

**POWODY PODJĘCIA TEMATYKI BADAWCZEJ I CEL PROJEKTU:** Pandemia COVID-19 (ang. coronavirus disease 2019) uświadomiła całemu światu, jak ważne jest prawidłowe funkcjonowanie układu odpornościowego, zwłaszcza u osób starszych i cierpiących na przewlekłe schorzenia. Nawracające zakażenia stanowią istotny problem kliniczny u chorych na przewlekłą białaczkę limfocytową (PBL), stanowiąc najczęstszą, przyczynę śmiertelności tej grupy pacjentów. Szczególnie często chorzy doświadczają objawów infekcji dróg oddechowych, których jedną z najważniejszych przyczyn jest obecnie SARS-CoV-2 (ang. severe acute respiratory syndrome coronavirus 2). Obserwacja kliniczna autora projektu, pokazała, że istotny odsetek chorych na PBL nie jest w stanie wyeliminować SARS-CoV-2 znacznie dłużej w porównaniu z osobami zdrowymi (nawet ponad 4 miesiące) i doświadcza objawów zakażeń nie tylko dłużej niż osoby w populacji ogólnej, ale również przebyta infekcja może doprowadzić do rozwoju wielu powikłań narządowych lub – w dłuższej perspektywie – prawdopodobnie również szybszej progresji PBL. Niezależnie od obecnej pandemii, istotnym problemem u osób z zaburzoną funkcją układu odpornościowego od wielu lat pozostaje wysoce onkogenny wirus Epsteina-Barr (EBV), który infekuje ponad 90% populacji światowej i – po pierwotnym zakażeniu – przechodzi w stan uśpienia. U chorych z zaburzonym funkcjonowaniem układu odpornościowego, zwłaszcza interferonopatiami, wirus ulega reaktywacji i jest przyczyną wielu zaburzeń, włącznie z rozwojem nowotworów. Długotrwała stymulacja antygenowa, indukowana reaktywacją EBV i/lub innymi przewlekłymi/nawracającymi infekcjami, może prowadzić do rozwoju „anergii” odpowiedzi swoistej oraz wykształcenia „profilu immunologicznego ryzyka”, obserwowanego często u osób w starszym wieku, w tym u chorych na PBL. Celem przedstawionego projektu jest ocena przebiegu zakażenia SARS-CoV-2 u chorych na PBL w zależności od wykładników zaburzeń odporności i związanej z tym reaktywacji infekcji EBV, ze szczególnym uwzględnieniem roli interferonów jako naturalnych związków o potencjale terapeutycznym. Wstępne obserwacje autora projektu wykazały, że chorzy na PBL, u których doszło do ciężkich, w tym śmiertelnych powikłań zakażenia SARS-CoV-2, cechowali się brakiem zdolności do produkcji interferonu alfa i gamma oraz wykazywali cechy przewlekłej reaktywacji zakażenia wirusem EBV. W świetle własnych obserwacji, doniesień innych autorów, a także opublikowanym przez nasz zespół opisem przypadku skutecznej terapii interferonem alfa (z wykorzystaniem również metody nebulizacji) u pacjentki z rozpoznaniem przewlekłego aktywnego zakażenia EBV, wydaje się zasadna szczegółowa ocena roli, jaką w terapii zakażeń wirusowych u chorych z interferonopatiami może odegrać terapia interferonami.

**OPIS BADAŃ:** Realizacja projektu zostanie przeprowadzona w warunkach *ex vivo* (chorzy na PBL oraz osoby zdrowe) oraz *in vitro* i *in vivo* w modelu zwierzęcym Danio pręgowanego. Grupę badaną będzie stanowić 200 chorych na PBL (100 chorych z reaktywacją zakażenia EBV oraz 100 bez cech reaktywacji), którzy są w okresie klinicznym, niewymagającym jeszcze wdrożenia leczenia PBL. Grupę kontrolną stanowić będzie 100 osób zdrowych, dopasowanych pod względem płci i wieku do chorych na PBL. Zakładamy 3-letni okres obserwacji powyższych grup. W badaniach wykorzystane zostaną metody biologii molekularnej – ekspresja genów kodujących receptory wrodzonej odpowiedzi, interferony oraz cząsteczki świadczące o anergii komórkowej. Równocześnie badane cząsteczki ocenimy metodą wielokolorowej cytometrii przepływowej. Poddamy porównaniu odpowiedź humoralną i komórkową u osób, które przebyły infekcję SARS-CoV-2 oraz u osób, które zostały lub zostaną zaszczepione przeciwko COVID-19.

**NAJWAŻNIEJSZE SPODZIEWANE EFEKTY:** Szczegółowa analiza związku pomiędzy przebiegiem klinicznym zakażenia SARS-CoV-2 a wybranymi parametrami odpowiedzi odpornościowej u chorych na PBL pozwoli na wyróżnienie grupy pacjentów z interferonopatiami, która jest szczególnie predysponowana do ciężkiego przebiegu zakażeń wirusowych. Ocena trwałości odpowiedzi komórkowej (komórki pamięci) i humoralnej po przebyciu zakażenia SARS-CoV-2 w odniesieniu do okresu utrzymywania się wykładników należytej reakcji immunologicznej na wykonane szczepienia ochronne anty-SARS-CoV-2, pozwoli ocenić efektywność szczepionek u chorych na PBL. Model zwierzęcy Danio pręgowanego z wszczepionymi komórkami PBL posłuży jako odzwierciedlenie procesów zachodzących w organizmie ludzkim, pod wpływem podawania interferonów w zależności od występowania wykładników reaktywacji EBV i koinfekcji SARS-CoV-2. Badania wstępne pozwalają sądzić, że z heterogennym przebiegiem PBL związane są nie tylko uznane czynniki rokownicze, ale także defekty układu odpornościowego, w tym obniżona sekrecja interferonów w odpowiedzi na zakażenia, manifestujące się głównie reaktywacją EBV. Gdyby wyniki potwierdziły rolę równoczesnego zakażenia SARS-CoV-2 oraz reaktywacji EBV w progresji PBL, mogłoby to wytyczyć nowe kierunki badań i przyczynić się do opracowania skutecznych strategii immunomodulacji. Realizacja projektu pozwoli na opracowanie przesłanek do ustalenia schematu postępowania diagnostycznego, który wyłoni chorych na PBL o szczególnym ryzyku najpoważniejszych powikłań zakażenia SARS-CoV-2, pozwoli zoptymalizować strategię szczepień ochronnych oraz zapewnić efektywną stymulację układu odpornościowego przy użyciu interferonów.