

14. Streszczenie w języku polskim

W listopadzie 2019 r. w prowincji Wuhan w Chinach zaobserwowano pacjentów z nietypowym przebiegiem zapalenia płuc oraz powikłaniami wielonarządowymi. Za te zakażenia okazał się odpowiedzialny drugi koronawirus ciężkiego ostrego zespołu oddechowego (SARS-CoV-2; *severe acute respiratory syndrom coranovirus*), który doprowadził do globalnej pandemii, ogłoszonej przez Światową Organizację Zdrowia (WHO; *World Health Organization*) w marcu 2020 r. Wirus SARS-CoV-2 zbudowany jest z jednoniciowego RNA oraz białek strukturalnych: białka kolca (S), białka nukleokapsydu (N), białka błonowego (M) oraz białka otoczki (E). Najważniejsze znaczenie kliniczne ma białko S, które łączy się z receptorem dla konwertazy angiotensyny II i tą drogą infekuje komórki gospodarza. Istotne jest również białko N, które pełni funkcję ochronną dla materiału genetycznego wirusa i jest odpowiedzialne za jego replikację. Przeciwciała skierowane przeciwko białku S są produkowane zarówno po immunizacji biernej, jak i czynnej, wykazują też zdolności neutralizujące, to znaczy chroniące przed zakażeniem. Przeciwciała skierowane przeciwko białku N pojawiają się tylko po przebytej infekcji i nie mają zdolności ochronnych.

Stwardnienie rozsiane jest chorobą autoimmunologiczną ośrodkowego układu nerwowego, na którą choruje w Polsce ponad 50 000 osób. Podstawą terapii stwardnienia rozsianego są leki immunomodulacyjne i immunosupresyjne modyfikujące przebieg choroby, które są dostępne dla pacjentów w Polsce w ramach programu lekowego, finansowanego przez Narodowy Fundusz Zdrowia.

Celem pracy doktorskiej była analiza przeciwciał przeciwko białkom S i N wirusa SARS-CoV-2 u pacjentów z rzutowo-remisyjną postacią stwardnienia rozsianego leczonych wybranymi lekami modyfikującymi przebieg choroby w północno-wschodniej Polsce.

Przed przystąpieniem do badań własnych przeprowadzono analizę dostępnego piśmiennictwa na temat statusu serologicznego pacjentów z chorobami układu nerwowego, którzy przechorowali COVID-19. na tej podstawie przygotowano i opublikowano w recenzowanym czasopiśmie pracę poglądową, która powstała

w celu usystematyzowania aktualnej wiedzy na ten temat w momencie rozpoczynania badań własnych.

Grupę badaną stanowili pacjenci z rzutowo-remisyjną postacią stwardnienia rozsianego leczeni wybranymi lekami modyfikującymi przebieg choroby. Większość pacjentów była leczona interferonem beta, octanem glatirameru oraz fumaranem dimetylu.

Podczas etapu I badań oznaczono obecność przeciwciał przeciwko białku S w klasie IgG i IgA (oznaczone dalej jako: IgG-S, IgA-S) oraz przeciwko białku N w klasie IgG (oznaczone dalej jako: IgG-N) wirusa SARS-CoV-2. Obecność przeciwciała IgG-S i IgA-S oceniano za pomocą testu immunoenzymatycznego ELISA przy użyciu zestawów anty-SARS-CoV-2 IgA i IgG (Euroimmun, Medizinische Labordiagnostika AG, Niemcy). Podczas I etapu oznaczenia laboratoryjne przeprowadzono dwukrotnie (wizyta pierwsza: maj-czerwiec 2020, n=186; wizyta druga: maj-czerwiec 2021 n=88). Podczas II etapu badań oznaczono jakościowo oraz ilościowo przeciwciała przeciwko domenie wiążącej receptor (*receptor binding domain*; RBD) podjednostki S1 wirusa SARS-CoV-2 w klasie IgG (dalej oznaczone jako IgG-S1RBD) oraz przeciwciała przeciwko białku N w klasie IgG metodą chemiluminescencji (CMIA; Abbott, IL, USA). Podczas etapu II oznaczenia laboratoryjne przeprowadzono dwukrotnie (wizyta trzecia; grudzień 2021-luty 2022, n=38; wizyta czwarta: grudzień 2022-luty 2023, n=38).

Po przeprowadzeniu I etapu badań wykazano, że szczepienie istotnie statystycznie indukuje obecność przeciwciał przeciwko białku S (IgG-S i IgG-A), natomiast nie indukuje przeciwciał przeciwko białku N (IgA-S, $p < 0,0001$; IgG-S, $p < 0,0001$; IgG-N $p = 0,91$). Podczas analizy statystycznej wyników etapu II badań wykazano, że obecność przeciwciał neutralizujących IgG-S1RBD u pacjentów zaszczepionych i nieszczepionych nie różniła się istotnie statystycznie (trzecia wizyta: $p = 0,089$; czwarta wizyta $p = 0,501$), natomiast szczepienie istotnie statystycznie zwiększało poziom przeciwciał IgG-S1-RBD (wizyta trzecia $p < 0,001$ i wizyta czwarta $p = 0,038$). Ponadto, w latach 2022-2023, nie wykazano istotnych różnic co do obecności przeciwciał neutralizujących w grupie pacjentów, którzy przebyli infekcję SARS-CoV-2 potwierdzoną testem

antygenowym lub PCR i w grupie badanych, którzy nie mieli potwierdzonej przebytej infekcji SARS-CoV-2 (wizyta trzecia $p=0,309$; wizyta czwarta $p=1,0$). Osoby, które przebyły potwierdzoną infekcją SARS-CoV-2 (dodatni wynik antygenowy/PCR), miały istotnie statystycznie wyższy poziom przeciwciał IgG-SIRBD podczas wizyty trzeciej ($p=0,001$), nie stwierdzono różnic w poziomach przeciwciał podczas wizyty czwartej ($p=0,410$). Wzrost poziomu przeciwciał neutralizujących u pacjentów bez potwierdzonej przebytej infekcji SARS-CoV-2 wskazuje na szerokie rozprzestrzenienie wirusa w badanej populacji oraz liczne infekcje skąpoobjawowe/bezobjawowe. Stosowane w grupie badanej leki modyfikujące przebieg stwardnienia rozsianego nie miały wpływu na produkcję przeciwciał neutralizujących. Pacjenci z potwierdzoną przebytą infekcją SARS-CoV-2 mieli statystycznie istotnie wyższy poziom przeciwciał IgG-N podczas trzeciej wizyty ($p=0,040$) niż pacjenci COVID (-), nie stwierdzono różnic podczas wizyty 4 ($p=0,363$).

Analiza uzyskanych wyników pozwoliła wyciągnąć wnioski:

- Pacjenci chorujący na rzutowo-remisyjną postać stwardnienia rozsianego, leczeni intereferonem beta, octanem glatiramery i fumaranem dimetylu są immunokompetentni. Szczepienie przeciwko SARS-CoV-2 w badanych podgrupach pacjentów istotnie indukowało wytwarzanie przeciwciał neutralizujących oraz zwiększało ich poziom.
- Obserwowany, w trakcie kolejnych lat trwania pandemii, wzrost odsetka pacjentów seropozytywnych, którzy nie mieli zdiagnozowanej infekcji i nie zostali zaszczepieni przeciwko SARS-CoV-2 wskazuje na liczne zachorowania skąpoobjawowe/bezobjawowe.
- Nasilenie zapadalności na COVID-19 w grupie badanej, w różnych okresach pandemii, było zbliżone do stwierdzanego w polskiej populacji ogólnej.
- U wszystkich pacjentów z potwierdzoną w przeszłości infekcją SARS-CoV-2 i zaszczepionych na COVID-19 wykazano obecność przeciwciał neutralizujących, co sugeruje, że w badanej grupie pacjentów duże znaczenie dla ochrony przed reinfekcją ma

odporność hybrydowa i wskazuje na celowość szczepienia osób, które przebyły już infekcję SARS-CoV-2.

- Szczepienia ochronne nie wpływają na produkcję przeciwciał przeciwko białku N.