

Pospolity zmienny niedobór odporności (CVID) jest najczęstszym objawowym pierwotnym niedoborem wytwarzania przeciwciał, heterogennym pod względem klinicznym, immunologicznym i genetycznym. Stopień zaburzeń immunologicznych i przebieg kliniczny CVID u dzieci jest zróżnicowany i poza zwiększoną predyspozycją do zakażeń, CVID cechuje się zaburzeniami homeostazy immunologicznej i stąd do obrazu klinicznego CVID należą także procesy autoimmunizacyjne, alergiczne, autozapalne i limfoproliferacyjne. Niedobór wytwarzania przeciwciał w CVID jest wspólnym mianownikiem dla licznych odmiennych postaci klinicznych i odzwierciedla złożoność relacji genotyp – fenotyp immunologiczny. Badania genetyczne u dzieci z CVID przyczynią się do lepszego zrozumienia immunopatogenezy tego schorzenia, określą znaczenie monogenowego podłoża w CVID u dzieci i umożliwią zdefiniowanie korelacji pomiędzy genotypem a fenotypem immunologicznym i klinicznym. Podkreślenia wymaga także wartość prognostyczna badań genetycznych u dzieci z CVID i ich znaczenie w wykluczeniu wpływu wczesnodziecięcej niedojrzałości odpowiedzi immunologicznej. Identyfikacja monogenowego podłoża CVID u dzieci miałaby szczególnie cenne znaczenie rokownicze i ułatwiające decyzje terapeutyczne, a w perspektywie długofalowej – także opracowanie innowacyjnych, zindywidualizowanych metod leczenia w oparciu o osiągnięcia medycyny precyzyjnej i terapię genową.

Do projektu zaplanowano włączenie 100 dzieci, w wieku od 4 do 18 lat, diagnozowanych i leczonych z powodu niedoboru biosyntezy przeciwciał. Wszystkie badania kliniczne, immunologiczne i genetyczne przeprowadzone będą zgodnie ze standardami etycznymi Deklaracji Helsińskiej z 1964r i jej późniejszymi poprawkami, po uzyskaniu zgody Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego. U wszystkich dzieci przeprowadzona zostanie ocena kliniczna i immunodiagnostyczna, z uwzględnieniem zakażeń, schorzeń autoimmunizacyjnych i autozapalnych oraz objawów dysregulacji immunologicznej i patologii narządowo-swoistej. Molekularna analiza genetyczna przeprowadzona będzie w celu identyfikacji monogenowego podłoża CVID i oparta o zaawansowaną metodę sekwencjonowania całokosmowego (WES). Badanie WES obejmować będzie geny, kodujące receptory, ligandy oraz cząsteczki związane z wewnątrzkomórkowym przewodzeniem sygnału, zaangażowane w procesy różnicowania, dojrzewania i aktywacji limfocytów B, takie jak *ICOS*, *TNFRSF 13B* (TACI), *TNFRSF 13C* (BAFF-R), *TNFSF 12* (TWEAK), *CD19*, *CD81*, *CR2* (CD21), *MS4A 1* (CD20), *TNFRSF 7* (CD27), *IL21*, *IL21R*, *LRBA*, *CTLA4*, *PRKCD*, *PLCG2*, *NFKB1*, *NFKB2*, *PIK3CD*, *PIK3R1*, *VAV1*, *RAC2*, *BLK*, *IKZF1* (IKAROS), *IRF2BP2*, *BACH2* oraz *STAT3*. Metoda WES umożliwi również wykrycie rzadkich patogennych wariantów związanych ze złożonym fenotypem CVID.

Jednakże, pomimo częstego występowania CVID wśród pierwotnych niedoborów odporności oraz postępów immunogenetyki i poszerzania spektrum kandydackich genów, monogenowe podłożo CVID jest stwierdzane w oparciu o identyfikację patogennych wariantów genetycznych u zaledwie 15% pacjentów. Ponadto, dziedziczenie CVID u większości pacjentów nie przebiega zgodnie z klasycznymi prawami Mendla, co sugeruje podłożo wieloczynnikowe, dwugenowe, poligenowe, współstnienie rzadkich wariantów funkcjonalnych, lub też, że czynniki epigenetyczne odgrywają rolę w regulacji różnicowania i funkcji limfocytów B. Spośród czynników epigenetycznych, microRNA (miRNA) odgrywają rolę w regulacji ekspresji genów warunkujących rozwój i czynnościowe dojrzewanie limfocytów B, stąd zaburzenia regulacji miRNA mogą przyczyniać się do zaburzeń odpowiedzi immunologicznej i wytwarzania przeciwciał. Jako że CVID nie jest związane z zaburzeniami pojedynczego genu, stąd u wszystkich dzieci z CVID, zaplanowano badanie ekspresji miRNAz zastosowaniem specyficznego dla limfocytów profilu miRNA. U tych dzieci, u których stwierdzona będzie dysregulacja ekspresji miRNA, przeprowadzona zostanie analiza funkcjonalna in vitro wpływu modyfikacji ekspresji miRNA na proliferację i apoptozę limfocytów oraz wytwarzanie cytokin.

Nowatorski aspekt projektu polega nie tylko na molekularnej analizie genetycznej w celu stwierdzenia monogenowej immunopatogenezy CVID u dzieci, ale także na badaniu epigenetycznej regulacji ekspresji miRNA u tych dzieci, u których nie stwierdzono patogennej mutacji. Podkreślenia wymaga fakt, że takie kompleksowe badania genetyczno-epigenetyczne w korelacji z fenotypem immunologicznym nie były dotychczas prowadzone u dzieci dotkniętych CVID.

Wykazanie dysregulacji ekspresji miRNA służyć będzie opracowaniu innowacyjnych, zindywidualizowanych biomarkerów CVID u dzieci. Będzie ono także pomocne w zdefiniowaniu działań profilaktycznych i zasad prewencji we wczesnym dzieciństwie w celu złagodzenia przebiegu choroby i zmniejszenia ryzyka powikłań. W dalszej perspektywie przyczyni się do opracowania nowych leków o działaniu modyfikującym wpływ miRNA na ekspresję genów.