

IMMUNOLOGIA

Zwycięstwa i klęski w grach SARS-CoV-2

Immunolog i mikrobiolog prof. dr hab. n. med. Janusz Marcinkiewicz, kierownik Katedry Immunologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego¹, oraz dr n. med. Tomasz Stokłosa z Zakładu Immunologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, kierownik Pracowni Biologii i Genetyki Molekularnej Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego WUM², wskazują główne elementy przebiegu zakażenia SARS-CoV-2 i odpowiedzi immunologicznej na poziomie klinicznym i molekularnym.

W krwi chorych na COVID-19 obserwuje się charakterystyczne dla zakażenia wirusowego zmiany immunologiczne: podwyższony poziom komórek produkujących przeciwciała ASC (aktywowanych limfocytów B), aktywowanych limfocytów pomocniczych T CD4+ i limfocytów cytotoksycznych T CD8+ oraz przeciwciał IgM i IgG, komponentów układu immunologicznego, które wiążą SARS-CoV-2. Utrzymują się one kilka dni po ustaniu objawów. To jeden z wielu opisów immunologów doświadczalnych w rozpoznawaniu patomechanizmów zakażenia i odporności przeciwwirusowej, informacji kluczowych dla poszukiwania szczepionki i leków na COVID-19.

Odpowiedź immunologiczna w COVID-19

Artykuł grupy naukowców z Australii kierowanych przez dr K. Kędziarską³ opisujący cechy odpowiedzi immunologicznej u osoby zakażonej, u której choroba nie miała ciężkiego przebiegu i doszło do wyleczenia, zainspirował dr. Stokłosę do postawienia hipotezy, że tak właśnie przebiega zakażenie SARS-CoV-2 u większości ozdrowieńców². „U chorej na Covid-19, u której rozwinęła się skuteczna odpowiedź immunologiczna, zaobserwowano typowe cechy aktywacji odpowiedzi immunologicznej, komórkowej i humoralnej. Wystąpiły znane cechy aktywacji układu odpornościowego i masywna ekspansja klonalna limfocytów TC”. Jako immunologa dr. Stokłosę interesowało, czy przebieg zakażenia SARS-CoV-2 i reakcja ze strony układu odpornościowego były typowe czy wyjątkowe na tle innych infekcji wirusowych. „W zakażeniach wirusowych do skutecznej eliminacji niezbędna jest odpowiedź komórkowa, z limfocytami T cytotoksycznymi jako ramieniem efektorowym. Odpowiedź humoralna w zakażeniach wirusowych pełni istotną rolę w odpowiedzi wtórnej, chroniąc nas przed powtórny zakażeniem, ale dopiero po przechorowaniu zakażenia (lub po otrzymaniu skutecznej szczepionki)” – napisał dr Stokłosa. Przypomniał też, że zazwyczaj mechanizmy odporności nieswoistej – komórki NK czy interferony – nie są wystarczające w przypadku zakażenia nowym wirusem. „Układ odpornościowy musi roz-

winać swoistą odpowiedź ze strony limfocytów T cytotoksycznych – TC, mających zdolność do rozpoznania peptydu pochodzącego z wirusa na powierzchni zakażonej komórki, a konkretnie w rowku MHC klasy I, czyli cząsteczki głównego układu zgodności tkankowej. Wszystkie nasze komórki mają na swojej powierzchni takie cząsteczki, a jeśli dojdzie do zakażenia wirusem, obligatoryjnym pasożytem wewnątrzkomórkowym, to białka wirusowe (podobnie jak białka komórkowe) są cięte w proteasomie na krótkie peptydy i dostają się do szlaku prezentacji antygenów endogennych w MHC klasy I. Dopiero wtedy nasze limfocyty mają szansę rozpoznać zakażoną komórkę i zniszczyć ją, wydzielając ziarnistości o charakterze cytolytycznym lub aktywując w takiej komórce programowaną śmierć, czyli apoptozę, przez receptory takie jak FAS. Równoległe do rozwijania się odpowiedzi komórkowej rozwija się odpowiedź humoralna, oparta najpierw o typowe dla odpowiedzi pierwotnej przeciwciała IgM, które następnie są przełączane na inne klasy, w przypadku zakażenia wirusem obecnym w krwi będą to głównie IgG. Co ważne, odpowiedź humoralna w zakażeniach wirusowych najczęściej jest kluczowa w odpowiedzi wtórnej, czyli zabezpiecza nas po przechorowaniu zakażenia (lub po otrzymaniu skutecznej szczepionki). Aby doszło do rozwoju skutecznej odpowiedzi immunologicznej, potrzebna jest sekwencja zdarzeń (kilkadziesiąt godzin, najczęściej kilka – kilkanaście dni), co stanowi zasadniczy problem, jeśli w tym czasie wirus sparaliżuje kluczowe dla życia procesy, jak oddychanie”².

Płuca – cel wirusa

– Patomechanizm wirusa SARS-CoV-2 wywołującego COVID-19 jest przedmiotem wielu analiz – opublikowano już ok. 10 tys. prac na temat COVID-19. Zdarza się jednak, że analizują one jeden przypadek – mówi prof. Marcinkiewicz. – Patomechanizm ten jest dość dobrze poznany także dzięki analogiom COVID-19 do innych zakażeń wirusowych powodowanych przez SARS-CoV(-1) lub MERS-CoV, a także przez wirusa ebola. Dzieli z nimi zdolność do niekontrolowanej aktywacji układu



Kiedy pacjent nie ma swoistych przeciwciał i swoistych limfocytów T cytotoksycznych, zakażenie SARS-CoV-2 jest groźne, ponieważ jeżeli nie poradzi sobie z nim odporność wrodzona, może przejść w ciężkie zapalenie płuc

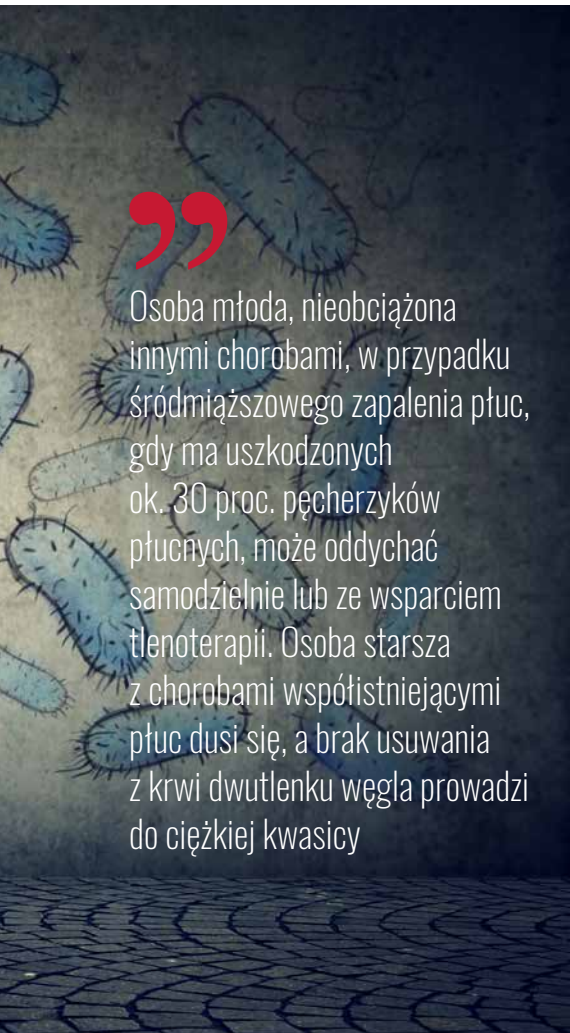
odpornościowego i masywnego odczynu zapalnego. Koronawirus SARS-CoV-2 szybko się namnaża na nabłonku górnych dróg oddechowych, gwałtownie przedostaje się do dalszych narządów, a pacjenci umierają na skutek burzy cytokinowej, czyli nadmiernego uwalniania mediatorów odczynu zapalnego, prowadzącej do krytycznego stresu oksydacyjnego i zakrzepicy – wyjaśnia.

Po przeanalizowaniu wielu prac naukowych pod kątem wirerii w COVID-19 okazało się, że wirusa wyizolowano we krwi tylko u 1 proc. pacjentów. Profesor Marcinkiewicz uważa, że może to wskazywać na to, że droga wirerii (namnażania się wirusa we krwi) dla SARS-CoV-2 nie jest najistotniejsza. Po namnożeniu w górnych drogach oddechowych zakaża on ich dolne partie: oskrzela, oskrzeliki i pneumocyty typu 2 w pęcherzykach płucnych – i to płuca są jego celem.

Wiadomo, że białko S1 koronawirusa przyłącza się do komórek z wysoką ekspresją konwertazy angiotensyny 2 (ACE2), a taki receptor mają komórki w przedsiionku nosa, na spojówkach, w nosogardzieli, w pneumocytach typu 2, a także w jelitach. Pneumocyty ulegają uszkodzeniu, pęcherzyki płucne zapadają się, pojawia się odczyn zapalny, a wysięk w pęcherzykach płucnych dosłownie je topi. Dochodzi do powstania bariery pomiędzy powietrzem wchodzącym przez drogi oddechowe do pęcherzyków płucnych a krążeniem płucnym i do zablokowania wymiany tlenowej. Osoba młoda, nieobciążona innymi chorobami, w przypadku śródmiąższowego zapalenia płuc, gdy ma uszkodzonych ok. 30 proc. pęcherzyków płucnych, może oddychać samodzielnie lub ze wsparciem tlenoterapii. Osoba starsza z chorobami współistniejącymi płuc, np. z przewlekłą obturacyjną chorobą płuc, ma płuca wyłączone w większym stopniu z wymiany tlenowej – dusi się, a brak usuwania z krwi dwutlenku węgla prowadzi do ciężkiej kwasicy. Możliwość wystąpienia zespołu ostrej niewydolności oddechowej (acute respiratory distress syndrome – ARDS) zależy więc m.in. od stanu tkanki płucnej i masywności zakażenia wirusowego. Pacjent chory na COVID-19 mający choroby współistniejące nie umiera z ich powodu, ale na skutek ARDS.

z układem odpornościowym

Ewa Biernacka



Osoba młoda, nieobciążona innymi chorobami, w przypadku śródmiąższowego zapalenia płuc, gdy ma uszkodzonych ok. 30 proc. pęcherzyków płucnych, może oddychać samodzielnie lub ze wsparciem tlenoterapii. Osoba starsza z chorobami współistniejącymi płuc dusi się, a brak usuwania z krwi dwutlenku węgla prowadzi do ciężkiej kwasicy

Fot. iStockphoto

toksycznych, zakażenie SARS-CoV-2 jest groźne, ponieważ jeżeli nie poradzi sobie z nim odporność wrodzona, może przejść w ciężkie zapalenie płuc (ARDS).

Niekontrolowany odczyn zapalny

Dlaczego w COVID-19 śmiertelność osób zakażonych wzrasta z wiekiem? – Z analizy przyczyn zgonów z typową charakterystyką pacjenta: „powyżej 65. roku życia, z chorobami współistniejącymi” wiadomo, że choroby współistniejące zwiększają ryzyko nadmiernego odczynu zapalnego, z którym wiąże się burza cytokinowa – patologiczna reakcja układu immunologicznego. W medycynie opisanych jest szereg schorzeń, w których ona występuje – tłumaczy ekspert. Przewlekły albo nadmierny odczyn zapalny nie likwiduje zapalenia, ale uszkadza tkanki z powodu olbrzymiej ilości różnych substancji toksycznych, m.in. niebezpiecznej ilości reaktywnych form tlenu produkowanych przez komórki układu immunologicznego (neutrofile, makrofagi). Konsekwencją niekontrolowanego odczynu zapalnego jest stres oksydacyjny. On z kolei stymuluje komórki odczynu zapalnego do dalszej produkcji cytokin. U pacjentów z COVID-19 wykrywa się przede wszystkim IL-6 i czynnik martwicy nowotworów α (TNF- α). Powstaje błędne koło. Stan burzy cytokinowej towarzyszy niektórym autozapalnym schorzeniom uwarunkowanym genetycznie, w których dochodzi do autostymulacji grupy białek nazywanej inflammasomem⁴.

W COVID-19 występuje inny mechanizm aktywacji hiperodczynu zapalnego. W zakażeniach wirusowych czy bakteryjnych, w których miejscowy ostry odczyn zapalny jest kontrolowany przez mechanizmy przeciwwapalne, naciekające neutrofile po skutecznej fagocytozie patogenu ulegają apoptozie i są eliminowane przez makrofagi, a odczyn zapalny wygasa. W wypadku burzy cytokinowej nie dochodzi do apoptozy neutrofilów. We krwi osób z ciężką postacią choroby, ale też w badaniu histopatologicznym tkanki płucnej pacjentów zmarłych na COVID-19 po zapaleniu śródmiąższowym stwierdza się olbrzymią ilość neutrofilów, które uległy NETozie (inna niż apoptoza śmierć komórki). Podczas NETozy powstaje NET (neutrophil extracellular trap), gdzie wraz z „wysypującym się” na zewnątrz komórki neutrofilu DNA uwalniają się toksyczne enzymy, np. elastaza, która uszkadza tkankę płucną. Ponadto dochodzi do powstania mikrozakrzepów w krążeniu płucnym.

Wiek a sprawność układu immunologicznego

Wśród przyczyn ciężkiego przebiegu COVID-19 i zgonów z powodu tej choroby u osób powyżej 65. roku życia prof. Mar-

cinkiewicz wymienia też niewydolność starzejącego się układu odpornościowego (immunosenescencja), m.in. na skutek zmniejszenia się ekspresji receptorów TLR (gorsze ostrzeżenie ustroju o wtargnięciu „obcego”), a w trakcie zakażenia z powodu zmniejszenia ilości interferonu typu I oraz niskiej ekspresji receptorów TLR na komórkach dendrytycznych prezentujących antygen (od nich zależy jakość nabytej odpowiedzi immunologicznej w postaci produkcji przeciwciał czy limfocytów T cytotoksycznych). Do tego wraz z wiekiem spada zdolność wygaszania stanu zapalnego (inflammaging). Na skutek starzenia się komórek organizmu coraz więcej z nich ulega śmierci i jest eliminowanych przez komórki układu immunologicznego (aktywowane makrofagi tkankowe). Procesowi eliminacji towarzyszy praktycznie we wszystkich narządach subkliniczny, bezobjawowy stan przewlekłego zapalenia – niejako tli się synteza TNF- α , IL-6 i innych mediatorów zapalenia. Inflammaging powoduje, że u osób starszych łatwiej dochodzi do nadmiernego stanu zapalnego. W COVID-19 prowadzi to do burzy cytokinowej w tkance płucnej i ARDS, a ryzyko śmierci wzrasta gwałtownie wraz z wiekiem. Dlatego sensacyjne były medialne doniesienia o wyzdrowieniu osób w wieku powyżej 100 lat, ale jak uważa prof. Marcinkiewicz – nie sensacyjne immunologicznie. Na podstawie doniesień naukowych na temat układu immunologicznego u osób 100-letnich i starszych wiemy, że ci, którzy dożywają takiego wieku, mają genetycznie zaprogramowany wyjątkowy układ immunologiczny. Nie dopuszcza on u nich do powstania chorób autoimmunizacyjnych, nowotworowych itd. Stulatkomie mają niespodziewanie niski poziom zapadalności na nowotwory – 6 proc. vs 26 proc. w populacji „przeciętnie długo żyjącej”, bardzo wysoką liczbę limfocytów T cytotoksycznych oraz wysoki poziom cytokin przeciwwirusowych (interferonów). Dzięki temu mają większe szanse na pokonanie powikłań infekcji wirusowych w porównaniu z osobami w wieku 70–90 lat.

Z kolei u dzieci (nieobciążonych genetycznie uwarunkowanym niedoborem odporności) układ immunologiczny jest bardzo sprawny. Mają one bardzo wysoki poziom receptorów TLR (ostrzeżenie o zakażeniu

i zablokowanie wirusa u wrót zakażenia) i rzadko dochodzi do systemowego zakażenia. Nie mają potencjalnego zagrożenia powstaniem burzy cytokinowej. Ale u dzieci pod wpływem zakażenia wirusowego może dojść do zapalenia małych naczyń krwionośnych, co manifestuje się zespołem objawów choroby Kawasaki. Są takie doniesienia związane z pandemią COVID-19 u kilkorga dzieci w Nowym Jorku.

Odporność populacyjna kluczem do zwycięstwa

Nie ma na razie leków swoiście blokujących replikację koronawirusa SARS-CoV-2 ani skutecznie kontrolujących objawy nadmiernego stanu zapalnego w przebiegu COVID-19. Wobec nieskuteczności przeciwwapalnie działających kortykosteroidów, w tym wypadku mających negatywny wpływ na naprawę tkanek w płucach, naukowcy szukają innych związków. Doktor Patrick Couvreur z Institut Galien Paris-Sud próbuje powstrzymać hipercytokinię adenozyną – endogennym nukleozidem, którego analogiem jest remdesiwir, podając ją w bezpieczniejszej postaci biokompatybilnych wielkocząsteczkowych nanocząstek. Jednym z głównych zadań naukowców jest znalezienie leków przeciwwirusowych oraz blokujących sprzężenie zwrotne między nadmiernym stanem zapalnym a uwalnianiem reaktywnych form tlenu (stres oksydacyjny) w COVID-19.

Profesor Marcinkiewicz sądzi jednak, że kluczowe dla opanowania pandemii będzie uzyskanie odporności populacyjnej (stadnej). Jeżeli nie chcemy powtórki z pandemii grypy hiszpanki w latach 1918–1920, konieczne będą masowe szczepienia. Naukowcy – wirusolodzy, immunolodzy, ale także psychologowie – ostrzegają, że nawet wynalezienie i wyprodukowanie skutecznej i bezpiecznej szczepionki nie zlikwiduje pandemii, jeżeli nie powstrzymamy coraz bardziej aktywnych ruchów antyszczepionkowych. Specjaliści obawiają się, że ruchy antyszczepionkowe mogą znacząco utrudnić zakończenie pandemii koronawirusa SARS-CoV-2. Badania sieci społecznościowych wykazały, że antyszczepionkowców jest niewiele, jednak ich propaganda ma bardzo szeroki zasięg, a liczba ich zwolenników rośnie. Konieczna jest edukacja społeczeństwa – media powinny wyjaśniać, że immunoprofilaktyka w postaci masowych szczepień pozwoli na ochronę jednostek przed zakażeniem, a społeczeństwa przed rozwojem epidemii, o ile odporność populacyjna uzyska poziom 70–90 proc. ■

Rola odporności wrodzonej

Według prof. Marcinkiewicza z obserwacji obecnej pandemii (badań chorych i ozdrowieńców) wynika, że kluczowe będzie poznanie poziomu wydzielniczych przeciwciał klasy IgA skierowanych przeciwko białku S1 wirusa, które łączy się z ACE2. Obecność tych przeciwciał w wydzielinach błon śluzowych blokuje adhezję wirusa do nabłonka i sprawia, że nie dochodzi do zakażenia.

W każdym zakażeniu wirusowym mechanizm odporności wrodzonej doprowadza do odczynu zapalnego, uwalniania interferonów typu I (IFN $\alpha\beta$) i aktywacji komórek NK, co umożliwia zlikwidowanie miejscowego zakażenia.

– Patogen jest rozpoznawany dzięki pobudzeniu receptorów TLR znajdujących się na nabłonku i na komórkach dendrytycznych układu odpornościowego, które mają za zadanie informować limfocyty B i T o inwazji patogenu – tłumaczy prof. Marcinkiewicz. W przypadku koronawirusów są to receptory TLR7 i TLR8 rozpoznające wirusowe RNA. Białka wirusowe są natomiast rozpoznawane przez receptory TLR2 i TLR4. W trakcie infekcji SARS-CoV-2 poziom tych receptorów spada. Dodatkowo wykazano, że ich ekspresja jest mniejsza u osób starszych. Kiedy pacjent nie ma swoistych przeciwciał i swoistych limfocytów T cyto-

Przypisy

¹ Wywiad z 8 maja 2020 r.

² Artykuł własny w portalu Hematoonkologia.pl z 23 marca 2020 r.

³ Thevarajan I., Nguyen T.H.O., Koutsakos M., Druce J., Caly L., van de Sandt C.E., Jia X., Nicholson S., Catton M., Cowie B., Tong S.X.C., Lewin S.R., Kedzierska K. Breadth of concomitant immune responses prior to patient recovery: a case report of non-severe COVID-19. *Nature Medicine* 2020; 26: 453–455.

⁴ Inflammasomy należą do wrodzonego układu odpornościowego i są odpowiedzialne za aktywację odpowiedzi zapalnej. Aktywacja i działanie inflammasomu sprzyja proteolitycznemu rozszczepianiu, dojrzewaniu i wydzielaniu prozapalnych cytokin: interleukiny 1 β (IL-1 β) i interleukiny 18 (IL-18). W przypadku rozregulowania aktywacji stanu zapalnego może się pojawić szereg chorób, takich jak rak, choroby autoimmunologiczne, metaboliczne i neurodegeneracyjne.