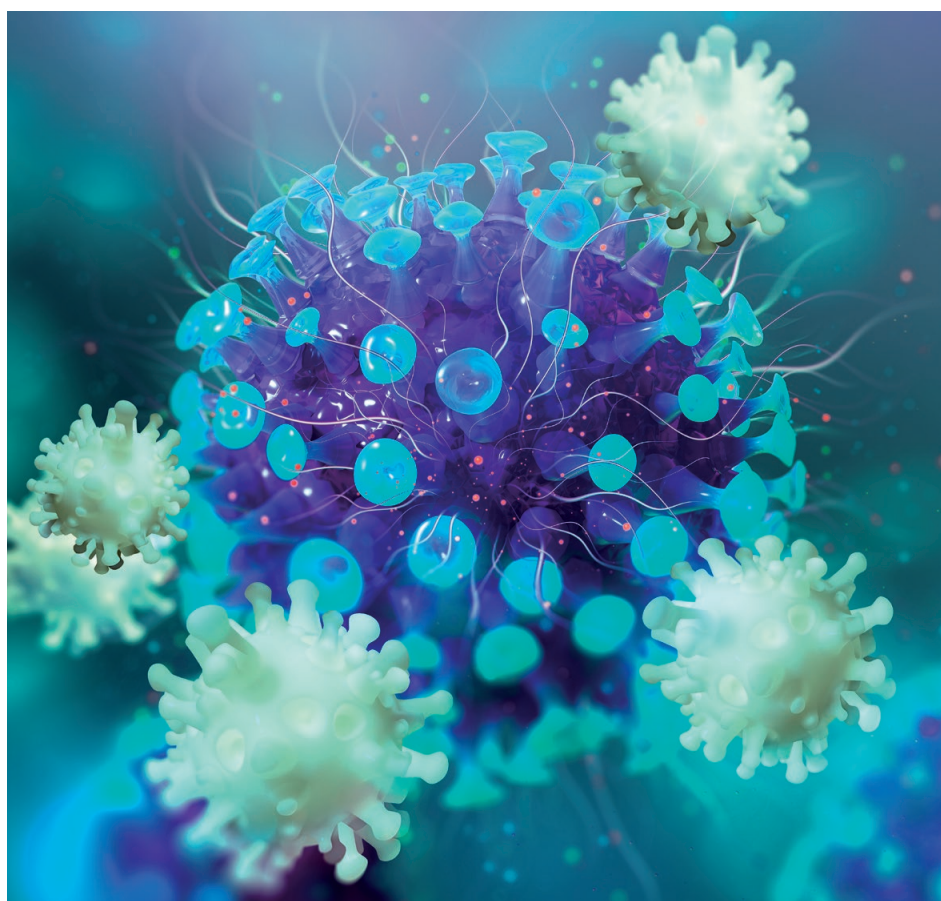
Mechanizmy starzenia się układu
odpornościowego a COVID-19
i choroby wieku podeszłego

Szczepienia w niedoborach
odporności

Postęp w diagnostyce i leczeniu
pierwotnych niedoborów odporności

Personalizacja leczenia
w chorobach immunologicznych

Leczenie COVID-19 metodą
podania osocza ozdrowieńców



WEBINARIUM IMMUNOLOGIA W DOBIE COVID-19

pod patronatem Polskiego
Towarzystwa Immunologii
Doświadczalnej i Klinicznej

webinar

Immunology in the era
of COVID-19

under the patronage
of Polish Society for Fundamental
and Clinical Immunology



Prowadzenie

Leading

prof. dr hab. n. med.
Jacek M. Witkowski.

Organizacja

Organization

MediPage Sp. z o.o., Med-Media Sp.j.
ul. Łowicka 51/20
02-535 Warszawa
<https://medipage.pl>
<http://med-media.pl>

Redakcja

Redactor

Grażyna Burzyńska
tel. 602 496 069

Obsługa techniczna

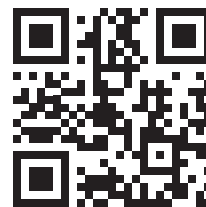
Technical support

Apla Press
ul. Konstruktorska 6
02-673 Warszawa
studio@aplapress.pl

SPIS TREŚCI

CONTENTS

Odporność populacyjna a COVID-19: czy i kiedy? Population resistance and COVID-19: if and when? <i>dr hab. n. med. Sylwia Kołtan, prof. UMK</i>	4
Korelacje genotyp-fenotyp w pierwotnych niedoborach odporności Genotype-phenotype correlations in primary immunodeficiencies <i>dr n. med. Beata Wolska-Kuśnierz</i>	8
Wtórne niedobory odporności u dorosłych: przyczyny, diagnoza i postępowanie Secondary immunodeficiencies in adults: causes, diagnosis and procedure <i>prof. dr hab. n. med. Jacek Roliński</i>	11
Standardized high-dimensional immune monitoring of COVID-19 patients with mass cytometry Wystandaryzowane, wielowymiarowe monitorowanie układu immunologicznego u pacjentów z COVID-19 z użyciem cytometrii masowej <i>Roberto Spada, PhD</i>	13
Mechanizmy starzenia się układu odpornościowego a COVID-19 i choroby wieku podeszłego Mechanisms of human immune system aging in relation to COVID-19 and other age-related diseases <i>prof. dr hab. n. med. Jacek M. Witkowski</i>	15
Szczepienia w niedoborach odporności Vaccination in immunodeficiencies <i>dr hab. n. med. Bożena Mikołuc</i>	22
Postęp w diagnostyce i leczeniu pierwotnych niedoborów odporności w dobie COVID-19 Progress in the diagnosis of primary immunodeficiencies in the era of COVID-19 <i>prof. dr hab. n. med. Ewa Bernatowska</i>	26
Personalizacja leczenia w chorobach immunologicznych Personalized treatment in immune disorders <i>prof. dr hab. n. med. Ewa Bryl</i>	31
Leczenie COVID-19 metodą podania osocza ozdrowieńców COVID-19 treatment with convalescent plasma <i>dr hab. n. med. Krzysztof Tomaszewicz, prof. UM</i>	35



**Producent wysokiej
jakości wirówek
laboratoryjnych
i medycznych
od 1948 roku.**

MPW MED. INSTRUMENTS

ul. Boremlowska 46
04-347 Warszawa
www.mpw.pl

POLSKA

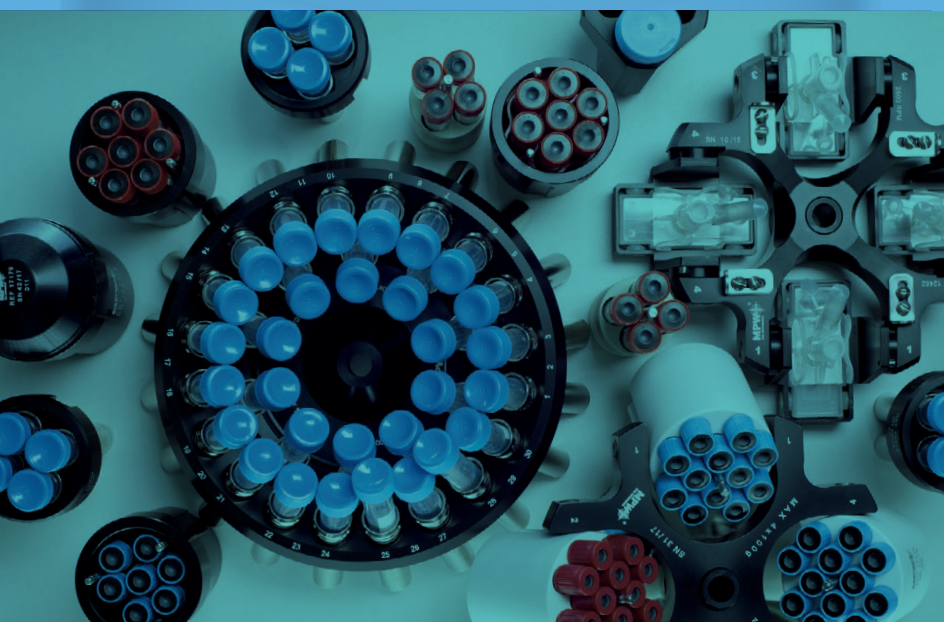
Tel.: +48 22 610 56 21
Fax.: +48 22 610 55 36
E-mail: mpw@mpw.pl

SERWIS

Tel.: +48 22 610 81 07
Fax.: +48 22 610 55 36
E-mail: service@mpw.pl

SPRZEDAŻ

Tel.: +48 22 740 20 25
Fax.: +48 22 610 81 01
E-mail: mpw@mpw.pl



Odporność populacyjna a **COVID-19**: czy i kiedy?

dr hab. n. med. Sylwia Kołtan, prof. UMK

Katedra Pediatrii, Hematologii i Onkologii, Collegium Medicum w Bydgoszczy,
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Population resistance and COVID-19: if and when?

Abstract

Herd immunity is a form of indirect protection against infection spreading from person to person. With regard to COVID 19, it can be achieved by immunization 60-66% of the population. The cost of immunizing such a large number of people through natural immunization with the virus over time would be so high that this should not be a goal. In contrast, the development of an effective and safe vaccine gives hope for achieving herd immunity.

Wstęp

Wirus SARS-CoV-2 należy do podrodziny *Coronavirinae* z rodziny *Coronavirida* i jest jednym z siedmiu gatunków koronawirusów wywołujących infekcje u człowieka. Jego szybkie rozprzestrzenianie się na całym świecie oraz wywołane tym konsekwencje zdrowotne i ekonomiczne spowodowały, że znalezienie skutecznych leków oraz szczepionki stały się priorytetem dla międzynarodowej społeczności. Oczywiście jest, że najlepszym sposobem na rozwiązanie problemu pandemii wywołanej przez SARS-CoV-2 byłoby osiągnięcie odporności populacyjnej. W gremiach naukowych, politycznych, a także w mediach rozgorzała dyskusja, czy:

- możliwe jest jej osiągnięcie przy braku szczepionki, poprzez naturalne szerzenie się infekcji; jeśli tak – to jakim kosztem?
- czy opracowanie szczepionki pozwoli na szybkie wypracowanie odporności populacyjnej?

Poniżej przedstawiam przegląd aktualnych danych literaturowych na temat odporności populacyjnej w kontekście SARS-CoV-2 oraz COVID-19.

Ochrona przed zakażeniami

Ochronę przed zakażeniami można osiągnąć:

- bezpośrednio poprzez uzyskanie odporności

po szczepieniach lub po przechorowaniu;

- pośrednio, dzięki otoczeniu osób nieuodpornionych przez „łańcuch” ludzi zaszczepionych lub po przebyciu danego zakażenia.

Obydwa sposoby są współcześnie stosowane. Udowodniono skuteczność szczepień ochronnych zarówno w odniesieniu do jednostek, jak i całych populacji w wielu chorobach zakaźnych. Przy czym szczepienia prawie zawsze skutecznie chronią osobę zaszczepioną, natomiast odporność populacyjna wymaga spełnienia kilku warunków. Przede wszystkim można ją uzyskać wyłącznie w odniesieniu do infekcji szerzących się z człowieka na człowieka. Nie dotyczy chorób zakaźnych o innej drodze szerzenia się zakażenia (wścieklizna, tężec, kleszczowe zapalenie mózgu). Ponadto wymaga uodpornienia znacznej części populacji: im więcej osób uodpornionych, tym skuteczniejsza odporność populacyjna.

Podstawowe pojęcia w matematycznym modelowaniu odporności populacyjnej

Poznanie zjawisk związanych z szerzeniem się zakażeń dało podstawy do opracowania modeli matematycznych szerzenia się epidemii, a także zdefiniowania warunków osiągnięcia odporności populacyjnej. Zdefiniowano wskaźniki, którymi posługują się epidemiolodzy w przewidywaniu

zagrożenia epidemiologicznego związanego z szerzeniem się danego zakażenia. Do podstawowych z nich należą:

- R_0 – podstawowa liczba odtwarzania (basic reproductive number): ile osób nieuodpornionych zarazi średnio jedna osoba chora w jednostce czasu w populacji całkowicie nieuodpornionej;
- R_e – ile osób nieuodpornionych zarazi średnio jedna osoba chora w jednostce czasu w populacji częściowo nieuodpornionej;
- HIT – próg odporności zbiorowskowej (*Herd Immunity Threshold*) odsetek osób uodpornionych w populacji, po osiągnięciu którego liczba nowych zakażonych zaczyna się zmniejszać;
- IFR – wskaźnik śmiertelności infekcji (*Infection Fatality Rate*): odsetek zgonów osób zakażonych spośród wszystkich zakażonych.

Trochę o epidemii

Rzeczywista populacja stanowi najczęściej „mieszanie” osób uodpornionych i nieuodpornionych. Jeśli w danej populacji pojawi się nowy czynnik zakaźny, szerzący się z człowieka na człowieka, to jedna zarażona osoba zakazi maksymalną liczbę osób z kontaktu, czyli rzeczywista liczba odtwarzania R będzie równa R_0 . W miarę wzrostu odsetka osób uodpornionych R zacznie maleć i będzie niższe od R_0 . Jeżeli:

- $R = 1$, zachorowalność nie zmienia się w czasie, średnia liczba przypadków reprodukowanych przez jednego zakażającego wyniesie 1 – endemia
- $R < 1$, średnia liczba przypadków reprodukowanych przez jednego zakażającego wyniesie < 1 : zachorowalność maleje – endemia lub epidemia wygasa
- $R > 1$, średnia liczba przypadków reprodukowanych przez jednego zakażającego wyniesie > 1 : zachorowalność wzrasta – epidemia.

Odporność populacyjna a SARS-CoV-2 – czy w ogóle?

W poniższej tabeli przedstawiono wskaźniki R_0 oraz HIT dla kilku wybranych chorób, w tym COVID-19.

Przy braku szczepionki przeciwko COVID-19 dla osiągnięcia odporności populacyjnej musiałoby zarazić się 60–66% populacji. Ponadto każdy zakażony musiałby wytworzyć odporność, najlepiej trwałą. Wyliczenia dla naszego kraju wskazują, że:

- zachorowaniu musiałoby ulec 23–26 milionów osób,
- przy założeniu, że 20% chorych będzie wymagała hospitalizacji – taka konieczność dotyczyłaby ok. 1 mln. osób,
- przy założeniu śmiertelności 0,7–1%: śmierć poniosłoby ok. 230–260 tys. osób,
- powikłania zdrowotne, w tym bardzo poważne i trwałe, w chwili obecnej są trudne do oszacowania.

Dodatkowo doświadczenia z obserwacji dotyczących szerzenia się innych epidemii wskazują, że odporność nabywana w trakcie ich trwania nie zapewni wyhamowania zachorowań po zbliżeniu się do HIT (dla SARS-CoV-2 to ok. 60%). Popularne jest porównanie do rozpędzonego pociągu, który nie zatrzyma się w miejscu po zaciągnięciu hamulców. Uważa się, że odporność populacyjna w trakcie epidemii bez podjęcia działań spowalniających będzie osiągnięta szybciej, ale zachoruje ok. 90% populacji, natomiast zastosowanie metod spowalniających szerzenie się epidemii spowoduje, że odporność populacyjna osiągnięta zostanie później, ale zachorowaniu ulegnie 75% populacji.

Wszystkie powyższe dane wskazują, że osiągnięcie odporności populacyjnej przy braku szczepionki jest mało prawdopodobne, a jeśli nawet – to odbyłoby się tak dużym kosztem, że nie należy do tego zmierzać. Celem po-

Choroba	R_0	HIT
Błonica	6–7	85%
Odra	12–18	83–94%
Polio	5–7	80–86%
COVID-19	2–3	60–66%

winno być spowolnienie szerzenia się epidemii oraz „kupienie” czasu na opracowanie skutecznych terapii i szczepionek.

Bardziej prawdopodobne wydaje się osiągnięcie odporności populacyjnej w sytuacji dostępu do szczepionki (lub szczepionek) uodporniającej przeciwko SARS-CoV-2. Taka szczepionka powinna spełniać wiele warunków. Musi być skuteczna, bezpieczna, wywoływać odporność najlepiej trwałą, a przynajmniej wieloletnią. Producent/producenty muszą wyprodukować liczbę dawek pozwalających na uodpornienie 60–66% populacji. Dodatkowo wirus musiałby zachowywać się w sposób przewidywalny, czyli nie mutować w taki sposób, żeby

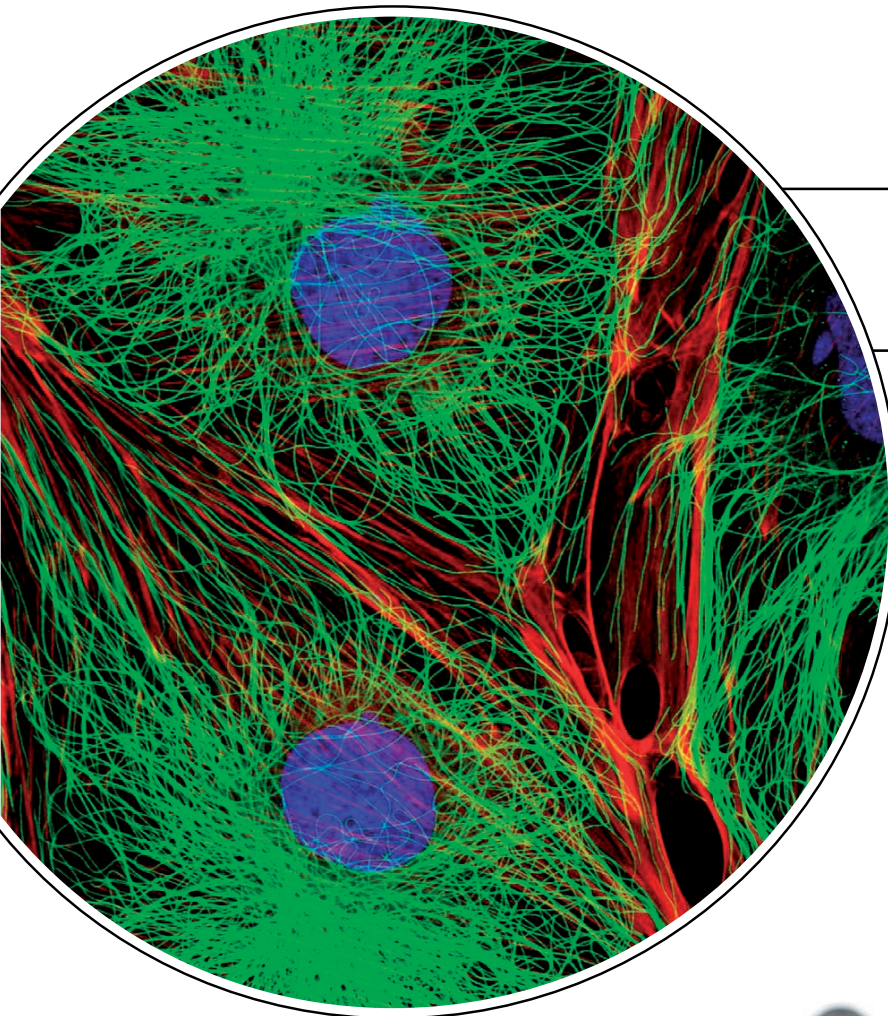
kolejne jego pokolenia były odporne na wcześniejszą immunizację.

Obecnie trwają intensywne prace nad opracowaniem szczepionki przeciwko COVID-19. Tempo prowadzenia badań nad poszczególnymi „kandydatami” na szczepionkę jest niespotykane. Dotychczas czas, jaki upływał od prowadzenia badań przedklinicznych do IV fazy, czyli dopuszczenia do szczepień masowych, wynosił od 14 do 19 lat. Szczepionka przeciwko COVID-19 ma być dopuszczona do masowego użytku po ok. 18 miesiącach. Fakt ten budzi niepokój wielu potencjalnych konsumentów szczepionki, dodatkowo podsycany przez osoby aktywnie działające w ruchach antyszczepionkowych.

Piśmiennictwo

1. Anderson E.J., Daugherty M.A., Pickering L.K. i in.: Protecting the community through child vaccination. *Clin Infect Dis*, 2018, 67(3): 464–471.
2. Randolph H.E., Barreiro L.B.: Herd Immunity: Understanding COVID-19. *Immunity* 2020, 52(5): 737–741.
3. Zieliński A.: Pojęcie odporności zbiorowiskowej w zastosowaniu do oceny efektywności szczepień ochronnych. *Przegl Epidemiol*, 1999, 53, 3–4, 245–255.

X Line: Breaking Barriers



Flatness

Expanded flatness with consistent sharpness, from the center to the edge

Chromatic Aberration

Exceptional color accuracy during brightfield and multicolor fluorescence imaging

Numerical Aperture

Improved brightness, resolution, and signal-to-noise ratio resulting in excellent image quality

Olympus' revolutionary polishing technology delivers ultra-thin lenses at the core of every X Line high-performance objective.



www.olympus-lifescience.com/landing/objectives

Korelacje genotyp-fenotyp w pierwotnych niedoborach odporności

dr n. med. Beata Wolska-Kuśnierz

Klinika Immunologii, Instytut „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka”, Warszawa

Genotype-phenotype correlations in primary immunodeficiencies

Abstract

Immunology and genetics are inseparable fields of science that have become particularly close in the last decade, thanks to the introduction and increasingly better access to next generation sequencing (NGS). The number of new genes that are discovered every year that causes immune disorders has increased significantly, and we are also learning new clinical phenotypes of known genes. According to the latest IUIS (International Union of Immunological Societies) classification of 2019, inborn errors of immunity (IEI) include 430 separate syndromes, and 64 new genetic defects associated with them have been discovered in the last 2 years alone. Although PIDs are classically considered as Mendelian disorders with complete penetrance, we now understand that absent or partial clinical disease is often noted in individuals harboring disease-causing genotypes.

Immunologia i genetyka to nierozłączne dziedziny nauki, które szczególnie zbliżyły się do siebie w ostatniej dekadzie dzięki wprowadzeniu metod sekwencjonowania nowej generacji (*next generation sequencing* – NGS) oraz coraz lepszej dostępności do nich. Znacznie wzrosła liczba odkrywanych co roku nowych genów odpowiedzialnych za zaburzenia odporności, poznajemy również nowe fenotypy kliniczne znanych już genów. Według najnowszej klasyfikacji IUIS (International Union of Immunological Societies) z 2019 r. wrodzone zaburzenia odporności (*inborn errors of immunity* - IEI) obejmują 430 odrębnych zespołów, a tylko w ciągu ostatnich dwóch lat odkryto 64 nowe defekty genetyczne z nimi związane. W praktyce stajemy przed wyborem optymalnej metody diagnozowania genetycznego, mając do dyspozycji klasyczne sekwencjonowanie metodą Sanger’a pojedynczych genów lub wykonanie jednoczesnej oceny tysięcy genów w oparciu o NGS. Obie metody mają swoje ograniczenia i zalety, a przy dokonywaniu wyboru konieczne jest również uwzględnienie czasu badania i jego kosztów. W przypadku dobrze zdefiniowanego fenotypu klinicznego, który pozwala na wytypowanie genu-kandy-

data z dużym prawdopodobieństwem odpowiadającego za objawy choroby, zwykle optymalne jest wykonanie klasycznego sekwencjonowania metodą Sanger’a. Jeśli za fenotyp może odpowiadać co najmniej kilka różnych genów, bardziej racjonalne będzie wykonanie badania w oparciu o NGS: sekwencjonowanie całego eksomu klinicznego (*whole exome sequencing* – WES) lub badanie panelu genów (*targeted gene sequencing* – TGS). W przypadku znalezienia wariantów zdefiniowanych już jako patogenne i pasujących do profilu pacjenta uzyskujemy genetyczne potwierdzenie IEI. Jeśli natomiast stwierdzony wariant nie był jeszcze raportowany lub dobrze sklasyfikowany, konieczne jest wykonanie kolejnych badań dla ostatecznego potwierdzenia jego związku z chorobą pacjenta. Dalsze postępowanie obejmuje analizy bioinformatyczne, ocenę ekspresji i funkcji białek produkowanych przez uszkodzony gen, czasami też konieczne jest przeprowadzenie badań na modelach zwierzęcych. Niestety takie procedury wykonywane są tylko w nielicznych laboratoriach, a ich dostępność w Polsce jest bardzo mała.

Wykrycie u pacjenta patogennego wariantu w genie

odpowiadającym za jego chorobę jest niezwykle istotne nie tylko dla ostatecznego potwierdzenia rozpoznania, lecz także dla oceny rokowania i wyboru optymalnej terapii. Najczęściej mamy do czynienia z mutacjami typu „*loss-of-function*” (LOF), które prowadzą do ograniczenia lub utraty funkcji produktu bądź braku produktu genu. Coraz częściej opisywane są również mutacje typu „*gain-of-function*” (GOF) – jest to mutacja nadmiarowa, wynikająca ze zwiększonej ilości produktu genu. W przypadku zaburzeń odporności przykładem są mutacje GOF w genie dla STAT1. Stały nadmiar białka STAT1 manifestuje się przede wszystkim kandydozą skórno-słuzówkową oraz procesami autoimmunizacyjnymi. Jeśli w tym samym genie dojdzie do mutacji LOF, konsekwencją są ciężkie, często letalne zakażenia bakteriami wewnątrzkomórkowymi, ponieważ nie następuje prawidłowa odpowiedź receptorów na interferony.

Przed udzieleniem porady genetycznej powinna być przeprowadzona analiza danych dostępnych w literaturze i bazach internetowych na temat korelacji danego wariantu genetycznego z przebiegiem klinicznym. W niektórych defektach zależność taka jest dobrze zdefiniowana, dzięki czemu można lepiej ocenić rokowanie i zoptymalizować terapię pacjenta. Przykładem są niedobory w zakresie receptora dla interferonu gamma – IFN γ R1. Fenotyp komórkowy jest proporcjonalny do ciężkości defektu genetycznego. Skutkiem mutacji homozygotycznych lub u złożonych heterozygot w genie IFNGR1 dochodzi do całkowitego braku funkcji receptora, co potwierdzają badania *in vitro*, m.in. brak wydzielania TNF przez komórki jednojądrzaste po stymulacji interferonem gamma. Klinicznym następstwem są ciężkie, zagrażające życiu infekcje wywołane przez prątki kwasoodporne. W przypadkach, gdy łagodniejszy defekt genu umożliwia powstanie receptora o częściowo zachowanej funkcji, następstwa kliniczne są znacznie łagodniejsze, co udokumentowano 10-krotnie niższą śmiertelnością wskutek mykobakterioz w porównaniu do sytuacji istnienia defektu całkowitego. Całkiem odmiennie przedstawia się kwestia defektów genu CTLA-4, gdy nie jest obserwowana korelacja fenotyp-genotyp, a dodatkowo stwierdza się zaskakująco niską penetrację defektu. Objawy kliniczne prezentuje tylko około 67% nosicieli różnych patogennych wariantów. Pojawia się pytanie, jakie czynniki epigenetyczne mają wpływ na ujawnienie lub brak choroby? Jedną z możliwości jest działanie mechanizmu kompensacji genowej, nazwanej adaptacją transkrypcyjną (transcriptional adaptation). Zjawisko to – w dużym uproszczeniu – polega na aktywacji, poprzez mRNA dla uszkodzonego genu,

transkrypcji genów homologicznych (o podobnej sekwencji lub funkcji). Innym ważnym mechanizmem jest metylacja i demetylacja DNA, które blokują lub odblokowują transkrypcję danego genu. Istotne różnice w metylacji udokumentowano na parze bliźniaków z identycznymi patogennymi wariantami w genie WASP; jedno z bliźniąt prezentowało ciężkie objawy zespołu WAS, a drugie jedynie łagodną małopłytkowość. Choroba lub nasilenie objawów może ulec zmianie w przypadku zaistnienia drugiej patogennej mutacji w innym genie (zjawisko epistazy). Przykładem jest przypadek trójki rodzeństwa z uszkodzeniem genu NEIL oraz modyfikującym patogennym wariantem w genie LRBA, co spowodowało ciężki przebieg kliniczny z hipogamaglobulinemią, ciężkimi infekcjami i autoimmunizacją.

Ogromna i nieodkryta jeszcze wiedza dotyczy niekodującej części genomu. W ponad 30 różnych niedoborach odporności wykazano związek przyczynowy między zmianami we fragmentach niekodujących, zlokalizowanych przed znanymi genami, a manifestacją kliniczną, m.in. w przewlekłej chorobie ziarniniakowej (gen CYBB) i rodzinnej gorączce śródziemnomorskiej (MEFV). Zdefiniowano wiele czynników środowiskowych kształtujących manifestację IEI. W wielu jednostkach „wyzwalaczem” ujawnienia choroby jest infekcja, np. EBV w zespole limfoproliferacyjnym sprzężonym z chromosomem X (XLP) bądź pierwotne zakażenie HSV w niedoborze dla TLR3. Inny przykład to nadmierna toksyczność po radioterapii i chemioterapii pogarszająca przebieg niedoboru ligazy IV. Zmiany środowiskowe, tzw. ekspozom, są uważane za istotny element wpływający na różnice w fenotypie defektów genetycznych. W praktyce klinicznej mamy wpływ tylko na niektóre z nich, jednak czasami może to decydować o losach pacjenta. Możemy uniknąć szczepienia BCG i rozwoju uogólnionego zakażenia prątkiem przy defekcie receptora dla IL12, pod warunkiem, że podejrzenie defektu zostanie wysunięte w pierwszych dobach życia dziecka ze względu na wywiad rodzinny. Możemy zmniejszyć ryzyko letalnych infekcji meningokokowych, wzmacniając swoistą odpowiedź poprzez wykonane szczepienia u pacjentów z niedoborem składowej C2 dopełniacza. Wraz z coraz szerszym dostępem do NGS istotnie wzrasta liczba pacjentów z mozaikowością genetyczną, która również istotnie wpływa na penetrację defektów. Aktualnie szacuje się, że zjawisko to występuje nawet z częstością około 23% wśród rodzin pacjentów z IEI. Najczęściej u osób z mozaikowością obserwuje się łagodniejsze fenotypy kliniczne, ponieważ tylko część komórek somatycznych

jest dotknięta defektem. W autozapalnej kriopirynopatii mamy sytuację odwrotną i u najczęściej chorych pacjentów z manifestacją choroby już w okresie noworodkowym wykrywana jest mozaikowość. Prawdopodobnie gdyby dany defekt dotyczył 100% komórek, byłby wadą letalną dla płodu. Mutacje somatyczne tzw. *reverse mutation* mogą również spowodować naprawienie defektu genetycznego i jeśli dodatkowo dojdzie do selektywnej ekspansji naprawionych komórek, obserwujemy korzystny wpływ oraz złagodzenie manifestacji defektu genetycznego. Zjawisko to można porównać do naturalnej terapii genowej, a opi-

sane zostało m.in. w zespole WAS, XLP oraz niedoborze DOCK-8.

Jak ilustrują powyższe przykłady, istnieje wiele już poznanych i zapewne wiele jeszcze nieodkrytych czynników epigenetycznych i środowiskowych, które wpływają na penetrację komórkową i kliniczną wrodzonych zaburzeń odporności. Prawdopodobnie w niedalekiej przyszłości w praktyce klinicznej będziemy posiłkować się nie tylko samą oceną wariantów w genach, lecz także oceniać ich transkryptom, metylację DNA, niekodujące części genomu oraz inne zjawiska.

Piśmiennictwo

1. Massaad M.J., Zhou J., Tsuchimoto D. i in.: Deficiency of base excision repair enzyme NEIL3 drives increased predisposition to autoimmunity. *J Clin Invest*, 2016, 126(11): 4219–4236.
2. Rodríguez-Cortez V.C., del Pino-Molina L., Rodríguez-Ubreva J. i in.: Dissecting Epigenetic Dysregulation of Primary Antibody Deficiencies. *J Clin Immunol*, 2016, 36(S1): 48–56.
3. Lorenzini T., Dotta L., Giacomelli M. i in.: STAT mutations as program switchers: turning primary immunodeficiencies into autoimmune diseases. *J Leukoc Biol*, 2017, 101(1): 29–38.
4. Buchbinder D., Nadeau K., Nugent D.: Monozygotic Twin Pair Showing Discordant Phenotype for X-linked Thrombocytopenia and Wiskott-Aldrich Syndrome: a Role for Epigenetics? *J Clin Immunol*, 2011, 31(5): 773–777.
5. Kuehn H.S., Caminha I., Niemela J.E. i in.: FAS Haploinsufficiency Is a Common Disease Mechanism in the Human Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome. *J Immunol*, 2011, 186(10): 6035–6043.
6. Gruber C., Bogunovic D.: Incomplete penetrance in primary immunodeficiency: a skeleton in the closet. *Hum Genet*, 2020, 139(6–7): 745–757.

Wtórne niedobory odporności u dorosłych: przyczyny, diagnoza i postępowanie

prof. dr hab. n. med. Jacek Roliński*/**

*Katedra i Zakład Immunologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

**Poradnia i Oddział Immunologii COZL w Lublinie

Secondary immunodeficiencies in adults: causes, diagnosis and procedure

Abstract

Secondary immunodeficiencies (SID), also known as acquired immunodeficiencies, may be induced by onco-haematological diseases and their treatments (e.g. immunotherapy any CD20 or various immunosuppressive agents) also as results of malnutrition, aging and particular medications (e.g. disease-modifying antirheumatic drugs, immunosuppressive drugs after organ transplants, glucocorticoids). Immunodeficiency disorders are associated with or predispose patients to various complications, including infections, autoimmune disorders, and lymphomas and other cancers. Primary immunodeficiencies are genetically determined and can be hereditary. Secondary immunodeficiencies are acquired and much more common. If a specific secondary immunodeficiency disorder is suspected clinically, testing should focus on that disorder (eg. diabetes, HIV infection, cystic fibrosis, primary ciliary dyskinesia).

Niedobór odporności ujawniający się w wieku dorosłym najczęściej ma charakter wtórny (nabyty) – w skrócie WNO. Niedobór odporności, który rozpoznajemy u osoby dorosłej, może też mieć charakter pierwotny (wrodzony) – PNO. WNO może rozwinąć się w przebiegu wielu różnych chorób, często przewlekłych, takich jak np. cukrzyca, niewydolność nerek, przewlekłe zakażenia, chłoniaki, lub w wyniku działania leków, podeszłego wieku, a także wielu innych przyczyn. Wtórny niedobór odporności najczęściej jest typu mieszanego (niedobór odporności humoralnej i komórkowej) bądź tylko typu humoralnego (niedobór Ig). Wtórne niedobory odporności typu humoralnego są najczęściej związane z limfoproliferacjami B-komórkowymi i/lub terapią mającą na celu zniszczenie patologicznych komórek B, np. immunoterapia anti-CD20. Zmniejszona odporność – podobnie jak w przypadku PNO – objawia się klinicznie pod postacią częstych, przewlekłych i nawracających zakażeń lub rzadziej alergii, autoimmunizacji oraz zwiększonego ryzyka rozwoju nowotworów.

WNO są stanami klinicznymi słabo zdefiniowanymi, wśród ich przyczyn zaś najczęściej wymienia się nowo-

twory (zwłaszcza układu krwiotwórczego), przeszczepienie macierzystych komórek krwiotwórczych lub narządu łitego, przyjmowanie takich leków jak m.in. przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko limfocytom B (np. rytuksymab, belimumab) lub długotrwałe leczenie kortykosteroidami. W przypadku rytuksymabu obserwuje się głęboką deplecję limfocytów B krwi obwodowej (< niż 5 komórek/ μ l), utrzymującą się przez 6–9 miesięcy u większości pacjentów poddanych terapii anti-CD20. Rekonstrukcja liczby komórek B do poziomu sprzed leczenia następuje najczęściej dopiero po 12 miesiącach. Szczególnie obniżony jest odsetek komórek B pamięci. Wśród innych leków powodujących hipogammaglobulinemię najczęściej wymienia się: kaptopryl, karbamazepinę, fenytoinę (powoduje najczęściej niedobór IgA), sole złota, leki przeciwmalaryczne, penicylaminę, sulfasalazynę i kłonezepam. Kolejne przyczyny WNO to przewlekłe zakażenia, zwłaszcza wirusowe (np. HIV, EBV, CMV, parwowirus B19), różyczka wrodzona i inne. Wśród przyczyn WNO wymienia się również utratę immunoglobulin (np. enteropatia z utratą białka, zespół nerczycowy, ciężkie oparzenia). Do ostatniej kategorii niektórzy immunolodzy zaliczają stany związane ze

zwiększonym katabolizmem immunoglobulin, co prowadzi do obniżenia ich stężenia w surowicy krwi.

Diagnostyka wtórnych niedoborów odporności (ang. *secondary immunodeficiencies* – SID) jest w znacznej części podobna do diagnostyki PNO (ang. *primary immunodeficiency* – PID). Polega na zebraniu dokładnego wywiadu dotyczącego infekcji, chorób towarzyszących, na wykonaniu badań obrazowych, ocenie funkcji różnych narządów (zwłaszcza płuc) oraz wykonaniu badań laboratoryjnych oceniających stan układu odpornościowego. Do tych ostatnich należą: ocena morfologii krwi, stężenia IgG, IgM, IgA, IgE w surowicy oraz podklas IgG: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, ocena swoistych Ig po immunizacji i ocena subpopulacji komórek krwi obwodowej. Ważna jest również identyfikacja patogenu wywołującego zakażenie. Należy pamiętać, że diagnostyka serologiczna zakażeń w przypadku hipogammaglobulinemii może być niemiarodajna, a w takim przypadku pomocne są metody biologii molekularnej (RT-PCR). Podobnie jak w przypadku PNO u chorych z WNO wskazana jest ocena odpowiedzi na antygeny białkowe i polisacharydowe (ocena odpowiedzi na szczepienia). Z uwagi na fakt, że brak odpowiedzi na immunizację przy prawidłowym stężeniu IgG nie wyklucza substytucji Ig w przypadku nawracających ciężkich zakażeń nieodpowiadających na leczenie antybiotykami. U chorych z WNO, podobnie jak w PNO, wykonanie oceny odpowiedzi na szczepienie pozwala określić zdolność organizmu do

generowania odpowiedzi immunologicznej. Duży odsetek pacjentów z WNO wykazuje brak odpowiedzi humoralnej na immunizację lub jej osłabienie. Podatność na zakażenia pozostaje także w związku z bezwzględną liczbą limfocytów T CD4+ w mikrolitrze krwi. Jeżeli liczba limfocytów T CD4+ jest > 500, zakażenia występują bardzo rzadko, natomiast gdy liczba tych komórek wynosi < 200, występuje skłonność do zapaleń płuc wywołanych przez *Pneumocystis jirovecii*, mykobakterie niegruźlicze, *Legionella*, *Aspergillus fumigatus* oraz wirusy CMV, HSV i EBV.

Największym problemem nieleczonych WNO są nawracające ciężkie zakażenia prowadzące do obniżenia komfortu życia, a w skrajnych przypadkach – jego istotne skrócenie. Należy pamiętać, że zakażenia należą do częstych powikłań i są jedną z ważniejszych przyczyn śmiertelności u chorych na nowotwory, natomiast zapobieganie infekcjom stanowi ważny element opieki nad pacjentem onkologicznym. Ryzyko infekcji zależy od czasu trwania choroby i intensywności leczenia przeciwnowotworowego (immunosupresyjnego). Istotnym sposobem postępowania z chorymi na WNO jest profilaktyka zakażeń w następujących postaciach:

- szczepienia ochronne,
- profilaktyczne stosowanie antybiotyków i/lub leków przeciwwirusowych/przeciwgrzybiczych,
- dożylna lub podskórna substytucja immunoglobulin w przypadku, gdy dwa pierwsze sposoby zapobiegania zakażeniom są nieskuteczne.

Piśmiennictwo

1. Agostini C., Blau I.W., Kimby E. i in.: Prophylactic Immunoglobulin Therapy in Secondary Immune Deficiency – An Expert Opinion. *Expert Rev Clin Immunol*, 2016, 12: 921–926.
2. Jolles S., Chapel H., Litzman J.: When to Initiate Immunoglobulin Replacement Therapy (IGRT) in Antibody Deficiency: A Practical Approach. *Clin Exp Immunol*, 2017, 188: 333–341.
3. Friman V., Winqvist O., Blimark C. i in.: Secondary Immunodeficiency in Lymphoproliferative Malignancies. *Hematol Oncol*, 2016, 34: 121–132.
4. Stroopinsky D., Katz T., Rowe J.M. i in.: Rituximab-induced Direct Inhibition of T-cell Activation. *Cancer Immunol Immunother*, 2012, 61: 1233–1241.
5. Corre E., Carmagnat M., Busson M. i in.: Long-term Immune Deficiency After Allogeneic Stem Cell Transplantation: B-cell Deficiency Is Associated With Late Infections. *Haematologica*, 2010, 95: 1025–1029.
6. Seppänen M.: Immunoglobulin G Treatment of Secondary Immunodeficiencies in the Era of Novel Therapies. *Clin Exp Immunol*, 2014;178(Suppl 1):10–13.
7. Mims M.P.: Lymphocytosis, lymphocytopenia, hypergammaglobulinemia and hypogammaglobulinemia. in: *Hematology: Basic Principles and Practice*. Seventh Edition. 2018, by Elsevier Inc.
8. Srivastava S., Wood Ph.: Secondary Antibody Deficiency – Causes and Approach to Diagnosis. *Clin Med (Lond)*, 2016, 16: 571–576.
9. Compagno N., Malipiero G., Cinetto F. i in.: Immunoglobulin replacement therapy in secondary hypogammaglobulinemia. *Front Immunol*, 2014, 5: 626.

Standardized high-dimensional immune monitoring of COVID-19 patients with mass cytometry

Wystandaryzowane,
wielowymiarowe monitorowanie
układu immunologicznego u pacjentów
z COVID-19 z użyciem cytometrii
masowej

Roberto Spada, PhD

Senior Business Development Manager FLUIDIGM

Abstract

This presentation is about technology CyTOF® that enables comprehensive characterization of immune system cell populations and their functional properties by seamless creation of > 40 plus marker panels. Different research groups world-wide are using CyTOF technology to tackle the COVID-19 pandemic by rapidly assessing drug mechanisms of action and identifying novel biomarkers for patient stratification. The author also presents how to implement and standardize multi-center trials by using the Maxpar® Direct™ Immune Profiling System, a ready-to-use, dried-down assay that can detect >37 immune populations on whole blood and PBMC samples.

Prezentacja dotyczy technologii CyTOF®, która umożliwia kompleksową charakterystykę populacji komórek układu odpornościowego i ich właściwości funkcjonalnych poprzez łatwe tworzenie ponad 40 markerowych paneli. Różne grupy badawcze wykorzystują technologię CyTOF do walki z pandemią COVID-19, szybko oceniając mechanizmy

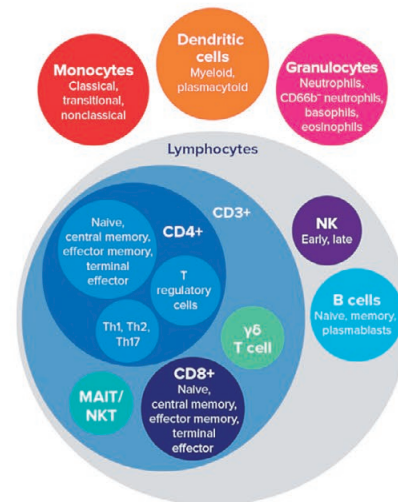
działania leków oraz identyfikując nowe biomarkery do stratyfikacji pacjentów. Autor przedstawia też sposób wdrażania i standaryzacji badań wielośrodkowych za pomocą Maxpar® Direct™ Immune Profiling System, gotowego do użycia, który może wykryć jednocześnie > 37 populacji komórek w próbkach krwi pełnej i PBMC.

Standard w Profilowaniu Odpowiedzi Układu Immunologicznego



Direct Immune Response Panel:

- 1 próbówka = 1 próbka
- 30 markerów
- 37 populacji
- 5 minut automatycznej analizy danych
- Brak konieczności kompensacji
- Prostota użycia
- Możliwość mrożenia

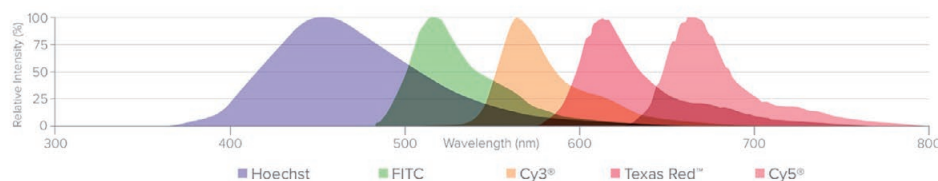


HELIOS – CYTOMETR MASOWY CyTOF:

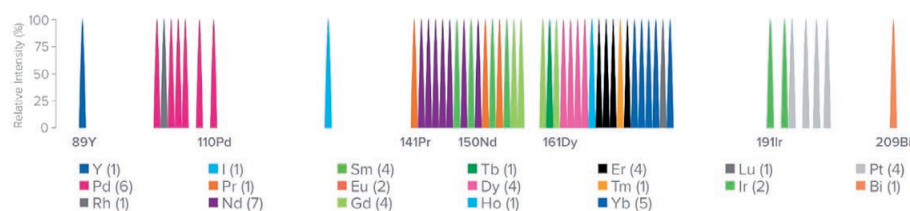
- Łatwość obsługi
- Możliwość badania ponad 50 markerów jednocześnie
- Niezwykle łatwe tworzenie własnych paneli - multipleksów
- Brak konieczności kompensacji
- Brak nakładania widm
- Bardzo trwałe odczytniki
- Ponad 1000 publikacji
- Ponad 80 badań klinicznych

A NEW STANDARD FOR HIGH-MULTIPLEX PROTEIN DETECTION

A. Fluorescence signal overlap



B. CyTOF technology results in separate and distinct peaks.



Mechanizmy starzenia się układu odpornościowego a **COVID-19** i choroby wieku podeszłego

prof. dr hab. n. med. Jacek M. Witkowski

Katedra i Zakład Fizjopatologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

Mechanisms of human immune system aging in relation to COVID-19 and other age-related diseases

Abstract

Epidemiological data inform us that COVID-19 is more severe and more deadly for old people. One of manifestations of this severity is the cytokine storm, indicating for high activity of the innate immune system. On the other hand, aging of the immune system is generally considered to diminish its protective capacities. A key to this apparent paradox is the coexistence in an old organism of two processes: immunosenescence (which decreases the protective functions of adaptive immunity) and inflammaging (which, in turn, increases the readiness of the innate immunity and elevates its activation state). Together these two processes are responsible for increased prevalence and severity of chronic (mostly inflammatory) diseases including atherosclerosis, IHD, CKD, Alzheimer disease and COVID-19.

COVID-19 a wiek

Wywołana przez koronawirus SARS-CoV-2 choroba nazwana COVID-19 zaistniała w ludzkiej patologii nie wcześniej niż w listopadzie 2019 r., czyli – w momencie pisanego tego tekstu – zaledwie około ośmiu miesięcy temu. Wprawdzie w XXI wieku nasz gatunek dwukrotnie zetknął się z epidemiami wywołanymi przez koronawirusy: SARS w latach 2002/2003 i MERS w roku 2012, jednak epidemie te, mimo niesionego przez nie ryzyka ostrej niedomogi oddechowej, a nawet związanej z nią śmierci, były zasadniczo „lokalne” – pierwsza z nich dotyczyła głównie kontynentalnych Chin, a druga Bliskiego Wschodu. Natomiast COVID-19 ma charakter pandemii – na dzień pisania tego tekstu (6 lipca 2020) liczba zdiagnozowanych chorych wynosiła 11 625 800, a liczba zmarłych w wyniku tej choroby to 538 132 osoby. Chorzy na COVID-19 są na wszystkich kontynentach z wyjątkiem Antarktydy. Dla zainteresowanych: aktualne światowe statystyki COVID-19 znajdują się na stronie [\[ometers.info/coronavirus/\]\(https://ometers.info/coronavirus/\). Już w pierwszych miesiącach rozwoju pandemii zajmujący się nią lekarze i epidemiolodzy stwierdzili bardzo ścisły związek częstości występowania i ciężkości choroby z wiekiem pacjentów. Nie oznacza to, że chorują tylko osoby w podeszłym wieku – wg nowych raportów WHO wiek osób, które objawowo przeszły COVID-19, wynosi od 2 do nawet ponad 100 lat, a mediana wieku chorych to 45 lat. Główna różnica dotyczy odsetka śmiertelnego przebiegu choroby w różnych grupach wiekowych: według bardzo dobrze rozpracowanych epidemiologicznie danych z Nowego Jorku, o ile wśród dzieci w wieku 0–17 lat śmiertelność \(wśród osób z potwierdzoną infekcją\) wynosiła 0,06%, o tyle w grupie osób w wieku 18–44 lat było to 3,9%, w wieku 45–74 lat – już od 22,4% do 24,9%, natomiast u osób powyżej 75. roku życia – aż 48,7% wszystkich zainfekowanych. Te i inne dane potwierdzające zależność ciężkości i śmiertelności choroby od wieku, a pochodzące z wielu państw, doprowadziły do uznania tzw. zespołu podatności na COVID-19 \(ang. COVID-19 *vulnerability syndrome*\) za chorobę zależną](https://www.world-</p></div><div data-bbox=)

od wieku i dołączenia go do chorób w tak oczywisty sposób związanych z wiekiem, jak POChP, otępienie, nowotwory złośliwe, choroba niedokrwienna serca, nadciśnienie tętnicze, otyłość i cukrzyca (typu 2), których obecność w organizmie, jak wiemy, nasila objawy COVID-19 [1].

Warto jednak zaznaczyć, że umieralność w wyniku COVID-19 nie jest najwyższa spośród innych, wspomnianych wyżej infekcji koronawirusowych i wynosi około 3% zarażonych (podczas gdy dla SARS było to 10%, a dla MERS nawet 34%).

Objawy starzenia się ludzkiego układu odpornościowego

Charakterystyczne objawy starzenia się układu odpornościowego obejmują przede wszystkim **wzrost zapadalności na choroby zakaźne, a także istotny wzrost ich ciężkości przebiegu**. To oczywiście bezpośrednio nawiązuje do COVID-19, która, jak wspomniałem powyżej, jest jednoznacznym przykładem takiego „zachowania się” w stosunku do pacjentów w różnym wieku. W tej grupie wiekowej obserwujemy także 3–5-krotnie więcej infekcji szpitalnych. Wzrost ciężkości infekcji u osób w podeszłym wieku zależy m.in. od polipatologii (współwystępowania wielu obciążających organizm chorób przewlekłych, w tym zespołu wyczerpania rezerw, inaczej zespołu kruchości – ang. *frailty syndrome*) oraz, niestety, także często obserwowanej w stosunku do tych pacjentów późniejszej i mniej agresywnej terapii. Do przyczyn wzrostu podatności na infekcje u osób w podeszłym wieku należy zaliczyć także: częste w tej grupie niedożywienie białkowe i ogólne, polipragmatyczne, współwystępowanie omówionych poniżej zjawisk immunosenescencji (komórkowego starzenia się układu odpornościowego) oraz *inflammaging*.

U osób w podeszłym wieku rejestrowana jest także większa niż w „młodszych” grupach wiekowych **częstość chorób nowotworowych** (w tym nowotworów złośliwych); należy jednak powiedzieć, że ta częstość (zapadalność) nie rośnie liniowo i w najstarszych grupach wiekowych jest niższa niż u ludzi w wieku ok. 65–75 lat. Z pewnością wiąże się to ze zjawiskami – czy lepiej: procesami – charakteryzującymi starzenie się układu odpornościowego, o których mowa w dalszej części tego tekstu. Kolejną grupą chorób bezpośrednio wiążących się z zaburzeniami działania układu odpornościowego są **choroby autoimmunologiczne**. Rzeczywiście w grupach osób starszych występuje więcej przypadków tych chorób, ale należy tu zwrócić uwagę na dwie

podstawowe kwestie. Po pierwsze, stosunkowo niewielki odsetek nowych przypadków chorób autoimmunizacyjnych pojawia się u osób w wieku powyżej 65. roku życia w porównaniu do młodszych grup wiekowych (poniżej 60. r.ż.). Do takich chorób należą m. in.: toczeń układowy, reumatoidalne zapalenie stawów, miastenia, stwardnienie rozsiane i choroba Hashimoto, lista ta jest jednak znacznie dłuższa. Ciekawe i dobrze udokumentowane zjawisko to „przelotna” obecność autoprzeciwciał różnych typów w surowicy osób w podeszłym wieku. Inaczej niż u osób młodszych, wykrycie takich autoprzeciwciał nie musi oznaczać choroby autoimmunologicznej (choćby pacjentów należy mimo to monitorować w kierunku jej wystąpienia albo zanikania tychże autoprzeciwciał).

Istnieje ugruntowane, zarówno wśród lekarzy, jak i samych zainteresowanych osób w podeszłym wieku, przekonanie o **zmniejszonej skuteczności szczepień** w tej grupie wiekowej. Należy tu powiedzieć o kilku sprawach. Po pierwsze, nie starzejemy się w tym samym tempie i układ odpornościowy jednej osoby w podeszłym wieku może odpowiedzieć na szczepionkę (np. przeciw grypie) na tyle dobrze, że wytworzy ona ochronne miano przeciwciał już po jednym szczepieniu, natomiast u innej osoby uzyskanie miana ochronnego nie będzie możliwe nawet po doszczepieniu. Czy takie osoby mają szansę (jednak) na uzyskanie wystarczającej odporności przeciw różnym patogenom, czy też ochronić je może jedynie znaczna odporność populacyjna? To pytanie jest oczywiście bardzo ważne także w kontekście COVID-19, dla której nie ma jeszcze na rynku szczepionki (szczepionek) i najbardziej optymistyczne opinie mówią o ich pojawieniu się w roku 2021 lub później. Okazuje się, że przynajmniej wobec niektórych patogenów, takich jak np. herpeswirus półpaśca lub pneumokoki, udało się opracować zarówno optymalizowane ze względu na wiek protokoły szczepień, jak i szczepionki o składzie dostosowanym do „potrzeb” starzejącego się układu odpornościowego poprzez zmianę ilości/stężenia antygenów w dawce szczepionki, a także przez zastosowanie innych niż w standardowych szczepionkach adjuwantów.

Kolejnym „objawem” starzenia się układu odpornościowego jest **nasilenie (i większa częstość) przewlekłych chorób zapalnych**, do których należy zaliczyć przynajmniej niektóre **choroby neurodegeneracyjne** prowadzące do otępienia – najważniejszym przykładem jest tu choroba Alzheimera. W przypadku tej choroby warto zasygnalizować, że istnieje coraz więcej dowodów na udział w jej patogenezie uprzednich częstych (lub nawracających) infekcji

ośrodkowego układu nerwowego, a także tych występujących poza OUN.

Mechanizmy starzenia się ludzkiego układu odpornościowego

Na początek trzeba się krótko zastanowić, co jest potrzebne, aby układ odpornościowy działał optymalnie, czyli był w stanie szybko zidentyfikować patogen zewnętrzny (wirus, bakterię bądź patogenny grzyb) lub wewnętrzny (własne komórki transformowane nowotworowo), a następnie go zneutralizować, zanim dojdzie do nieodwracalnych zaburzeń działania organizmu. I tak po pierwsze, komórki odpornościowe muszą być wyposażone w odpowiednie (charakterystyczne dla danego typu komórek) **receptory dla epitopów (fragmentów) antygenów** o odpowiedniej swoistości, powinowactwie do antygeny itp. – te są typowe dla limfocytów T (TCR) i B (BCR), a także dla tzw. wzorców molekularnych charakteryzujących już nie poszczególne antygeny, lecz wręcz grupy patogenów (przykładem mogą tu być bakteryjne pirogeny – lipopolisacharydy i wiążące je receptory TLR-4). W trakcie starzenia się dochodzi do różnorodnych **zaburzeń ilościowych i jakościowych dotyczących tych receptorów**, m.in. do charakterystycznej **redukcji repertuaru** receptorów TCR (i w mniejszym stopniu BCR), co powoduje, że starsi ludzie (a raczej ich układ odpornościowy) nie potrafi już rozpoznać niektórych (z wiekiem coraz liczniejszych) antygenów. Samo rozpoznanie jednak nie wystarcza; aby komórka odpornościowa zareagowała na antygen czy wzorzec, sygnał powstający w momencie połączenia receptora z ligandem pochodzącym z patogenu musi ulec wzmocnieniu i przekazaniu do mechanizmów wykonawczych w komórce (głównie poprzez proces transdukcji sygnału do jądra komórkowego, gdzie zachodzi aktywacja genów, których produkty są potrzebne aktywnej komórce odpornościowej – a raczej całemu ich klonowi – do efektywnej neutralizacji przeciwnika). W proces transdukcji sygnałów w komórkach odpornościowych zaangażowane są literalnie setki (jeśli nie więcej) różnych białek wewnątrzkomórkowych; wykazano, że proces transdukcji sygnałów w komórkach odpornościowych starych ludzi jest zaburzony poprzez zmiany ilościowe i jakościowe dotyczące wspomnianych białek. Może to powodować, że pewnych produktów białkowych w „starej” komórce odpornościowej będzie za mało, a innych może być zbyt dużo, czego skutkiem jest zaburzenie równowagi procesów odpornościowych w starym organizmie.

Odpowiedź komórek odpornościowych na kontakt

z patogenem jest zróżnicowana. W przypadku limfocytów po pierwsze muszą one bardzo szybko **namnożyć się (proliferować)**, aby ich suma wytworzyła wystarczającą do neutralizacji patogenu liczbę komórek cytotoksycznych (niszczących komórki nowotworowe lub zainfekowane przez wirusy) bądź miano przeciwciał. Maszyna komórkowa niezbędna do naprawy i replikacji DNA, poprzedzającej podziały komórek, jak też ta już bezpośrednio zaangażowana w procesy podziału (mitozy), zostaje zaburzona w trakcie starzenia. W konsekwencji mniejszy odsetek limfocytów, które mogłyby się podzielić w odpowiedzi na kontakt z antygenem, „robi” to i cały proces „startuje” znacznie później niż w przypadku limfocytów ludzi młodych, a powstające komórki efektorowe „chętniej” ulegają procesowi programowanej śmierci komórek – apoptozie – zamiast zajmować się obroną organizmu. Kolejna sprawa to **zdolność komórek efektorowych do wypełnienia swoich obowiązków poprzez produkcję określonych ilości np. przeciwciał, cytokin** (białek kontrolujących interakcje różnych typów komórek odpornościowych, w tym produkcję przeciwciał i reakcje zapalne) oraz białek biorących bezpośredni udział w reakcjach cytotoksycznych. Wszystkie ww. białka są wydzielane przez komórki osób w podeszłym wieku w stężeniach innych niż u ludzi młodych; przeciwciał (immunoglobulin) jest generalnie mniej, podobnie jak białek uczestniczących w zabijaniu zarażonych bądź nowotworowo zmienionych komórek własnych, natomiast cytokin prozapalnych jest u tych osób więcej (patrz niżej, rozdział dotyczący *inflammaging*). Kolejny problem stanowi **wielkość „niszy ekologicznej”, w której toczą się procesy odpornościowe**. Wprawdzie wielkość narządów odpornościowych (z wyjątkiem grasicy) nie ulega zmniejszeniu w trakcie starzenia się (nawet mogą się one powiększać), jednak są one wypełnione przez komórki o niskiej efektywności, a nawet całkowicie wyłączone z odpowiedzi immunologicznej (senescentne). W konsekwencji pozostaje mniej „przestrzeni życiowej” dla komórek, które powinny się szybko namnażać. Dodatkowym problemem jest gromadzenie komórek pamięci immunologicznej kosztem tych, które mogłyby odpowiedzieć na „nowe” antygeny (np. antygeny koronawirusa SARS-CoV-2 lub tzw. neoantygeny nowotworowe).

Fenotypy i funkcje [2]

Jeśli chodzi o **granulocyty, w szczególności neutrofile** będące pierwszą linią obrony przed bakteriami, to badania ich właściwości u ludzi w podeszłym wieku wskazują, że

ich liczba, liczba i proporcje receptorów TLR, a także molekuł adhezyjnych (umożliwiających im m.in. wydostanie się z kapilar do miejsca infekcji) są zachowane. Z drugiej strony, obniżeniu ulega odpowiedź chemotaktyczna (zdolność do kierunkowego poruszania się w stronę miejsca infekcji), zdolność do fagocytozy (pochłaniania patogenu), a także zdolność do jego zabijania – obniża się produkcja reaktywnych form tlenu i niektórych białek bakterio-bójczych oraz innych cząsteczek o podobnym działaniu. Zależy to w pewnej mierze (przez analogię do zaburzeń w efektorowych limfocytach) od zaburzeń transdukcji sygnałów od receptorów do jądra komórkowego oraz od zaburzonej rekrutacji cząsteczek sygnalizacyjnych do błonowych „tratewek” – obszarów błon komórkowych bogatych w cholesterol i skupiających większość receptorów potrzebnych komórkom odpornościowym do działania. W przypadku neutrofilów obniżona jest również zdolność do apoptozy, co powoduje gromadzenie się komórek o wielo-, nawet siedmiopłatowych jądrach komórkowych i obniżonej efektywności. Podobnie u osób w podeszłym wieku obniża się zdolność do fagocytozy i chemotaksji prezentowana przez **monocyty/makrofagi**. Zmniejsza się ekspresja receptorów TLR i w konsekwencji transdukcja sygnałów wewnątrz komórek, a także obniża się ich zdolność do apoptozy. Zmniejszeniu ulega też ekspresja receptorów MHC/HLA klasy II, co może skutkować zmniejszeniem efektywności prezentacji antygenów limfocytom T CD4+. Ponadto obniżeniu ulega sekrecja wielu cytokin w odpowiedzi na aktywację (ale nie spontaniczną – patrz niżej rozdział nt. *inflammaging*). Wreszcie, główne komórki prezentujące antygeny limfocytom, czyli komórki dendrytyczne (DC), z wiekiem tracą częściowo zdolność do prezentacji antygenów, obniża się ich zdolność do chemotaksji i endocytozy, sygnalizacja poprzez receptory TLR, a także produkcja niektórych cytokin (np. interferonów). Wśród komórek naturalnie cytotoksycznych (NK) z wiekiem zachodzi przesunięcie składu populacji w kierunku wzrostu proporcji fenotypu CD16++CD56dimCD57+ o obniżonej w stosunku do innych typów tych komórek wydajności cytotoksycznej. Ten proces może skutkować zmniejszonym rozpoznaniem i niszczeniem przez te komórki NK komórek zainfekowanych przez SARS-CoV-2, a w konsekwencji gwałtowniejszym rozprzestrzenianiem się wirusa i nasileniem objawów infekcji.

Jak wspomniano wyżej, jednym z powodów zmian w działaniu **adaptatywnej (nabytej, zależnej od limfocytów) odporności** u osób w podeszłym wieku jest gromadzenie

się komórek pamięci immunologicznej o skróconym fenotypie CD4/8+CD45R0+RA- kosztem komórek naiwnych o fenotypie CD4/8+CD45R0-RA+. W założeniu skutkiem ich gromadzenia się powinna być lepsza odpowiedź wobec wielokrotnie spotykanych („znanych”) antygenów, kosztem nowych antygenów (jak SARS-CoV-2). Abstrahując od tego, że same komórki pamięci mogą ulegać komórkowemu starzeniu się, co obniża odpowiedź także w stosunku do znanych antygenów, ich gromadzeniu towarzyszy zmniejszone wytwarzanie nowych naiwnych limfocytów T (poprzez zmniejszenie dostępnej „niszy ekologicznej”, a także w związku z inwolucją grasicy). Skutkiem tego jest znacznie zmniejszona odpowiedź wobec nowych patogenów (a jak wspomniano wyżej, także wobec szczepionek). Na limfocytach T zmniejsza się poziom ekspresji (liczba) cząsteczek CD28 – głównego receptora kostymulującego tych komórek, dostarczającego tzw. drugiego sygnału do aktywacji, niezbędnego, aby ta aktywacja była efektywna. Konsekwencją tego zjawiska jest spowolnienie odpowiedzi na stymulację; o ile „młodemu” limfocytowi T potrzeba około doby na rozpoczęcie pierwszego cyklu mitotycznego po kontakcie z antygenem, o tyle w przypadku komórek starych ludzi może to być nawet więcej niż dwie doby, w trakcie których odpowiedź adaptacyjna nie dostarcza żadnej ochrony, a nowe komórki efektorowe wobec patogenu nie powstają. Dodatkowo w istotny sposób maleje liczba komórek zdolnych do odpowiedzi (prolifracji bądź sekrecji), gdyż narasta odsetek komórek wyczerpanych (ang. *exhausted*) i senescentnych. Dramatycznie obniża się produkcja przez komórki T ich podstawowego czynnika wzrostu, jakim jest interleukina IL-2. U osób w podeszłym wieku z każdym podziałem pobudzonych limfocytów T maleje też liczba receptorów dla IL-2 na ich powierzchni, co redukuje możliwość dalszej efektywnej proliferacji po 5–7 podziałach [3]. Również większość etapów wewnątrzkomórkowej transdukcji sygnałów między receptorami dla antygenów a jądrem komórkowym jest zaburzona (w tym procesy fosforylacji/defosforylacji białek, przepływy Ca²⁺ oraz innych niezbędnych jonów przez błony komórkowe).

Co jest przyczyną tych zmian? Wyczerpanie immunologiczne (*immune exhaustion*) to w dużej mierze konsekwencja przewlekłej, nawracającej stymulacji antygenowej, a dotyczy zarówno komórek naiwnych, jak i pamięci immunologicznej. Ta sama przewlekła stymulacja, w skali całego życia określana czasami jako **immunobiografia**, kryje się za senescencją limfocytów, czyli utratą zdolności do podziałów komórkowych. Wykazano, że komórki danego

klonu limfocytów (odpowiadające na ten sam epitop antygenowy) mogą się maksymalnie podzielić do 150–170 razy, po czym tracą tę zdolność, a dany klon przestaje być efektywnym elementem ochrony przeciwko danemu patogenowi. Wśród patogenów przewlekłe stymulujących nasz układ odpornościowy należy wymienić przede wszystkim wirusy: CMV (przez niektórych immunogerontologów uważany za główną przyczynę redukcji odporności u starych osób), herpeswirusy (w tym *V. zoster*) i wirus EBV. Kolejną grupę takich przewlekłych stymulatorów stanowią neoantygeny nowotworowe, beta-amyloid (prawdopodobnie powstający w mózgu w odpowiedzi na infekcje) bądź oksydowane LDL. Istotne są także patogeny bakteryjne (*H. pylori*, *P. gingivalis*) oraz szeroko pojęte zmiany w składzie i proporcjach elementów mikrobiomu jelitowego, prowadzące do dysbiozy. Skutkiem tych stymulacji może być gromadzenie dysfunkcyjnych limfocytów T (zwłaszcza klasy CD8+ odpowiedzialnej za cytotoksyczność, co może redukować odpowiedź przeciwwirusową). Towarzyszący wzrost podatności na apoptozę wśród „starych” limfocytów CD4+ może prowadzić do inwersji stosunku CD4 do CD8 (normalnie około 2); gdy obniży się on poniżej 1, a towarzyszyć mu będzie obniżenie zdolności limfocytów do podziałów komórkowych, znaczna utrata powierzchniowego CD28, redukcja liczby limfocytów B i serododatniość wobec CMV, mówimy o tzw. fenotypie immunologicznego ryzyka (ang. *immune risk phenotype* – IRP), który może (choć wg. części immunogerontologów nie musi) odpowiadać za upośledzoną odporność adaptacyjną u części starych ludzi.

Brak nowych naiwnych limfocytów T wynika z zaniku (inwolucji) grasicy i niedostatecznej odbudowy tych komórek na obwodzie (tzw. homeostatycznej) zależnej od jeszcze produkowanych nawet u osób w wieku 65+ czynników grasiczych.

Kolejnym zjawiskiem towarzyszącym starzeniu się limfocytów jest gromadzenie się wśród nich komórek regulatorowych, zwłaszcza indukowanych przez stymulację regulatorowych limfocytów T (iTreg), co wykazano na początku obecnego stulecia [4–6]. Mogą one nadmiernie hamować reakcje odpornościowe u osób w podeszłym wieku.

Zjawiska immunosenescencji i *inflammaging*

Immunosenescencję, czyli w wolnym tłumaczeniu na język polski stan starości komórek układu odpornościowego, można zdefiniować jako utratę funkcji odpornościowych

(w tym proliferacji, sekrecji cytokin wzrostowych i przeciwciał) dotyczącą głównie limfocytów T, B i NK, a także komórek dendrytycznych. Gromadzenie się komórek immunosenescentnych **prowadzi w prosty sposób do obniżenia odpowiedzi adaptacyjnej wobec patogenów** (w tym SARS-CoV-2), zarówno komórkowej (cytotoksyczność, cytokiny), jak też humoralnej (przeciwciała neutralizujące patogen i stymulujące reakcję cytotoksyczną wobec zainfekowanych komórek). Jak powiedziano powyżej, zjawisko to jest spowodowane głównie immunobiografią (oczywiście nałożoną na tło genetyczne, epigenetyczne i środowiskowe konkretnej osoby – w tym elementy dotyczące diety i zanieczyszczeń).

Z kolei ***inflammaging*** to stan podwyższonej gotowości (starszego) organizmu do odpowiedzi zapalnej, manifestujący się podwyższeniem stężeń w surowicy cytokin prozapalnych (IL-6, IL-1, TNF-alfa i in.) do górnych wartości normy, a nawet je przekraczające, jednak bez towarzyszących objawów klinicznych procesu zapalnego. Źródłem tej nadprodukcji cytokin prozapalnych są spoczynkowe monocyty/makrofagi, a także – a być może w głównej mierze – wszystkie senescentne (niedzielące się i niepełniące właściwej dla tkanki funkcji) komórki gromadzące się w starym organizmie, niezależnie od ich pochodzenia (a więc nie tylko komórki odpornościowe). Jedną z cech tych komórek jest tzw. **SASP** – ***senescence-associated secretory phenotype*** (fenotyp sekrecyjny, związany z uzyskaniem stanu senescencji), który polega właśnie na sekrecji cytokin prozapalnych. Zjawisko *inflammaging* powoduje przesunięcie u starych osób równowagi w układzie odpornościowym w kierunku dominacji odporności wrodzonej. Powstaje pytanie, czy to dobrze, czy źle dla starzejącego się organizmu?

Odpowiedź nie jest jednoznaczna. **Z jednej strony** można przyjąć, że w warunkach zmniejszania się odpowiedzi adaptacyjnej, swoistej wobec antygenów, korzystne dla ochrony przed patogenami i przeżycia może być nasilenie odpowiedzi wrodzonej, mniej selektywnie, ale jednak skutecznie pozbywającej się patogenów, w tym zwłaszcza bakterii chorobotwórczych. Z tego punktu widzenia wzrost sekrecji cytokin prozapalnych skutkujący podwyższeniem gotowości komórek odporności wrodzonej do działań obronnych można potraktować jako adaptację zwiększającą szanse starzejącego się organizmu na przeżycie infekcji. Tu warto wspomnieć, że osoby długowieczne, które zbliżają się do setnego roku życia lub go przekroczyły, w większości cechują się podwyższonymi wskaźnikami reakcji zapalnej (CRP, OB). To także może świadczyć o adaptacyjnej,

korzystnej roli *inflammaging*; z tym, że dotyczy to osób zasadniczo zdrowych, wolnych od chorób przewlekłych. **Z drugiej bowiem strony** immunologiczna odpowiedź wrodzona to odpowiedź zapalna. Dopóki „dzieje się” ona niejako w tle, czyli jej objawy nie są nasilone, organizm nie zauważa ich lub toleruje. Jednak gdy zostaje przekroczony pewien próg nasilenia (w związku z równoczesną aktywacją milionów komórek zapalnych i produkcją dużych ilości cytokin prozapalnych) w organizmie pojawiają się bądź lokalne (ograniczone do narządu lub jego części), bądź uogólnione cechy choroby zapalnej. Warto tu zauważyć, że praktycznie wszystkie choroby wieku podeszłego to choroby jednoznacznie przewlekłe zapalne (miażdżyca i jej powikłania sercowo-naczyniowe i inne, przewlekła choroba nerek, cukrzyca typu 2) albo przynajmniej mające wyraźną komponentę zapalną (nowotwory złośliwe, zespół metaboliczny, zespół wyczerpania rezerw, a także choroby otępienne – w tym zwłaszcza choroba Alzheimera). U osób, u których rozwiną się początki którejkolwiek z tych chorób, można wyobrazić sobie pewnego rodzaju błędne koło: związany z chorobą proces zapalny „napędza” procesy starzenia się, których częścią jest *inflammaging*, co z kolei przez wzrost stężeń cytokin prozapalnych „dolewa oliwy do ognia”, czyli napędza rozwój choroby zapalnej i powoduje jej trwanie (przewlekłość).

Podsumowując, dopóki immunosenescencja i *inflammaging* nie są zbyt nasilone i zachodzą równocześnie w zasadniczo zdrowym starzejącym się organizmie, korzyści z istnienia *inflammaging* przeważają nad niekorzystnym efektem starzenia się układu odpornościowego, a organizm może nawet osiągnąć długowieczność. Jeśli *inflammaging* jest zbyt nasilony (m.in. przez współistniejącą chorobę/choroby zapalne) zaczyna się „dodatnie sprzężenie zwrotne” nasilające przebieg tych chorób i skracające życie [7–11].

Konsekwencje – COVID-19 [12]

Układ odpornościowy reaguje na SARS-CoV-2 tak, jak na każdy inny patogen wirusowy, z którym styka się po raz pierwszy w życiu. W kontakcie z białkami wirusa uruchamiają się obydwie – wrodzona i nabyta (adaptacyjna) – gałęzie tego układu. Aktywacji ulegają wszystkie populacje limfocytów. Jednym z dowodów na powyższe może być obserwowana u chorych limfopenia – gdy szybka aktywacja limfo-

cytów i ich migracja do narządów odpornościowych i tkanek nie jest skompensowana przez zwiększenie ich produkcji w szpiku i dojrzewanie (tym można wytłumaczyć przedłużoną limfopenię u osób w podeszłym wieku, u których efektywność działania szpiku kostnego – hematopoezy – ulega zmniejszeniu). Limfopenia (a także mniejsza skuteczność działania pozostających limfocytów – immunosenescencja) może u osób starych niestety prowadzić poprzez mniejszą produkcję swoistych przeciwciał i mniejszą efektywność niszczenia zainfekowanych komórek do wzrostu „ładunku” (liczby kopii) wirusa w organizmie, a to z kolei – do rozszerzenia się powodowanych przezeń uszkodzeń w płucach i poza nimi, narastania stanu zapalnego i wzrostu ciężkości choroby. Tu powstaje pytanie: czy zetknięcie z SARS-CoV-2 prowadzi do wytworzenia trwałej odporności humoralnej i/lub komórkowej? Co do tej ostatniej praktycznie nie ma jeszcze opublikowanych danych świadczących o jej istnieniu bądź nie (prawdopodobnie z racji zaledwie półrocznej „koegzystencji” człowieka z wirusem). Jeśli natomiast chodzi o przeciwciała, to wiemy, że je wytwarzamy, zarówno klasy IgM, IgG, jak też IgA, i można je wykryć w surowicy, a także prześledzić ich narastanie począwszy od 5.–6. dnia od infekcji. Nie wiadomo natomiast, jak silny efekt ochronny one wykazują ani jak długo utrzymują się w organizmie po eliminacji wirusa. Niestety, niektóre zgromadzone dane wskazują, że miano zarówno IgM, jak też – co gorsza – IgG zaczyna się obniżać już po paru tygodniach lub kilku miesiącach od przechorowania, co świadczyłoby, że nie wytwarzamy stałej odporności poinfekcyjnej. Z kolei gałąź wrodzona (neutrofile, makrofagi, NK i in.) odpowiada zgodnie ze swoim programem, czyli rozpoznając, fagocytyując i produkując narastające ilości cytokin prozapalnych mających wspomóc obronę. To działanie, nakładające się na istniejący w starzejącym się czy starym organizmie stan *inflammaging* i nasilone przez obniżoną u tych osób skuteczność obrony swoistej, może doprowadzić do burzy cytokinowej (ang. *cytokine storm*). Ta szybka i masywna reakcja wrodzonej odporności nasila z kolei zarówno sam proces zapalny (błędne koło), jak i związane z nim uszkodzenie narządów (nie tylko tych zainfekowanych przez SARS-CoV-2), podnosi krzepliwość krwi, co może prowadzić do zatorów (np. w mózgu, ze skutkiem w postaci udaru) obserwowanych u części osób poważnie chorych na COVID-19 i w konsekwencji – do śmierci chorego.

Piśmiennictwo

1. Blagosklonny M.V.: From Causes of Aging to Death From COVID-19. *Aging* (Albany NY), 2020, 12(11): 10004–10021.
2. Solana R., Tarazona R., Gayoso I. i in.: Innate Immunosenescence: Effect of Aging on Cells and Receptors of the Innate Immune System in Humans. *Semin Immunol*, 2012, 24(5): 331–341.
3. Witkowski J.M., Bryl E.: Paradoxical Age-Related Cell Cycle Quickening of Human CD4(+) Lymphocytes: A Role for Cyclin D1 and Calpain. *Exp Gerontol*, 2004, 39(4): 577–585. doi: 10.1016/j.exger.2003.10.028.
4. Bryl E., Gazda M., Foerster J. i in.: Age-related Increase of Frequency of a New, Phenotypically Distinct Subpopulation of Human Peripheral Blood T Cells Expressing Lowered Levels of CD4. *Blood*, 2004, 98: 1100–1107.
5. Bryl E., Witkowski J.M.: Decreased Proliferative Capability of CD4(+) Cells of Elderly People Is Associated With Faster Loss of Activation-Related Antigens and Accumulation of Regulatory T Cells. *Exp Gerontol*, 2004, 39(4): 587–595.
6. Bryl E., Daca A., Jóźwik A. i in.: Human CD4^{low} CD25^{high} Regulatory T Cells Indiscriminately Kill Autologous Activated T Cells. *Immunology*, 2009, 128(1 Suppl): e287–e295.
7. Witkowski J.M., Bryl E., Fülöp T.: Should We Try to Alleviate Immunosenescence and Inflammaging - Why, How and to What Extent? *Curr Pharm Des*, 2019, 25(39): 4154–4162.
8. Fülöp T., Larbi A., Witkowski J.M.: Human Inflammaging. *Gerontology*, 2019, 65(5): 495–504.
9. Fülöp T., Witkowski J.M., Olivieri F. i in.: The Integration of Inflammaging in Age-Related Diseases. *Semin Immunol*, 2018, 40: 17–35.
10. Fülöp T., Larbi A., Khalil A. i in.: Are We Ill Because We Age? *Front Physiol*, 2019, 10: 1508.
11. Fülöp T., Munawara U., Larbi A. i in.: Targeting Infectious Agents as a Therapeutic Strategy in Alzheimer's Disease. *CNS Drugs*, 2020, 34(7): 673–695.
12. Vabret N., Britton G.J., Gruber C. i in.: Immunology of COVID-19: Current State of the Science. *Immunity*, 2020, 52(6): 910–941.

Szczepienia w niedoborach odporności

dr hab. n. med. Bożena Mikołuc

Klinika Pediatrii, Reumatologii, Immunologii i Chorób Metabolicznych Kości,
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Vaccination in immunodeficiencies

Abstract

When considering immunization in a patient with an immunodeficiency, the safety and efficacy of each vaccine, the epidemiological situation and the cocoon vaccination strategy should be taken into account. The safety and effectiveness of vaccination in immune disorders depends mainly on the type of immunodeficiency, i.e. congenital or acquired, methods and duration of treatment. Indications for vaccination of immunocompromised individuals should be considered individually in relation to a particular vaccine based on available vaccination standards.

Rozważając immunizację u pacjenta z niedoborem odporności, należy uwzględnić bezpieczeństwo i skuteczność każdej szczepionki, sytuację epidemiologiczną oraz strategię kokonu (szczepienie osób pozostających w bliskim kontakcie z osobą chorą).

Bezpieczeństwo i skuteczność szczepień u osób z obniżoną odpornością zależy od przyczyn i stopnia zaburzeń immunologicznych. Jest to grupa heterogenna, jeśli chodzi o możliwości realizacji szczepień – zależnie od typu niedoboru odporności (wrodzone lub nabyte zaburzenia immunologiczne). Zgodnie z klasyfikacją fenotypową Inborn Errors of Immunity (IEI) opracowaną w 2019 r., a opublikowaną w 2020 r., wyróżniamy 10 grup wrodzonych niedoborów odporności [1].

Nabyte niedobory odporności najczęściej są następstwem chorób onkohematologicznych (np. białaczki, chłoniaki, szpiczak plazmocytowy), niedożywienia (niedobory kaloryczno-białkowe, zespół złego wchłaniania), zakażeń (HIV, wirusowe zakażenia okołoporodowe, głównie CMV, EBV, *Toxoplasma gondii*), stosowanych leków (kortykosteroidy, sole złota, fenytoina, sulfasalazyna, leki immunosupresyjne, biologiczne) oraz chorób układowych prowadzących do utraty białek (enteropatia, zespół nerczowy).

Wskazania do szczepień osób z obniżoną odpornością powinny być rozważane indywidualnie w odniesie-

niu do konkretnej szczepionki, natomiast zakres realizowanych szczepień zależy od rodzaju choroby, metod leczenia – w tym immunosupresyjnego – i czasu jego trwania. Realizacja szczepień ochronnych po przeszczepieniu komórek hematopoetycznych powinna być prowadzona według opracowanych rekomendacji, podobnie jak w przypadku pacjentów wymagających transplantacji narządów, usunięcia śledziony lub z asplenią bądź pacjentów dializowanych. Opracowane rekomendacje lub proponowane standardy szczepień dla pacjentów z niedoborami odporności uwzględniają potrzebę monitorowania skuteczności szczepień [2–5].

Szczepienia żywymi szczepionkami (szczepionka przeciwko gruźlicy, odrze, różyczce, śwince, ospie wietrznej, żółtej gorączce, polio – OPV) są przeciwwskazane w ciężkich złożonych niedoborach odporności (ang. *severe combined immunodeficiencies* – SCID) z limfopenią komórek CD3 + < 300/μl.

Również w przypadku podejrzenia wrodzonego niedoboru odporności u noworodka – w oparciu o wywiad (ciężki niedobór odporności u członka rodziny, nagłe zgony w rodzinie – szczególnie we wczesnym dzieciństwie, ciężkie zakażenia, np. sepsa, zapalenie kości, mnogie ropnie narządowe w rodzinie pacjenta) lub o skrining noworodkowy – szczepienie BCG (*Bacillus Calmette-Guerin*) przeciwko gruźlicy powinno być odroczone do czasu wykluczenia

niedoborów odporności. W przeciwnym wypadku istnieje ryzyko rozwoju rozlanego procesu gruźliczego: uogólniony BCG-itis, gruźlica prosówkowata, gruźlicze zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, gruźlica kości. Szczepienia w SCID mogą być wznowione, gdy w wyniku przeszczepienia nastąpi pełna rekonstrukcja układu odporności.

W złożonych niedoborach odporności (ang. *combined immunodeficiencies* – CID) przeważnie o łagodniejszym przebiegu niż SCID, z objawami towarzyszącymi lub układającymi się w zespoły – np. zespół Wiskotta-Aldricha (WAS), ataksja-teleangiektazja (A-T), zespół Nijmegen (NBS), zespół Blooma – „żywe” szczepionki są zwykle przeciwwskazane, choć istnieją wyjątki od tej zasady, a inaktywowane szczepionki mogą być skuteczne i w niektórych przypadkach można je podawać. Szczepienia w częściowym zespole Di George’a (większość pacjentów) są indywidualne dla każdego przypadku. Zgodnie z rekomendacjami Amerykańskiej Akademii Pediatrii u pacjentów z komórkami T CD3 + > 500/mm³, T CD8 + > 200 i prawidłową odpowiedzią proliferacyjną na mitogeny, można rozważyć szczepienie przeciwko odrze-świnie-różyczce (MMR) i ospie wietrznej [6].

W realizacji szczepień u pacjentów z niedoborami odporności humoralnej, niedoborami dopełniacza lub zaburzeniami funkcji granulocytów należy zwrócić szczególną uwagę na profilaktykę zakażeń bakteriami otoczkowymi (tabela 1). Decyzję o szczepieniach podejmuje lekarz specjalista immunolog, transplantolog lub lekarz mający doświadczenie w leczeniu pacjentów z niedoborami odporności [2,7].

Uważa się, że profil bezpieczeństwa szczepionek inaktywowanych na ogół nie różni się od profilu obserwowanego u osób immunokompetentnych, jednak ich skuteczność może nie być zadowalająca.

Realizacja szczepień ochronnych powinna być poprzedzona oceną statusu immunologicznego każdego pacjenta w zakresie odporności komórkowej i humoralnej, a w wybranych jednostkach chorobowych – również z uwzględnieniem odporności nieswoistej. Szczepienia w pierwotnych niedoborach odporności według rekomendacji Amerykańskiego Komitetu Doradczego ds. Szczepień Ochronnych (*Advisory Committee on Immunization Practices* – ACIP) przedstawia tabela 1 [8]. Ogólne zalecenia dotyczące realizacji szczepień pacjentów z nabytymi niedoborami odporności przedstawia tabela 2.

W profilaktyce zakażeń pneumokokowych najpierw należy podać szczepionkę skoniugowaną przeciwko

Streptococcus pneumoniae (rekomendowana jest szczepionka 13-walentna), a następnie minimum dwa miesiące po podaniu szczepionki 13-walentnej – szczepionkę polisacharydową 23-walentną, która może być stosowana od 2. roku życia. W wybranych jednostkach chorobowych wskazana jest rewakcynacja.

Zgodnie z rekomendacjami ACIP, kobieta w ciąży z ryzykiem urodzenia dziecka z niedoborem odporności powinna otrzymać szczepienie przeciwko *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* i *Haemophilus influenzae* w celu wytworzenia ochronnych matczynych przeciwciał IgG, które zapewnią ochronę dziecku w pierwszych miesiącach po urodzeniu [9].

Profilaktyka zakażeń meningokokowych przeciwko *Neisseria meningitidis* serotyp B jest możliwa już od 8. tygodnia życia dziecka, podobnie jak szczepionka zawierająca serotyp C również zarejestrowana od 2. miesiąca życia.

Dla osób zamierzających podróżować do krajów endemicznych istnieje możliwość czynnego uodpornienia dzieci, młodzieży i dorosłych narażonych na kontakt z *Neisseria meningitidis* z grup serologicznych A, C, W135 oraz Y w celu zapobiegania chorobie inwazyjnej.

Do szczepionek rekomendowanych dla pacjentów z niedoborami odporności należy także inaktywowana szczepionka przeciwko grypie, która powinna być podawana co roku wszystkim pacjentom, którzy są w stanie odpowiedzieć na szczepienie. Aby uzyskać ochronne stężenie przeciwciał, niektórym osobom można podać dwie standardowe dawki w odstępie co najmniej jednego miesiąca [10].

W przypadku pacjentów z pospolitym zmiennym niedoborem odporności, pozostających na leczeniu substytucyjnym immunoglobulinami, mających częściowe bierne uodpornienie, uzyskano po szczepieniu przeciwko grypie w 70-80% odpowiedź ze strony komórek T, które mogą tworzyć wspomagający mechanizm ochronny przed grypą, nawet przy braku limfocytów B [11].

Szczepionkę przeciwko wirusowi brodawczaka ludzkiego należy rozważyć zwłaszcza u osób ze zwiększoną podatnością na zakażenie wirusem brodawczaka, tj. gdy istnieją: zespół ataksja-teleangiektazja, niedobór ligandu CD40/CD40L, CVID, niedobór DOCK8, *Epidermodysplasia verruciformis*, niedobór GATA2, idiopatyczna limfopenia CD4, niedobór adhezji leukocytów typu 1 (LAD 1), niedobór czynnika jądrowego (NF)-kappa-B (NEMO), zespół Nethertona, niedobór kinazy treoninowej seryny 4 (STK4), zespół WHIM, zespół WILD, zespół Wiskotta-Aldricha (WAS) [12].

Szczepionka rekombinowana zabezpieczająca

Tabela 1. Szczepienia w pierwotnych niedoborach odporności według zaleceń Amerykańskiego Komitetu Doradczego ds. Szczepień Ochronnych (ACIP) [8]				
Typ zaburzeń	Rodzaj defektu odporności	Przeciwwskazania do szczepień	Szczepienia rekomendowane	Efektywność szczepień
Defekt limfocytu B (defekty odporności humoralnej)	Ciężki niedobór przeciwciał (sprzężona z chromosomem X agammaglobulinemia, CVID)	Wszystkie żywe bakteryjne i wirusowe szczepionki	Preparaty gammaglobulin zapewniają ochronę. Wskazane szczepienie przeciwko grypie	Głęboki defekt uniemożliwia odpowiedź na szczepienie, jedynie szczepionka przeciwko grypie jest efektywna (stymulacja komórek T)
	Mniej ciężkie niedobory przeciwciał (niedobór IgA i niedobór podklas IgG)	Nie ma przeciwwskazań, z wyjątkiem BCG, OPV lub żółtej gorączki	Wszystkie zabite + pneumokoki, meningokoki i HiB	Wszystkie szczepionki są zwykle efektywne
Defekt limfocytu T (defekt odporności komórkowej i humoralnej)	Ciężki złożony niedobór odporności (SCID) i całkowity zespół Di George'a	Wszystkie żywe bakteryjne i wirusowe szczepionki	Wszystkie zabite + pneumokoki, meningokoki i HiB	Szczepionki są nieefektywne
	Częściowy zespół Di George'a, Zespół Wiscott-Aldricha, zespół ataksja-teleangiektazja	Wszystkie żywe bakteryjne i wirusowe szczepionki		Efektywność szczepionki zależy od stopnia upośledzenia odporności
Defekt dopełniacza	Niedobór składowych dopełniacza, defekt properdyny lub niedobór czynnika B	Nie ma przeciwwskazań	Wszystkie zabite + pneumokoki, meningokoki i HiB	Wszystkie szczepionki są efektywne
Defekty funkcji granulocytów	Przewlekła choroba ziarniniakowa, defekt przylegania leukocytów, defekt mieloperoksydazy	Żywe szczepionki bakteryjne	Wszystkie zabite + pneumokoki, meningokoki i HiB	Wszystkie szczepionki są efektywne

Tabela 2. Szczepienia w nabytych niedoborach odporności według zaleceń Amerykańskiego Komitetu Doradczego ds. Szczepień Ochronnych (ACIP)			
Jednostki chorobowe	Przeciwwskazania	Szczepienia rekomendowane	Efektywność szczepień
HIV/AIDS	Żywe szczepionki przeciwwskazane, żółta gorączka w zależności od stopnia defektu	Wszystkie zabite + pneumokoki, meningokoki i HiB	Efektywność szczepionki zależy od statusu immunologicznego
Nowotwory złośliwe, transplantacje, immunosupresja lub radioterapia	Żywe szczepionki są przeciwwskazane w trakcie leczenia	Pneumokoki	Efektywność szczepionki zależy od statusu immunologicznego
Asplenia/dysfunkcje śledziony	Nie ma przeciwwskazań	Wszystkie zabite + pneumokoki, meningokoki i HiB	Wszystkie szczepionki zwykle są efektywne
Przewlekłe choroby nerek	Żywa szczepionka przeciwko grypie	Pneumokoki, WZW typu B	Wszystkie szczepionki zwykle są efektywne

przed półpaścem jest „nieżywą” szczepionką podjednostkową, która została zatwierdzona w Stanach Zjednoczonych w 2017 r. do stosowania u dorosłych w wieku powyżej 50 lat. Szczepionka ta może zmniejszyć ryzyko zakażenia wirusem ospy wietrznej i półpaśca u pacjentów szczególnie podatnych na ciężkie zakażenia. Dostępne są jednak ograniczone dane dotyczące bezpieczeństwa

i skuteczności rekombinowanej szczepionki przeciw półpaścowi u osób z obniżoną odpornością.

Szczepienie osób z najbliższego otoczenia chorych z niedoborami odporności powinno odbywać się zgodnie z obowiązującymi rekomendacjami, ze szczególnym uwzględnieniem zasad dotyczących podawania „żywych” szczepionek.

Piśmiennictwo

1. Bousfiha A., Jeddane L., Picard C. i in.: Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update of the IUIS Phenotypical Classification. *J Clin Immunol*, 2020, 40(1): 66–81.
2. Bernatowska E., Pac M., Pietrucha B. i in.: Pierwotne niedobory odporności w praktyce lekarza podstawowej opieki zdrowotnej. *Pediatr. po Dypl.*, 2013, 17(1): 9–20.
3. Kołtan S., Urbańczyk A., Grześk E. i in.: Szczepienia ochronne u dzieci w trakcie i po leczeniu onkologicznym oraz w wybranych chorobach hematologicznych: rekomendacje Polskiego Towarzystwa Onkologii i Hematologii Dziecięcej. *Acta Haematologica Polonica*, 2019, 50(4): 182–191.
4. Bernatowska E., Jackowska T., Bożena Mikołuc B.: Zmiany w Programie Szczepień Ochronnych na 2018 rok. Szczepionka PCV13 dostępna dla dzieci z grup ryzyka. *Standardy Medyczne Pediatria*, 2018, 2: 199–210.
5. Platt C.D.: Immunizations in patients with primary immunodeficiency. <https://www-1uptodate-1com-1wdagxfee0191.han.umb.edu.pl/contents/immunizations-in-patients-with-primary-immunodeficiency>
6. Committee on Infectious Diseases, American Academy of Pediatrics, Kimberlin D.W., Brady M.T., Jackson M.A. i in.: Immunization and other considerations in immunocompromised children. *Red Book*, 2018, 31st ed, Itasca, IL 2018: 72.
7. Sobh A., Bonilla F.A.: Vaccination in Primary Immunodeficiency Disorders. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2016, 4(6): 1066–1075.
8. Ezeanolue E., Harriman K., Hunter P. i in.: Best Practices Guidance of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). <https://www.cdc.gov/vaccines/hcp/acip-recs/general-recs/immunocompetence.pdf>
9. Medical Advisory Committee of the Immune Deficiency Foundation: Shearer W.T., Fleisher T.A., Buckley R.H. i in.: Recommendations for live viral and bacterial vaccines in immunodeficient patients and their close contacts. *J Allergy Clin Immunol*, 2014, 133(4): 961–966.
10. Finelli L., Fiore A., Dhara R. i in.: Influenza – associated pediatric mortality in the United States: increase of *Staphylococcus aureus* coinfection. *Pediatrics*, 2008, 122(4): 805–811
11. Friedmann D., Goldacker S., Peter H-H. i in.: Preserved Cellular Immunity Upon Influenza Vaccination in Most Patients with Common Variable Immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2020, 8(7): 2332–2340.e5.
12. Sobh A., Bonilla F.A.: Vaccination in Primary Immunodeficiency Disorders. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2016, 4(6): 1066–1075.

Postępy w diagnostyce pierwotnych niedoborów odporności w dobie COVID-19

prof. dr hab. n. med. Ewa Bernatowska

Klinika Immunologii, Instytut „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka”, Warszawa

Progress in the diagnosis of primary immunodeficiencies in the era of COVID-19

Abstract

Healthy young patients with lifethreatening SARS-CoV-2 infection, present a unique opportunity to reveal human genetic determinants of infection. J Project group, clinicians and scientists in Eastern and Central Europe are actively involved in the COVID Human Genetics Effort research, to investigate seriously infected patients.

Badania genetyczne dotychczas zdrowych młodych ludzi, u których wystąpiło ciężkie zakażenie SARS-CoV-2, to szansa na znalezienie genetycznie uwarunkowanej skłonności do ciężkiego przebiegu tego zakażenia.

Analiza przebiegu klinicznego zachorowań w Wuhan, w Europie, a następnie w krajach na innych kontynentach podczas trwającej od kilku miesięcy pandemii COVID-19 wskazuje, że szczególnie narażone na zakażenie wirusem SARS-CoV-2 są osoby zagrożone z racji pełnionych funkcji zawodowych, osoby w podeszłym wieku i/lub obciążone współtowarzyszącymi chorobami. Dane z Wuhan wykazały, że u 20% zakażonych wystąpił poważny przebieg choroby, z czego 14% stanowiły osoby powyżej 80. roku życia, z chorobami przewlekłymi, takimi jak choroby sercowo-naczyniowe (10%) bądź cukrzyca (7%) [1]. W obecnym sezonie 2019/2020 COVID-19 jest zdecydowanie najczęstszą przyczyną zgonów; umiera od 0,25 do 3% chorych, podczas gdy śmiertelność z powodu grypy sezonowej to w obecnym sezonie 0,1% [1,2].

Poza osobami z wymienionych grup ryzyka, szczególnie narażonymi na ciężki przebieg i zgon w wyniku COVID-19, zdarzają się zachorowania o ciężkim przebiegu,

często kończące się zgonem, u osób dotychczas zdrowych, w wieku poniżej 50. roku życia. Osoby młode z COVID-19, bez współistniejących chorób, wg szacunkowych danych to mniej niż jedna osoba na 1 000 zakażonych wirusem SARS-CoV-2. Trudno jest obecnie wyjaśnić tak poważny przebieg zakażenia za pomocą badań genetycznych oraz panelu dostępnych badań immunologicznych. Brak wyraźnych predyspozycji genetycznych bądź specyficznych zaburzeń immunologicznych wyjaśniających ciężki przebieg COVID-19 potwierdzają dotychczasowe zachorowania u pacjentów z niedoborami odporności. Europejskie Towarzystwo Niedoborów Odporności od początku pandemii prowadzi rejestr zachorowań wśród tych pacjentów. Obecnie zgłoszono 98 przypadków z COVID-19, w których przebieg kliniczny zakażenia u większości pacjentów był dość łagodny, jednak pięciu spośród nich zmarło. Trudno jest wyciągnąć ostateczne wnioski, analizując tak małą liczbę pacjentów. Procent zgonów był prawie dwukrotnie wyższy niż w całej populacji, bez wskazania na konkretny typ mutacji. Liczba zgonów jednak jest mniejsza niż pierwotnie się spodziewano. Chorowali pacjenci z *X-linked* agammaglobulinemią i z innymi genetycznie uwarunkowanymi defektami odporności; ze skłonnością do zakażeń EBV: XLP1 – niedoborem

SH2DIA, XLP2 – niedoborem CTPS1, a także pacjenci z chorobami autozapalnymi oraz z dysregulacją układu odporności APS-1.

Pierwsze badania wskazujące na genetyczne i immunologiczne podstawy rozwoju różnych zakażeń pojawiły się w 1950 r.; jako pierwszą opisano *X-linked* agammaglobulinemię typu Brutona. Dalszy rozwój badań wykazał genetyczną skłonność do występowania tylko jednego typu zakażeń u pacjentów, były to zakażenia wywołane mykobakteriami. W roku 1985 wykryto mutacje genów receptorów dla IFNGR1, IFNGR2 występujących rodzinie, dziedziczące się autosomalnie recesywnie, zgodnie z prawem Mendla. Kolejne lata wykazały, że występujące sporadycznie, o poważnym przebiegu zakażenia, często wirusowe, mogą być także chorobami monogenowymi, jednak niekoniecznie dziedziczą się zgodnie z prawem Mendla, lecz jako cecha autosomalna dominująca (tabela 1). Przykładem są pacjenci z ciężkim zapaleniem mózgu wywołanym wirusem *Herpes simplex* typ 1, u których stwierdzono mutacje

w poszczególnych genach: TLR3, TRIF, TRAF3, TBK1, IRF3, SNORA31. Jedna z naszych pacjentek, obecnie 21-letnia, która nie przeżyła żadnych poważnych zakażeń, w wieku siedmiu lat zachorowała na zapalenie mózgu wywołane wirusem *Herpes simplex* typ 1, konsekwencją którego jest padaczka. U dziecka nie występowały objawy typowej opryszczki wirusowej skórno-słuzówkowej. Badania genetyczne wykazały mutacje w pojedynczym genie TBK1, który zawiaduje indukcją syntezy IFN- α/β lub IFN- λ , interferonów zapewniających ochronę przed pierwotnym zakażeniem wirusem *Herpes simplex* typ 1 [3].

W przypadku ciężkich zakażeń wirusem SARS-CoV-2 u dotychczas zdrowych osób poniżej 50. roku życia poszukiwanie monogenowych mutacji może wyjaśnić genetycznie uwarunkowane predyspozycje do tego zakażenia. Podobnie jak stało się to w przypadku wymienionych w tabeli defektów monogenowych, związanych z rzadką skłonnością do występowania poważnych zakażeń ludzkim wirusem.

Defekty monogenowe związane z rzadką skłonnością do występowania poważnych zakażeń ludzkim wirusem*		
Podatność	Patogen/lokalizacja zakażenia	Gen
	Wirus grypy (ciężkie zapalenie płuc)	IRF7 IRF9 TLR3
	<i>Rhinovirus</i> (ciężkie zapalenie płuc)	IFIH1 UNC93B1
	<i>Herpes simplex virus 1 (encephalitis)</i>	TLR3 TRIF TRAF3 TBK1 IRF3 SNORA31
	<i>Wirus Herpes simplex</i> typ 1, <i>influenza virus</i> , <i>Norovirus (brainstem encephalitis)</i>	DBR1
	<i>Beta-papillomavirus</i> (brodawczaki skóry i nowotwory)	TMC6 TMC8 CIB1
	Wirus Epsteina-Barr: hemofagocytoza, chłoniak, limfoproliferacja, hipogammaglobulinemia	SH2D1A XIAP ITK MAGT1 CD27 CD70
	Wirus <i>Varicella zoster</i> (uogólniona choroba)	POLR3A POLR3C
	Ludzki <i>herpes virus</i> typ 8 (mięsak Kaposiego)	TNFRSF4
	<i>Cytomegalovirus</i> (uogólniona choroba)	NOS2
	<i>Hepatitis A virus</i> (piorunujące zapalenie wątroby)	IL18BP
	Żywa atenuowana szczepionka przeciwko odrze oraz żółtej gorączce – zakażenie uogólnione	IFNAR1 IFNAR2 STAT2 IRF9
Oporność	HIV	CCR5
	<i>Norovirus</i>	FUT2

*Jean-Laurent Casanova, Helen C. Su.: A Global Effort to Define the Human Genetics of Protective Immunity to SARS-CoV-2 Infection. Cell 181, June 11, 2020, Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.05.016>

Powołane przez prof. Jean-Laurent Casanova z Laboratorium Genetyki Człowieka i Chorób Zakaźnych Uniwersytetu Rockefellera w Nowym Yorku Konsorcjum „Human Genetic Effort” prowadzi na całym świecie intensywne badania, sekwencjonując genom młodych, dotychczas zdrowych osób z ciężkim przebiegiem COVID-19. Istotnym elementem dociekań będzie również określenie

jednorodności genetycznej, wówczas gdy ta sama mutacja wystąpi u pacjentów z różnych stron świata. Konsorcjum poszerza się o nowe ośrodki badawcze i szpitale, które leczą najciężej chorych z COVID-19. J Project group, skupiająca klinicystów i naukowców ze Wschodniej i Centralnej Europy zaangażowana jest w działania na rzecz Konsorcjum „Human Genetics Effort”.

Piśmiennictwo

1. Zhou F., Ting Yu T., Du R. i in.: Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*, 2020, 28; 395(10229): 1054–1062.
2. Wilson N., Kvalsvig A., Barnard L.T. i in.: Case-fatality risk estimates for COVID-19 calculated by using a lag time for fatality. *Emerg Infect Dis*, 2020, 26(6): 1339–1441.
3. Herman M., Ciancanelli M., Ou Y.-H. i in.: Heterozygous TBK1 mutations impair TLR3 immunity and underlie herpes simplex encephalitis of childhood. *J Exp Med*, 2012, 209(9): 1567–1582.



Hizentra®

Immunoglobulina podskórna (ludzka) 20% roztwór



Jedyna immunoglobulina podskórna stabilizowana naturalną L-proliną^{1,2}

- Można przechowywać do 30 miesięcy w temperaturze pokojowej
- Można podawać co dwa tygodnie, bez uprzedniego wstrzykiwania hialuronidazy
- Można podawać bez użycia pompy infuzyjnej

SKRÓCONA INFORMACJA O PRODUKCIE LECZNICZYM – HIZENTRA®

Nazwa produktu leczniczego: Hizentra 200 mg/ml, roztwór do wstrzykiwań podskórnych. **Skład jakościowy i ilościowy:** normalna immunoglobulina ludzka (SClg). Jeden ml zawiera: białko osocza ludzkiego 200 mg (czystość: co najmniej 98% IgG). Każda fiołka z 5 ml (10 ml, 20 ml, 50 ml), roztworu zawiera: 1 g (2 g, 4 g, 10 g) immunoglobuliny ludzkiej normalnej. Przybliżony rozkład podklas IgG: IgG₁ - 69%, IgG₂ - 26%, IgG₃ - 3%, IgG₄ - 2%. Maksymalna zawartość IgA wynosi 50 mikrogramów/ml. Wyprodukowano z osocza ludzkiego. Substancje pomocnicze o znanej działaniu: zawiera ok. 250 mmol/l (210 do 290) L-proliny. **Postać farmaceutyczna:** Roztwór do wstrzykiwań podskórnych. Jest przezroczysty i białodółty lub jasnobrązowy. Przybliżona osmolalność - 380 mOsmol/kg. **Wskazania do stosowania:** Leczenie zastępcze u dorosłych, dzieci i młodzieży (0-18 lat): pierwotnych zespołów niedoboru odporności z upośledzonym wytwarzaniem przeciwciał, hipogammaglobulinemii i nawracających zakażeń bakteryjnych u pacjentów z przewlekłą białaczką limfocytową (CLL), u których profilaktyka antybiotykowa okazała się nieskuteczna lub jest przeciwwskazana, hipogammaglobulinemii i nawracających zakażeń u pacjentów ze szpiczakiem mnogim (MM), hipogammaglobulinemii u pacjentów z przed i po allogenicznym przeszczepie krwiotwórczych komórek macierzystych (HSCT). Leczenie immunomodulacyjne u dorosłych, dzieci i młodzieży (0-18 lat): do leczenia pacjentów z przewlekłą zapalną demielinizacją polineuropatią (ang. chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy, CIDP) jako leczenie podtrzymujące po stabilizacji za pomocą IVIg. **Dawkowanie: Dorośli i dzieci (0-18 lat):** Terapia zastępcza: Dawka może wymagać indywidualnego ustalenia dla każdego pacjenta zależnie od odpowiedzi farmakokinetycznej i klinicznej oraz minimalnych stężeń IgG w surowicy krwi. Poniższe schematy dawkowania podane są jako ogólne wytyczne. Schemat dawkowania powinien zapewnić minimalny poziom IgG (mierzony przed kolejną infuzją) co najmniej 5 do 6 g/l i prowadzić do osiągnięcia poziomu IgG w surowicy w przedziale referencyjnym dla danego wieku. Konieczne może być podanie dawki nawiązującej co najmniej od 0,2 do 0,5 g/kg (od 1,0 do 2,5 ml/kg) m.c. Może to wymagać podzielenia jej na kilka dni. Po osiągnięciu stanu stacjonarnego stężeń IgG podaje się dawki podtrzymujące w regularnych odstępach czasu tak, aby osiągnąć skumulowaną miesięczną dawkę rzędu od 0,4 do 0,8 g/kg (od 2,0 do 4,0 ml/kg) m.c. Każda pojedyncza dawka może wymagać wstrzyknięcia w różne okolice ciała. Wartości stężenia minimalnego należy mierzyć i oceniać w zależności od odpowiedzi klinicznej organizmu pacjenta. W zależności od odpowiedzi klinicznej (np. częstotści występowania zakażeń) można wziąć pod uwagę możliwość zmiany dawki i/lub odstępów pomiędzy kolejnymi dawkami w celu uzyskania wyższych stężeń minimalnych. Leczenie immunomodulacyjne u pacjentów z CIDP: leczenie lekiem Hizentra rozpoczyna się 1 tydzień po ostatniej infuzji IVIg. Zalecana dawka podskórna wynosi 0,2 do 0,4 g/kg masy ciała na tydzień. Początkowa dawka podskórna może być zamieniana w skali 1:1 z poprzednią dawką IVIG (obliczaną jako dawka tygodniowa). Tygodniową dawkę można podzielić na mniejsze dawki i podawać wymaganą ilość razy na tydzień. W przypadku podawania dawki co 2 tygodnie, dawka tygodniowa leku Hizentra powinna być podwojona. Może być konieczne dostosowanie dawki w celu osiągnięcia oczekiwanej odpowiedzi klinicznej. Indywidualna odpowiedź kliniczna pacjenta powinna stanowić podstawę do ustalania odpowiedniej dawki. W przypadku pogorszenia stanu klinicznego dawkę można zwiększyć do zalecanej maksymalnej dawki 0,4 g/kg m.c. na tydzień. Leczenie podtrzymujące produktem Hizentra nie było badane przez okres dłuższy niż 18 miesięcy. Indywidualny czas trwania jakiegokolwiek leczenia dłuższego niż 18 miesięcy powinien być oparty o odpowiedź pacjenta i wykazaną potrzebę kontynuowania leczenia. Dawkowanie u dzieci i młodzieży (0-18 lat): nie różni się od dawkowania u dorosłych, ponieważ dawkowanie we wszystkich wskazaniach jest zależne od masy ciała i dostosowywane do wyniku klinicznego we wskazaniach terapii zastępczej. Lek Hizentra oceniano u 68 pacjentów z PID [wiek: od 2 do <18 lat]. Do osiągnięcia pożądaných stężeń IgG w surowicy krwi nie było konieczne dostosowanie dawki specjalnie dla dzieci i młodzieży. Lek Hizentra nie był oceniany w badaniach klinicznych u dzieci i młodzieży w wieku poniżej 18 lat z CIDP. Ponieważ dawkę ustala się w zależności od masy ciała i dostosowuje do odpowiedzi klinicznej w wymienionych wyżej schorzeniach, nie uznaje się potrzeby różnicowania dawek u osób w podeszłym wieku w stosunku do dawkowania u pacjentów w wieku od 18 do 65 lat. **Sposób podawania:** Wyłącznie do podawania podskórnego. Infuzję podskórną w leczeniu dorywczym może rozpocząć i monitorować wykwalifikowany personel medyczny doświadczony w prowadzeniu pacjentów leczonych w domu. Powinien być stosowany odpowiedni zestaw infuzyjny do podawania podskórnego. Pacjent lub jego opiekun musi zostać przeszkolony w stosowaniu zestawów do infuzji, prowadzeniu dziennika leczenia, rozpoznawaniu ciężkich działań niepożądanych i postępowaniu w razie ich wystąpienia. Lek Hizentra można podawać we wlewie w takie miejsca jak brzuch, udo, ramię i (lub) bok biodra. Jednocześnie można stosować więcej niż jedno urządzenie infuzyjne. Ilość produktu podawanego do określonego miejsca może się różnić. U niemowląt i dzieci miejsce infuzji można zmieniać po podaniu 5-15 ml. U dorosłych można podawać dawki do 50 ml/miejsce. Nie ma ograniczenia liczby miejsc infuzji. Miejsca infuzji powinny znajdować się w odległości co najmniej 5 cm. Hizentra można podawać w infuzji za pomocą urządzenia infuzyjnego lub strzykawki. Zalecana początkowa szybkość infuzji zależy od indywidualnych potrzeb pacjenta. Infuzja za pomocą urządzenia infuzyjnego: Początkowa szybkość infuzji nie powinna przekraczać 20 ml/godzinę/miejsce. W razie dobrego tolerowania infuzji (patrz także punkt 4.4) jej szybkość można stopniowo zwiększać do 35 ml/godzinę/miejsce dla kolejnych dwóch infuzji. Następnie, jeśli pacjent toleruje początkowe infuzje przy pełnej dawce na miejsce i maksymalnej szybkości podawania, można rozważyć zwiększenie szybkości podawania kolejnych infuzji przy współpracy z pacjentem i na podstawie oceny pracowników służby zdrowia. Infuzja manualna: Zalecana początkowa szybkość infuzji nie powinna przekraczać 0,5 ml/min/miejsce (30 ml/godzinę/miejsce). Jeśli jest dobrze tolerowana (patrz także punkt 4.4), szybkość infuzji można zwiększyć do 2,0 ml/min/miejsce (120 ml/godzinę/miejsce). Następnie, jeśli pacjent toleruje początkowe infuzje przy pełnej dawce na miejsce i maksymalnej szybkości podawania, można rozważyć zwiększenie szybkości podawania kolejnych infuzji przy współpracy z pacjentem i na podstawie oceny pracowników służby zdrowia. Konieczne może być użycie igły o rozmiarze 24 lub większym (tj. mniejszym przekroju), aby umożliwić pacjentom podanie infuzji z większą szybkością. Używanie mniejszych igieł (tj. o większym przekroju) może utrudnić manualne podawanie produktu Hizentra. Infuzja może być podawana tylko w jedno miejsce na strzykawkę. Jeśli wymagane jest podanie dodatkowego wstrzyknięcia produktu Hizentra, należy użyć nowej, jałowej igły do wstrzykiwań i zmienić miejsce infuzji. **Przeciwwskazania:** Nadwrażliwość na substancję(e) czynną(e) lub którąkolwiek substancję pomocniczą. Pacjenci z hiperprolinemią typu I lub II. Nie wolno podawać donaczyniowo. **Specjalne ostrzeżenia i środki ostrożności dotyczące stosowania:** W celu poprawienia identyfikowalności biologicznych produktów leczniczych należy czytelnie zapisać nazwę i numer serii podawanego produktu. Można podawać wyłącznie podskórną. W razie przypadkowego podania do naczyń krwionośnych pacjenta może wystąpić wstrząs. Należy przestrzegać zalecanej szybkości infuzji. W czasie wykonywania infuzji należy cały czas dokładnie monitorować pacjenta i uważnie obserwować pod kątem jakichkolwiek działań niepożądanych. Niektóre działania niepożądane mogą występować częściej u pacjentów, którzy przyjmują normalną immunoglobulinę ludzką po raz pierwszy, lub w rzadkich sytuacjach, kiedy zmienia się ten produkt na inny lub leczenie przetrwało na dłużej niż 8 tyg. Potencjalnych powikłań można często uniknąć, upewniając się, że pacjenci nie wykazują nadwrażliwości na normalną immunoglobulinę ludzką, wstrzykując im początkowo produkt leczniczy z małą szybkością; są starannie monitorowani w celu wykrycia jakichkolwiek objawów podczas całego okresu stosowania infuzji. W szczególności podczas podawania pierwszej infuzji oraz w pierwszej godzinie od jej zakończenia należy monitorować pacjentów nieleczonych uprzednio normalną immunoglobuliną ludzką, pacjentów otrzymujących dotychczas alternatywny produkt lub w razie dłuższego odstępu czasu od

poprzedniej infuzji, w celu wykrycia objawów ewentualnych działań niepożądanych. Wszyscy inni pacjenci powinni być obserwowani przez co najmniej 20 min. po podaniu leku. Podejrzanie reakcji alergicznych lub anafilaktycznych wymaga natychmiastowego przerwania infuzji. W razie wstrząsu należy zastosować standardowe leczenie medyczne. **Nadwrażliwość:** Rzeczywiste reakcje alergiczne występują rzadko. Mogą one występować w szczególności u pacjentów z przeciwciałami przeciwko IgA, których należy leczyć szczególnie ostrożnie. Pacjenci z przeciwciałami przeciwko IgA, dla których leczenie podskórną produktem IgG pozostaje jedyną możliwością, powinni zmienić leczenie na leczenie produktem Hizentra tylko pod ścisłym nadzorem medycznym. W rzadkich sytuacjach normalna immunoglobulina ludzka może wywoływać spadek ciśnienia krwi połączony z reakcją anafilaktyczną, nawet u pacjentów, którzy uprzednio dobrze tolerowali leczenie normalną immunoglobuliną ludzką. **Powikłania zakrzepowo-zatorowe:** Ze stosowaniem immunoglobulin związanych było występowanie tętnicznych i żylnych incydentów zakrzepowo-zatorowych, takich jak zawał mięśnia sercowego, udar mózgu, zakrzepica żył głębokich i zatorowe płucna. Należy zachować ostrożność u pacjentów z obecnymi wcześniej czynnikami ryzyka incydentów zakrzepowych (takimi jak podeszły wiek, nadciśnienie, cukrzyca i incydenty zakrzepowe lub choroby naczyń w wywiadzie, pacjenci z nabytą lub wrodzoną nadkrzepliwością, pacjenci unieruchomieni przez dłuższy czas, pacjenci z ciężką hipowolemią, pacjenci z chorobami, które zwiększają lepkość krwi). Pacjentów należy poinformować, o pierwszych objawach incydentów zakrzepowo-zatorowych, obejmujących duszność, ból i obrzęk kończyn, ogólnikowe, ubytkowe objawy neurologiczne i ból w klatce piersiowej oraz należy im zalecić natychmiastowe zgłoszenie się do lekarza w razie wystąpienia objawów. Przed podaniem pacjentowi powinni być odpowiednio naodwodnieni. **Zespół jałowego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych (AMS):** Po dożylnym lub podskórnym podaniu immunoglobulin opisywano występowanie AMS. Zespół zwykle rozpoczyna się kilka godzin do 2 dni po leczeniu immunoglobulinami. AMS charakteryzują następujące objawy: silny ból głowy, sztywność karku, senność, gorączka, światłowstręt, nudności i wymioty. U pacjentów z objawami AMS należy przeprowadzić pełne badanie neurologiczne, w tym płynu mózgowo-rdzeniowego, w celu wykluczenia innych przyczyn zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych. Przerwanie leczenia immunoglobulinami może doprowadzić do ustąpienia AMS w ciągu kilku dni bez żadnych następstw. **Informacje na temat bezpieczeństwa w odniesieniu do czynników zakaźnych.** Standardowe środki zapobiegania zakażeniom wynikającym z użycia produktu medycznego przygotowanego z ludzkiej krwi lub osocza obejmują selekcję dawców, badania przesiewowe poszczególnych pobranych próbek krwi i całych pul osocza pod kątem specyficznych markerów zakażenia oraz wdrożenie skutecznych kroków produkcyjnych mających na celu inaktywację lub usunięcie wirusów. Pomimo tego, podczas podawania produktów medycznych przygotowanych z ludzkiej krwi lub osocza nie można całkowicie wykluczyć możliwości przeniesienia czynników zakaźnych. Dotyczy to również nieznanych lub nowo odkrytych wirusów i innych patogenów. Podejmowane środki uważane są za skuteczne wobec wirusów otoczkowych, takich jak HIV, HBV i HCV, a także wirusów bezotoczkowych HAV i parwowirusa B19. Doświadczenie kliniczne potwierdza brak przypadków przeniesienia wirusowego zapalenia wątroby (WZW) typu A lub parwowirusa B19 za pośrednictwem immunoglobulin. Przyjmuje się, że zawartość przeciwciał w znacznym stopniu przyczynia się do zapewnienia ochrony przeciwko tym wirusom. **Zaburzenia wyników testów serologicznych:** Po wstrzyknięciu immunoglobulin, przejściowy wzrost liczby różnych białek przenoszonych przeciwciał do krwi pacjenta może spowodować mylące pozytywne wyniki w badaniach serologicznych. Błędne przeniesienie przeciwciał przeciwko antygenom krwinek czerwonych, np. antygenom A, B, D może zakłócić wyniki niektórych testów serologicznych w kierunku przeciwciał reagujących z krwinkami czerwonymi, na przykład testu antyglobulinowego (test Coombsa). Te same ostrzeżenia i środki ostrożności dotyczą dzieci i młodzieży oraz osób starszych. **Ciąża:** Dane uzyskane w prospektywnych badaniach klinicznych dotyczące stosowania normalnej immunoglobuliny ludzkiej u kobiet w ciąży są ograniczone. Dlatego u kobiet w ciąży produkt leczniczy Hizentra należy stosować z ostrożnością. Doświadczenie kliniczne dotyczące stosowania immunoglobulin nie wskazuje na występowanie działań szkodliwych na przebieg ciąży lub na rozwój płodu czy noworodka. Kontynuowanie leczenia kobiety w ciąży zapewnia noworodkowi właściwą odporność bierną. **Karmienie piersią:** Dane z prospektywnych badań klinicznych dotyczących zastosowania normalnej ludzkiej immunoglobuliny u kobiet karmiących piersią są ograniczone. W związku z tym należy zachować szczególną ostrożność podczas podawania leku Hizentra kobietom karmiącym piersią. Doświadczenie kliniczne z zastosowaniem immunoglobulin sugeruje, że nie należy oczekiwać ich szkodliwego działania na noworodki. Immunoglobuliny przenikają do mleka matki i mogą uczestniczyć w przenoszeniu przeciwciał ochronnych do organizmu noworodka. **Plodność:** Doświadczenie kliniczne dotyczące stosowania immunoglobulin sugeruje, że nie należy oczekiwać ich szkodliwego wpływu na płodność. **Działania niepożądane:** Podsumowanie: Niekiedy mogą występować działania niepożądane takie, jak dreszcze, ból głowy, gorączka, wymioty, reakcje alergiczne, nudności, ból stawów, niskie ciśnienie krwi i umiarkowany ból pleców. W rzadkich przypadkach normalna immunoglobulina ludzka może wywoływać nagle zmniejszenie ciśnienia krwi, a w pojedynczych przypadkach wstrząs anafilaktyczny nawet, jeśli po poprzednim podaniu produktu pacjent nie wykazywał nadwrażliwości. Reakcje miejscowe w miejscach infuzji: obrzęk, bolesność, zaczerwienienie, stwardnienie, miejscowe odczuwanie ciepła, swędzenie, zasinienie i wysypka. Działania niepożądane zebrane z 7 badań klinicznych III fazy z udziałem pacjentów z pierwotnym niedoborem odporności (n = 231), 2 badań IV fazy u pacjentów z PID (n = 74), 1 badania III fazy (n = 115) i 1 badania rozszerzonego (n = 82) u pacjentów z CIDP przyjmujących produkt leczniczy Hizentra (ogółem n = 502 pacjentów, 26 646 infuzji): występujące bardzo często (≥1/10): ból głowy, wysypka, bóle mięśniowo-szkieletowe (w tym skurcze mięśni i osłabienie mięśni), reakcje w miejscu infuzji; często (≥1/100 do <1/100): zawroty głowy, migrena, nadciśnienie tętnicze, biegunka, ból brzucha, nudności, wymioty, świąd, pokrzywka, bóle mięśniowo-szkieletowe, bóle stawów, gorączka, zmęczenie (w tym złe samopoczucie), ból w klatce piersiowej, choroba przypominająca grype, ból; niezbyt często (≥1/1 000 do <1/100): nadwrażliwość, aseptyczne zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, drżenie (w tym nadpobudliwość psychoruchowa), tachykardia, zaczerwienienie, skurcze mięśni, osłabienie mięśni, dreszcze (w tym hipotermia), zwiększona aktywność kreatyniny we krwi; częstotść nieznana: reakcje anafilaktyczne, uczucie pieczenia, zdarzenia zakrzepowo-zatorowe, owrzodzenie w miejscu infuzji. Badania kliniczne produktu leczniczego Hizentra wykazały podobny ogólny profil bezpieczeństwa u dzieci i młodzieży oraz dorosłych z PID. Lek Hizentra nie był oceniany w badaniach klinicznych wśród dzieci i młodzieży z CIDP poniżej 18 lat. Te same działania niepożądane mogą wystąpić u osób w podeszłym wieku. Konsekwencje przedawkowania nie są znane. **Okres ważności:** 30 miesięcy. Po otwarciu fiołki należy natychmiast zużyć roztwór. **Specjalne środki ostrożności podczas przechowywania:** Nie przechowywać w temperaturze powyżej <25°C. Nie zamrażać. Przechowywać fiołkę w opakowaniu zewnętrznym w celu ochrony przed światłem. Warunki przechowywania patrz punkt 6.3 i 6.4 charakterystyki produktu leczniczego. **Specjalne środki ostrożności dotyczące usuwania i przygotowania produktu leczniczego do stosowania** – patrz punkt 6.6 charakterystyki produktu leczniczego. **Podmiot odpowiedzialny:** CSL Behring GmbH Emil-von-Behring-Strasse 76, D-35041 Marburg, Niemcy. **Numery pozwoleń na dopuszczenie do obrotu:** EU/1/11/687/001-006; EU/1/11/687/010 – 014 wydane przez Komisję Współnot Europejskich. **Kategoria dostępności:** Produkt leczniczy wydawany z przepisu lekarza do zastrzeżonego stosowania. **Cena detaliczna / wysokość dopłaty świadczeniobiorcy:** Lek dostępny w programie lekowym, z poziomem odpłatności dla pacjenta: bezpłatnie. Aktualne Obwieszczenie Ministra Zdrowia w sprawie wykazu refundowanych leków, środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego oraz wyrobów medycznych znajduje się na stronie internetowej: www.mz.gov.pl. **Uwaga:** Przed zastosowaniem leku należy zapoznać się z aktualną charakterystyką produktu leczniczego, dostępną na stronie internetowej Europejskiej Agencji Leków: www.ema.europa.eu lub u przedstawiciela podmiotu odpowiedzialnego: CSL Behring sp. z o.o., ul. A. Branickiego 17, 02-972 Warszawa, tel.: +48 22 213 22 65, faks.: +48 22 213 22 69.

Personalizacja leczenia w chorobach immunologicznych

prof. dr hab. n. med. Ewa Bryl

Zakład Patologii i Reumatologii Doświadczalnej, Gdański Uniwersytet Medyczny

Personalized treatment in immune disorders

Abstract

The terms 'personalised' or 'precision' medicine refer to the grouping of patients based on risk of disease or response to therapy, using diagnostic tests or techniques. This personalised approach is becoming the nature of modern medicine. So far the major progress was achieved in the field of oncology. The personalized medicine approach in immunological diseases is still at the beginning; in this material only rheumatoid arthritis (RA) will be used as an example of immune disease where it is possible. The knowledge regarding immunity of RA show that there is heterogeneity of autoantibodies, of concentrations of cytokines and of different T cell subpopulations including number of activated T cells versus regulatory T cells, different proportion of T cells expressing CD28. This huge heterogeneity is depended on many factors related to disease, including: the stage of disease, age of onset, activity of disease, treatment and patient's response to it. Other reasons of heterogeneous immune system in RA patients are related to the life style, diet, microbiome, environmental factors like smoking, obesity etc. Also the genetic background is important. Regarding cytokines there are also factors related to technical issues like: time of material collection (time of the day), storage conditions (temperature), technique of cytokine detection. In summary – considering the heterogeneity of RA and other immune diseases probably the future of personalized medicine will be in the inclusion of combination of many factors: demographic, clinical, laboratory markers, genetics, epigenetic, proteomics, number of cellular and serum biological biomarkers, and functional immunological assays for every single patient. To reach this point there is need for development of reproducible and reliable phenotyping methods for immune cell subpopulations and concentrations of cytokines.

Wprowadzenie

Termin „medycyna personalizowana” lub „medycyna precyzyjna” odnosi się do zjawiska grupowania pacjentów na podstawie ryzyka choroby lub odpowiedzi na terapię przy użyciu testów diagnostycznych bądź różnych technik badawczych. W praktycznym aspekcie **medycyna personalizowana** polega na postępowaniu, w którym zapobieganie, rozpoznanie i leczenie chorób oparte jest na zmianach w markerach biologicznych swoistych dla **danego pacjenta i jego choroby**, np. w genach, białkach lub metabolitach. **To indywidualne podejście** różni się od podejścia tradycyjnej medycyny, zgodnie z którym wszyscy chorzy z podobnym rozpoznaniem otrzymują podobne, jeśli nie identyczne, leczenie. Od dawna bowiem zaobserwowano, że efekty le-

czenia wykazują u pacjentów z tym samym rozpoznaniem klinicznym istotne różnice, które nie są związane z cechami klinicznymi ani demograficznymi. Obecnie medycyna personalizowana największe zastosowanie znajduje w onkologii, jednak coraz częściej jej osiągnięcia wykorzystuje się w innych dziedzinach medycyny, m.in. w kardiologii i reumatologii. Medycyna personalizowana spowodowała znaczący postęp w skuteczności leczenia onkologicznego – obecnie leki celowane stanowią ponad 73% leków stosowanych w czerniaku, 51% – w raku jelita grubego, 32% – w raku piersi oraz po 21% w nowotworach szyi i głowy. Najnowsze statystyki pokazują, że już ponad jedna czwarta wszystkich nowych leków zatwierdzonych przez amerykańską Agencję Żywności i Leków (US Food and Drug Administration – FDA) to leki medycyny personalizowanej

i – jak wynika z danych zaprezentowanych podczas III Międzynarodowego Forum Medycyny Personalizowanej (rok 2019) – w ciągu najbliższych pięciu lat ich liczba może wzrosnąć o 69%.

Medycyna personalizowana a choroby immunologiczne (na przykładzie RZS)

Trzeba jednak zadać pytanie, **jaka jest obecnie sytuacja medycyny personalizowanej w chorobach immunologicznych?** Z powodu setek chorób, które mieszczą się w pojęciu „choroby immunologiczne” dla potrzeb tego webinarium wybrałam przykład jednej choroby – reumatoidalnego zapalenia stawów (RZS).

Obecnie medycyna personalizowana w RZS opiera się na zasadzie: *treat to target*. Oznacza to, że leczenie RZS powinno być oparte na wspólnej decyzji pacjenta i lekarza; głównym celem leczenia chorego na RZS jest zaś utrzymanie **długotrwałej, możliwie najwyższej jakości życia zależnej od choroby** (poprzez kontrolę objawów, zapobieganie strukturalnemu uszkodzeniu stawów, normalizację sprawności i uczestniczenia pacjenta w życiu społecznym). **Stłumienie zapalenia jest najważniejszym sposobem osiągnięcia tych celów;** leczenie nakierowane na cel (*treatment to target*) poprzez mierzenie **aktywności choroby** i odpowiednie dostosowywanie do niej terapii pomaga osiągnąć możliwie najlepsze wyniki.

Podsumowując te założenia: aktualnie obowiązujący główny cel leczenia polega na osiągnięciu remisji klinicznej. Należy jednak zadać pytanie: **czy możliwa jest zmiana ewentualnie uzupełnienie tego celu w oparciu o stan układu odpornościowego pacjentów z RZS? Co wiemy o układzie odpornościowym pacjentów z RZS?**

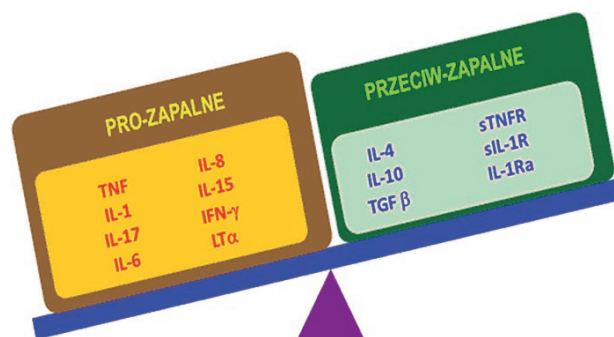
Badania układu odpornościowego pacjentów z RZS wskazują na **heterogenność immunologiczną**, której przykładami są: obecność różnych autoprzeciwciał, zróżnicowane stężenia cytokin, różne proporcje subpopulacji limfocytów – aktywowane *versus* regulatorowe – oraz zmienna liczba limfocytów CD4+ i CD8+ mających cząsteczkę CD28 na swojej powierzchni.

W wielu pracach wykazano **obecność różnych autoprzeciwciał** w surowicy i płynie stawowym pacjentów z RZS, m.in. czynnik reumatoidalny, przeciwciała przeciw-cytrulinowanym cyklicznym peptydom (anty-CCP), przeciwciała przeciwko białkom chrząstek, przeciwciała przeciwko peptydoglikanom, przeciwciała przeciwko kola-

genowi II i jego peptydom, przeciwciała przeciwko kalpastatinie (Ca^{2+} -zależna proteaza/inhibitor kalpajny), a także przeciwciała przeciwko ludzkiemu Hsp. Lista ta nie obejmuje wszystkich wykrytych autoprzeciwciał u pacjentów z RZS, lecz warto podkreślić, że nawet te przeciwciała nie występują u wszystkich pacjentów ze zdiagnozowaną chorobą – czyli RZS.

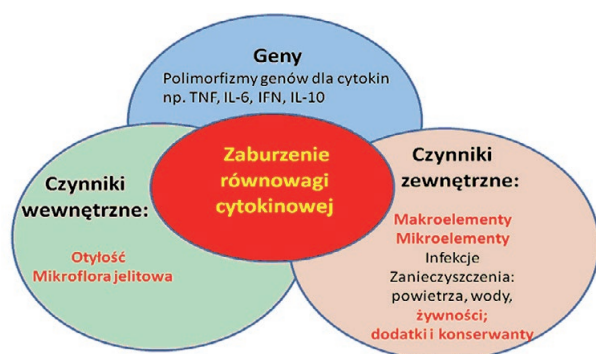
U pacjentów z RZS występują **różne subpopulacje limfocytów T**, wykazujące cechy aktywacji oraz komórki T regulatorowe, ich proporcja jest różna w zależności od wieku zachorowania, czasu trwania choroby, od zastosowanej terapii modyfikującej przebieg choroby, a także aktywności mierzonej wskaźnikiem DAS28; wykazano różnice w proporcjach komórek aktywowanych i regulatorowych na różnych etapach choroby – od wczesnego zapalenia stawów poprzez niedawno zdiagnozowany aż do ustalonego, długoletniego RZS. **Pacjenci z RZS są heterogeni także pod względem ekspresji CD28 i jej zmian pod wpływem terapii anty-TNF**, wykazano, że na podstawie liczby cząsteczek CD28 na powierzchni krążących limfocytów CD4+ T można podzielić pacjentów na dwie grupy różniące się tą liczbą, co więcej, zostało to skorelowane z efektem leczenia pierwszym przeciwciałem monoklonalnym anty-TNF (Infliksymab). Pacjenci z RZS, u których na limfocytach CD4+ występowało mniej cząsteczek CD28 lepiej odpowiadali na terapię anty-TNF, zarówno klinicznie, jak i poprzez wzrost liczby cząsteczek CD28 na tych komórkach po terapii. Zdaniem badaczy miało to związek z tym, że TNF bezpośrednio wpływa na ekspresję genu CD28, działając na etapie promotora tego genu.

U pacjentów z RZS **stężenie cytokin prozapalnych przekracza możliwości regulacyjne** procesu zapalnego. Pacjent z diagnozą RZS może mieć jednak różne stężenia poszczególnych cytokin we krwi, co zostało potwierdzone w wielu badaniach.



Jakie czynniki mogą wpływać na heterogenność immunologiczną pacjentów?

- Podłoże genetyczne (różne HLA, różne receptory TCR, różne ścieżki sygnalowania bądź polimorfizmy genów dla cytokin);
- Czynniki środowiskowe (palenie papierosów, zanieczyszczenia powietrza);
- Stan jamy ustnej;
- Stan jelit (mikrobiom);
- Styl życia (aktywność fizyczna i czynniki żywieniowe) prowadzący do nadwagi i/lub otyłości.



Jednym z najbardziej kuszących, a jednocześnie najtrudniejszych celów badań u pacjentów z RZS jest pomiar stężeń cytokin. Przyczyny heterogenności cytokin zależne są np. od czynników technicznych, w tym czasu pobierania materiału (pora dnia, ponieważ wydzielanie cytokin wykazuje zmienność dobową), miejsca pobrania materiału (krew czy staw), sposobu przechowywania próbek (dłuższe przechowywanie w temperaturze pokojowej zmniejsza to stężenie, ponieważ we krwi działają proteazy), od sposobu analizy próbek (różne techniki badania cytokin: ELISA, cytometria przepływową, luminex etc. – techniki te nie są kompatybilne i pomiar tej samej próbki surowicy w różnych laboratoriach wykazuje inne stężenia cytokin). Jednakże stężenia cytokin u pacjentów z RZS są też zależne od samej choroby, np. czasu jej trwania, aktywności choroby oraz zastosowanego leczenia i odpowiedzi pacjentów na to leczenie.

Zatem na tym etapie, mimo dużej ilości informacji badawczej dotyczącej układu odpornościowego u pacjentów z RZS, w rozwoju medycyny personalizowanej istnieje więcej pytań niż odpowiedzi. Czy możliwe jest określenie parametrów immunologicznych, które pozwolą przewidzieć, który pacjent lepiej zareaguje na konkretny lek bio-

logiczny (tzn. o różnym mechanizmie działania)? Czy dawkowanie leków biologicznych powinno być zróżnicowane w zależności od aktywności układu odpornościowego? Jak oceniać aktywność układu odpornościowego u pacjentów z RZS? Jaki przyjąć cel terapii: jeden dominujący czynnik u pacjenta czy szeroka immunosupresja (aktualne w świetle nowego leku – inhibitora kinazy Janus 3 – hamowanie cytokin typu I, ze wspólnym łańcuchem gamma).

Co mierzyć? Jak mierzyć? Gdzie mierzyć?

Próbę odpowiedzi na te pytania podjęli autorzy podsumowania różnych metaanaliz, które na podstawie immunofenotypu pacjentów z RZS próbowały przewidzieć odpowiedź na leczenie biologiczne tych pacjentów. W pracach tych najczęściej było ocen na podstawie seropozytywności, tzn. obecności przeciwciał przeciw cytrulinowym, a także biomarkerów (np. IL-6, IL-33), liczby limfocytów B, chemokiny CXCL13 oraz CCL19, liczby komórek CD8+ bądź komórek NK. Niestety, wyniki badań okazały się sprzeczne, co zapewne było zależne m.in. od heterogenności pacjentów, lecz także wynikało ze złożoności odpowiedzi immunologicznej i jej licznych interakcji.

Podsumowanie: jaka zatem jest przyszłość?

- Prawdopodobnie będzie potrzebna kombinacja wielu czynników: demograficznych, klinicznych, genetycznych, epigenetycznych, proteomicznych, markerów laboratoryjnych, funkcjonalnej immunologii, profilowania ekspresji genów (tzw. *Multiplexed Prediction Models*), aby przewidzieć odpowiedź na leczenie dla każdego indywidualnego pacjenta.

- Niezbędny jest rozwój powtarzalnych metod w fenotypowaniu komórek układu odpornościowego oraz stężeń cytokin – jest to niezbędne nie tylko do zrozumienia mechanizmów chorób, lecz także do odkrycia biomarkerów komórkowych i białkowych mogących mieć zastosowanie w celu przewidywania odpowiedzi na leczenie.

- Przyszłość medycyny personalizowanej w przewidywaniu odpowiedzi na leczenie u pacjentów np. z RZS leży prawdopodobnie w połączeniu kilku markerów komórkowych i biomarkerów rozpuszczalnych, a możliwe, że także w badaniu funkcji komórek oraz klinicznych czynników ryzyka.

Piśmiennictwo

1. Tukaj S., Kotlarz A., Jozwik A. i in.: Hsp40 proteins modulate humoral and cellular immune response in rheumatoid arthritis patients. *Cell Stress Chaperones*, 2010, 15(5): 555–566.
2. Smoleńska Ż., Pawłowska J., Dąca A. i in.: Disease activity in patients with long-lasting rheumatoid arthritis is associated with changes in peripheral blood lymphocyte subpopulations. *Pol Arch Med Wewn*, 2012, 122(12): 591–598.
3. Pawłowska J., Smoleńska Ż., Witkowski J. i in.: Different pattern of T-cell subpopulations in peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis at various stages of disease development. *Pol Arch Med Wewn*, 2014, 124(1–2): 43–50.
4. Pawłowska J., Smoleńska Ż., Dąca A. i in.: Older age of rheumatoid arthritis onset is associated with higher activation status of peripheral blood CD4(+) T cells and disease activity. *Clin Exp Immunol*, 2011, 163(2): 157–164.
5. Bryl E., Vallejo A.N., Matteson E.L. i in.: Modulation of CD28 expression with anti-tumor necrosis factor alpha therapy in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, 2005, 52(10): 2996–3003.
6. Bryl E., Vallejo A.N., Weyand C.M. i in.: Down-regulation of CD28 expression by TNF-alpha. *J Immunol*, 2001, 167(6): 3231–3238.
7. Tukaj S., Kotlarz A., Jóźwik A. i in.: Cytokines of the Th1 and Th2 type in sera of rheumatoid arthritis patients; correlations with anti-Hsp40 immune response and diagnostic markers. *Acta Biochim Pol*, 2010, 57(3): 327–332.
8. Kosmaczewska A., Swierkot J., Ciszak L. i in.: Patients with the most advanced rheumatoid arthritis remain with Th1 systemic defects after TNF inhibitors treatment despite clinical improvement. *Rheumatol Int*, 2014, 34(2): 243–253.
9. Brzustewicz E., Bryl E.: The role of cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. Practical and potential application of cytokines as biomarkers and targets of personalized therapy. *Cytokine*, 2015, 76(2): 527–536.
10. Brzustewicz E., Bzoma I., Dąca A. i in.: Heterogeneity of the cytokinome in undifferentiated arthritis progressing to rheumatoid arthritis and its change in the course of therapy. *Move toward personalized medicine. Cytokine*, 2017, 97: 1–13.
11. Mulhearn B., Barton A., Viatte S.: Using the Immunophenotype to Predict Response to Biologic Drugs in Rheumatoid Arthritis. *J Pers Med*, 2019, 9(4): 46.

Leczenie COVID-19 metodą podania osocza ozdrowieńców

dr hab. n. med. Krzysztof Tomasiewicz, prof. UM

Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

COVID-19 treatment with convalescent plasma

Abstract

So far there are no specific clinically proved antiviral treatment for new coronavirus SARS-CoV-2 infection. The most advanced clinical trials are for remdesivir, but the final results are awaited. Use of antibodies from blood donated by people who recovered from the illness is naturally considered method for COVID-19 treatment, with recombinant polyclonal antibody approaches to follow. The first reports of the use of convalescent plasma transfusions to treat COVID-19 came from case series, but their outcomes are encouraging. There is a number of clinical trials and results are expected to confirm effectiveness and safety. The main problems seems to be the method for neutralizing antibodies titrating and risk of virus mutation.

Wprowadzenie

Zakażenie SARS-CoV-2 powodujące COVID-19 jest dotychczas największym wyzwaniem w zakresie zdrowia publicznego w XXI wieku. Pierwsze przypadki infekcji tym wirusem odnotowano pod koniec 2019 r. w mieście Wuhan, które jest uważane za źródło epidemii w Chinach. W dniu 11 marca 2020 r. WHO ogłosiła, że COVID-19 ma znamiona pandemii. Choroba dotarła do większości krajów na świecie. Zakażonych zostało co najmniej 12 mln 700 tys. osób, z których ponad 565 tys. zmarło (dane z 13.07.2020 r.).

Najbardziej predysponowane do ciężkiego przebiegu choroby są osoby starsze, ze schorzeniami współistniejącymi, takimi jak choroby układu oddechowego, cukrzyca, stan immunosupresji. Chociaż SARS-CoV-2 wywołujący COVID-19 rozprzestrzenił się praktycznie na całym świecie, nie ma obecnie skutecznych metod immunoprofilaktyki czynnej oraz dostępnych celowanych leków przeciwwirusowych. Z uwagi na dużą umieralność, zwłaszcza w niektórych grupach pacjentów, niezwykle istotne jest pilne opracowanie schematów terapeutycznych.

Spośród leków powszechnie używanych w leczeniu COVID-19 stosowane są zarówno preparaty przeciwwirusowe, które wykazały się pewnego stopnia sku-

tecznością w innych zakażeniach wirusowych (przede wszystkim remdesiwir, a w mniejszym stopniu lopinawir/ritonawir i rybawiryna), jak też leki stosowane w innych wskazaniach terapeutycznych, w przypadku których istnieją podstawy teoretyczne sugerujące ich działanie w infekcji SARS-CoV-2. Wśród tych ostatnich na plan pierwszy wybija się chlorochina i hydroksychlorochina. Mimo pojawiających się wątpliwości co do skuteczności i bezpieczeństwa tych terapii, doświadczenia licznych ośrodków, a także własne pozwalają na stwierdzenie, że leki te odegrały swoją pozytywną rolę w dotychczasowej praktyce klinicznej, a głównym wyzwaniem dla lekarzy była konieczność monitorowania potencjalnych działań niepożądanych oraz interakcji lekowych, zwłaszcza w zakresie negatywnego wpływu na układ krążenia.

Zastosowanie surowicy ozdrowieńców w leczeniu COVID-19

Zupełnie odmienną koncepcją terapeutyczną jest stosowanie surowicy ozdrowieńców, czyli osób, które przebyły zakażenie i wyeliminowały wirus, a w ich surowicy pojawiły się swoiste przeciwciała przeciwko SARS-CoV-2. Bierna terapia przeciwciałami ma swoje początki w końcu XIX w.

i była szeroko stosowana w wieku XX w leczeniu odry, zakażenia wirusem *poliomyelitis* i grypy. Na niewielką skalę wykorzystywano ją też podczas epidemii SARS i MERS. Ta forma immunizacji znajduje zastosowanie również w profilaktyce zakażeń. Bierne podawanie przeciwciał jest jedynym sposobem zapewnienia natychmiastowej odporności osobom podatnym na zakażenie. Doświadczenia pochodzące z poprzednich epidemii koronawirusów takich jak SARS i MERS pokazują, że w surowicy krwi osób, które wyzdrowiały, znajdują się przeciwciała przeciwko tym wirusom. Bezpośrednio po wyleczeniu oraz w okresie rekonwalescencji we krwi pacjentów występują wysokie miana swoistych przeciwciał, które zostały wytworzone w odpowiedzi na zakażenie SARS-CoV-2. Metaanalizy badań dotyczących zakażenia koronawirusem SARS lub grypą wykazały statystycznie istotne zmniejszenie śmiertelności wśród pacjentów, którym podawano osocze bądź przeciwciała odpornościowe ozdrowieńców, w porównaniu z chorymi, u których nie stosowano terapii lub podawano placebo.

Spośród dotychczas opublikowanych doniesień jako pierwsze powstały dwie prace z ośrodków chińskich, przedstawiające wstępne wyniki oceny efektu terapeutycznego osocza ozdrowieńców podanego łącznie 15 pacjentom z rozpoznaniem COVID-19 powikłanym ARDS. Zastosowanie osocza zawierającego przeciwciała spowodowało poprawę ich stanu zdrowia. Szpital Houston Methodist, po uzyskaniu zgody wydanej przez FDA (28 marca 2020 r.), stał się pierwszym akademickim ośrodkiem medycznym w Stanach Zjednoczonych, który zastosował metodę leczenia osoczem u dwóch pacjentów z COVID-19 o ciężkim przebiegu. Opublikowana 3 lipca 2020 metaanaliza badań z zastosowaniem osocza ozdrowieńców wykazała, że na świecie przeprowadzono 20 badań, które objęły łącznie 5211 pacjentów. Spośród nich zaledwie jedno badanie, z udziałem 52 pacjentów, nosi znamiona badania klinicznego randomizowanego. Na tej podstawie na razie nie można sformułować ostatecznych wniosków, co nie zmienia faktu, że obserwacje z wielu ośrodków są bardzo zachęcające.

Przebieg zakażenia COVID-19 jest powszechnie definiowane jako dwukrotny negatywny wynik badania w kierunku obecności SARS-CoV-2 RNA w wymazie z nosogardła. Osocze jest uzyskiwane metodą plazmaferezy w ilości 400–600 ml. Dla dawców, u których rozpoznano zakażenie SARS-CoV-2, kwalifikacja do pobrania krwi jest przeprowadzana po upływie od dwóch tygodni do miesią-

ca od uzyskania dwóch wyników ujemnych. Dawców kwalifikuje się w ramach procedury Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecnicstwa, rozszerzonych o SARS-CoV-2 RNA oraz przeciwciała anty-SARS-CoV-2 w klasie IgG. Donacje mogą być powtarzane z częstością nie większą niż raz na dwa tygodnie. Osocze dawców powinno zawierać przeciwciała przeciw SARS-CoV-2 w klasie IgG w mianie minimum 1 : 160 (według zaleceń FDA) lub 1 : 320 (według zaleceń Komisji Europejskiej) w teście ELISA. Problem jednak polega na tym, że nie ma powszechnie dostępnych testów immunoenzymatycznych lub pokrewnych, które w sposób wiarygodny oznaczałyby ilościowo poziom swoistych IgG, zwłaszcza przeciwciał o właściwościach neutralizujących.

Pierwsze przetoczenie osocza ozdrowieńców w Polsce miało miejsce 21 kwietnia 2020 r. w Klinice Chorób Zakaźnych w Lublinie. Uzyskano szybkie całkowite ustąpienie objawów klinicznych i negatywizację badania genetycznego SARS-CoV-2 po upływie dwóch tygodni. Od tego czasu w licznych ośrodkach z powodzeniem stosowano tę metodę leczenia, przy czym istnieją dość zgodne obserwacje, że osoczoterapia jest mało przydatna w krajowym stadium COVID-19, a najlepsze efekty pozwala osiągać na etapie narastania objawów klinicznych, w tym niewydolności oddechowej, i zwiększania poziomu parametrów zapalnych.

Jeszcze bardziej zaawansowaną formą immunoterapii jest stosowanie swoistej immunoglobuliny, a prace nad tym zagadnieniem toczą się w kilku ośrodkach na świecie, w tym w ramach projektu finansowanego przez Agencję Badań Medycznych, prowadzonego przez SPSK-1 w Lublinie, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie oraz firmę biotechnologiczną Biomed Lublin.

Podstawowym problemem, który dotychczas nie znalazł jednoznacznego rozwiązania, jest w przypadku COVID-19 kwestia indukcji tworzenia przeciwciał neutralizujących. Wyniki badań nad tym zagadnieniem w infekcjach SARS-CoV-1 oraz MERS-CoV wskazują, że specyficzne przeciwciała przeciwko białku S jako jedyne mają właściwości neutralizujące. Podjednostka S1 białka S SARS-CoV-2 łączy się z receptorem ACE2 (*angiotensin-converting enzyme 2*) obecnym m.in. na komórkach nabłonka pęcherzyków płucnych, co umożliwia wniknięcie wirusa do komórki docelowej. Wydaje się więc, że przeciwciała skierowane przeciwko temu białku mogą odgrywać kluczową rolę w odporności na COVID-19. Wspomniane wyżej badania nad „starszymi” koronawirusami wykazały, że liczne

fragmenty białka S – m.in. S1-NTD, RBD, S2 – mogą stymulować powstawanie przeciwciał neutralizujących.

Ze wspomnianym problemem wiąże się również zagadnienie zmienności genetycznej SARS-CoV. Badania z ostatnich tygodni w sposób jednoznaczny wskazują na obecność wariantów genetycznych wirusa. Na ile mogą one warunkować nieskuteczność odpowiedzi humoralnej – pozostaje kwestią otwartą. Lim i wsp. sugerują, że mutacje te w zasadniczym stopniu dotyczą genu ORF7a, czyli „oszczędzałyby” gen S. Wymaga to jednak dalszych badań, tym bardziej, że jak wykazał Pachetti i wsp., istnieje w tym zakresie duża różnorodność geograficzna, a ponadto proces ma charakter dynamiczny i sytuacja zmienia się z miesiąca na miesiąc.

Podsumowanie

Reasumując, pierwsze wyniki badań nad zastosowaniem osocza zawierającego anty-SARS-CoV-2 w walce z COVID-19 są bardzo obiecujące. Ich potwierdzenie w dalszych badaniach mogłoby oznaczać, że po przebytych zakażeniu rozwija się odporność na reinfekcję SARS-CoV-2. Trudno jednak obecnie ocenić, czy specyficzne przeciwciała anty-SARS-CoV-2 w klasie IgG będą spełniały funkcje ochronne przez wiele lat. Na seroprotekcję wywiera wpływ wiele czynników. Jeśli nowy koronawirus będzie często mutował, powstałe podczas wcześniejszej infekcji przeciwciała mogą być niewystarczające w walce z kolejnym nowym szczepem SARS-CoV-2.

Piśmiennictwo

1. Siddiqi H.K., Mehra M.R.: COVID-19 illness in native and immunosuppressed states: A clinical-therapeutic staging proposal. *J Heart Lung Transplant*, 2020; 39: 405–407.
2. Shen C., Wang Z., Zhao F. i in.: Treatment of 5 Critically Ill Patients With COVID-19 With Convalescent Plasma. *JAMA*, 2020, 323(16): 1582–1589.2020.
3. Zhang B., Liu S., Tan T. i in.: Treatment with convalescent plasma for critically ill patients with SARS-CoV-2 infection. *Chest*, 2020, 158(1): e9–e13, doi: 10.1016/j.chest.2020.03.039.
4. Salazar E., Perez K.K., Ashraf M. i in.: Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Patients with Convalescent Plasma. *Am J Pathol*, 2020 May 27, S0002–9440(20)30257–1. doi: 10.1016/j.ajpath.2020.05.014; ahead of print.
5. Jiang S., Hillyer C., Du L.: Neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 and other human coronaviruses. *Trends Immunol*, 2020; 41(5): 355–359.
6. Holland L.A., Kaelin E.A., Maqsood R. i in.: An 81-Nucleotide Deletion in SARS-CoV-2 ORF7a Identified from Sentinel Surveillance in Arizona (January to March 2020). *J Virol*, 2020, 94(14): e00711–20.
7. Pachetti M., Marini B., Benedetti F. i in.: Emerging SARS-CoV-2 mutation hot spots include a novel RNA-dependent-RNA polymerase variant. *J Transl Med*, 2020, 18(1): 179–188.

PATRONAT

Polskie Towarzystwo Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej



SPONSORZY

ALAB[®]
Quality and innovation in scientific research

CSL Behring

MPW[®]
MED. INSTRUMENTS

OLYMPUS[®]

ORGANIZATORZY

medipage
wydawnictwo medyczne

 **medmedia**

OBSŁUGA TECHNICZNA

studio
apla
press