

Cel projektu

Zakażenie wirusem zapalenia wątroby typu C (HCV), wywołujące wirusowe zapalenie wątroby typu C (wzw C), dotyczy ok. 170 mln osób na świecie. Stanowi ono ważny problem medyczny, gdyż może prowadzić do poważnych następstw, takich jak niewydolność wątroby oraz rak wątrobowo-komórkowy. Skryty przebieg zakażenia, ograniczony dostęp do nowoczesnego leczenia, jak i brak szczepionki są powodem ciągłego rozprzestrzeniania wirusa na świecie. Ponadto, coraz częściej obserwowane jest jednoczesne zakażenie ludzkim wirusem niedoboru odporności (HIV-1) i HCV, co pogarsza przeżywalność pacjentów oraz skuteczność leczenia przeciwwirusowego HCV.

Nabyta odpowiedź odpornościowa związana z aktywnością komórek T cytotoksycznych odgrywa bardzo ważną rolę dla następstw zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu C (HCV). Około 20-50% zakażonych, dzięki silnej, wielospecyficznej odpowiedzi tych komórek, spontanicznie eliminuje zakażenie. Przeciwnie, w przewlekłym wzw C wykazano występowanie słabej odpowiedzi komórek T względem wirusa, polegającej na ich funkcjonalnym „wyczerpaniu”. Obserwuje się bowiem pogorszenie wydzielania czynników zapalnych (IFN- γ , TNF- α i IL-2), zdolności niszczenia zakażonych komórek oraz możliwości namnażania komórek T po rozpoznaniu wirusa. Zaburzenia te, wywołane przewlekłym pobudzeniem układu immunologicznego, postępują w miarę trwania zakażenia i charakteryzują się nadmiarem specyficznych receptorów PD-1 i Tim-3 na powierzchni komórek T, w tym specyficznych dla HCV, które „hamują”: zdolność do namnażania, niszczenia zakażonych komórek oraz wydzielanie czynników zapalnych. Co więcej, następuje zwiększone wydzielanie cytokin przeciwzapalnych (głównie IL-10).

Jak dotychczas, badania nad „wyczerpaniem” komórek T w zakażeniu HCV opierały się na określeniu mechanizmów, stopnia odwracalności oraz wpływu tego zjawiska na rozwój zakażenia przewlekłego, podczas gdy brak danych o innych następstwach. Zwłaszcza, czy istnieje związek między „wyczerpaniem” komórek T a poziomem różnorodności immunogennych fragmentów białek (epitopów) wirusa rozpoznawanych przez te komórki. Ponadto, jak leczenie przeciwwirusowe w kierunku zakażenia HCV modyfikuje „wyczerpanie” komórek T.

Celem przedstawionego projektu jest określenie:

1. związku między „wyczerpaniem” komórek T a stopniem różnorodności immunogennych fragmentów białek wirusa zapalenia wątroby typu C rozpoznawanych przez komórki T u pacjentów z zakażeniem HCV oraz ze współzakażeniem HIV-1/HCV;
2. jak leczenie przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu C wpływa na stopień „wyczerpania” komórek T u pacjentów z zakażeniem HCV oraz ze współzakażeniem HIV-1/HCV.

Badania

Badania zostaną wykonane u 100 pacjentów poddawanych leczeniu wzw C z przewlekłym zakażeniem HCV oraz 50 pacjentów ze współzakażeniem HIV-1/HCV. Wskaźniki „wyczerpania” komórek T zostaną zbadane przed leczeniem oraz sześć miesięcy od jego zakończenia, gdy oceniany jest wynik terapii.

Ocena wskaźników „wyczerpania” immunologicznego komórek T u badanych pacjentów zostanie wykonana poprzez:

- 1) analizę ekspresji genów dla receptorów hamujących (PD-1, Tim-3) oraz dla IL-10 w komórkach leukocytarnych krwi obwodowej;
- 2) analizę ekspresji receptorów hamujących PD-1 oraz Tim-3 na komórkach T oraz HCV-specyficznych komórkach cytotoksycznych T izolowanych z krwi obwodowej;
- 3) analizę poziomu IL-10 w osoczu krwi.

Ocena stopnia różnorodności genów kodujących immunogenne fragmenty białek wirusa zapalenia wątroby typu C rozpoznawanych przez komórki T (białko NS3/4a HCV) będzie wykonana za pomocą nowo dostępnej techniki sekwencjonowania następnej generacji, która umożliwia jednoczesne uzyskanie milionów sekwencji genu. Następnie, wykonana zostanie analiza parametrów zmienności odtworzonych wariantów epitopów za pomocą programów bioinformatycznych. Różnice w stopniu ekspresji wskaźników „wyczerpania” zostaną porównane z różnicami w stopniu różnorodności epitopów oraz efektem leczenia przeciwwirusowego HCV.

Powody podjęcia proponowanego zagadnienia naukowego

Rozwój technik laboratoryjnych stwarza nowe możliwości badania układu odpornościowego oraz cech wirusów. Związek pomiędzy różnorodnością epitopów HCV oraz jej wpływ na funkcje odpornościowe są słabo poznanym, a prawdopodobnie niezwykle istotnym zjawiskiem odpowiedzialnym za przebieg zakażenia. Lepsze ich zrozumienie może mieć doniosłe znaczenie poznawcze, a w dalszej perspektywie może przyczynić się do opracowania lepszych programów leczenia oraz szczepionki, dzięki którym możliwe będzie zmniejszenie obciążeń wynikających z zakażeń, takich jak hospitalizacje, skutki uboczne leczenia oraz odsetek śmiertelności.