

# Imunodeficiencie

Marcela Vlková

# Poruchy imunity

- Rozpoznávání vlastního od cizího – při poruše autotolerance = **autoimunitní onemocnění**
- Rozpoznávání pozměněných buněk – při poruše imunitního dohledu = **nádorová onemocnění**
- Rozpoznávání škodlivého a neškodného – při poruše obranyschoposti = atopie, alergie, imunosuprese, **imunodeficiencie**

# Imunosuprese

- Přechodné snížení aktivity imunitního systému vyvolané vnějšími faktory.

- **Nežádoucí**

- Po ozáření, podání některých léků, xenobiotik nebo bakteriálních toxinů

- **Cílená (indukovaná)**

- Záměrně vyvolané potlačení imunitní odpovědi využívané při:

- Transplantaci orgánů a tkání

- Léčbě některých autoimunitních onemocnění

# Imunodeficiencie

- **Fyziologická**

- Objevuje se koncem 6. měsíce života

- Přestávají působit ochranné faktory od matky a dítě ještě nemá plně vyvinut vlastní imunitní systém

- **Patologická**

- Přetrvávající porucha jedné nebo více složek imunitního systému podmíněná geneticky nebo získaná v průběhu života, která vede ke snížení obranyschopnosti organismu.

# IMUNODEFICIENCE

PRIMÁRNÍ  
(VROZENÉ)

SEKUNDÁRNÍ  
(ZÍSKANÉ)

Zvýšená vnímavost k infekčním agens

Náchylnost k maligním procesům

Autoimunitní projevy

Dysregulace imunitního systému

# Varovné známky primárních imunodeficiencí

- Otitis media osmkrát a častěji za rok
- Pneumonie alespoň dvakrát do roka
- Opakující se infekce hluboko v tkáních nebo na neobvyklých místech (svaly, játra)
- Infekce vyvolané oportunními mikroby
- Abnormální reakce na živé vakcíny
- Neúspěch cílené antibiotikoterapie
- Rodinná anamnéza

# Klinická manifestace imunodeficiencí

- Častý výskyt závažných infekčních komplikací: pneumonie (nejméně 2x ročně), otitis media (až 8x ročně) sinusitidy, meningitidy, abscesy hluboko v tkáních nebo na neobvyklých místech – svaly, játra.
- Infekce mohou být způsobeny atypickými agens (oportunními patogeny).
- Infekce špatně odpovídají na konvenční léčbu antibiotiky.
- Zvýšená frekvence banálních infekcí.
- Abnormální reakce na živé vakcíny
- Častěji než v běžné populaci se objevují některá nádorová onemocnění.
- Rodinná anamnéza

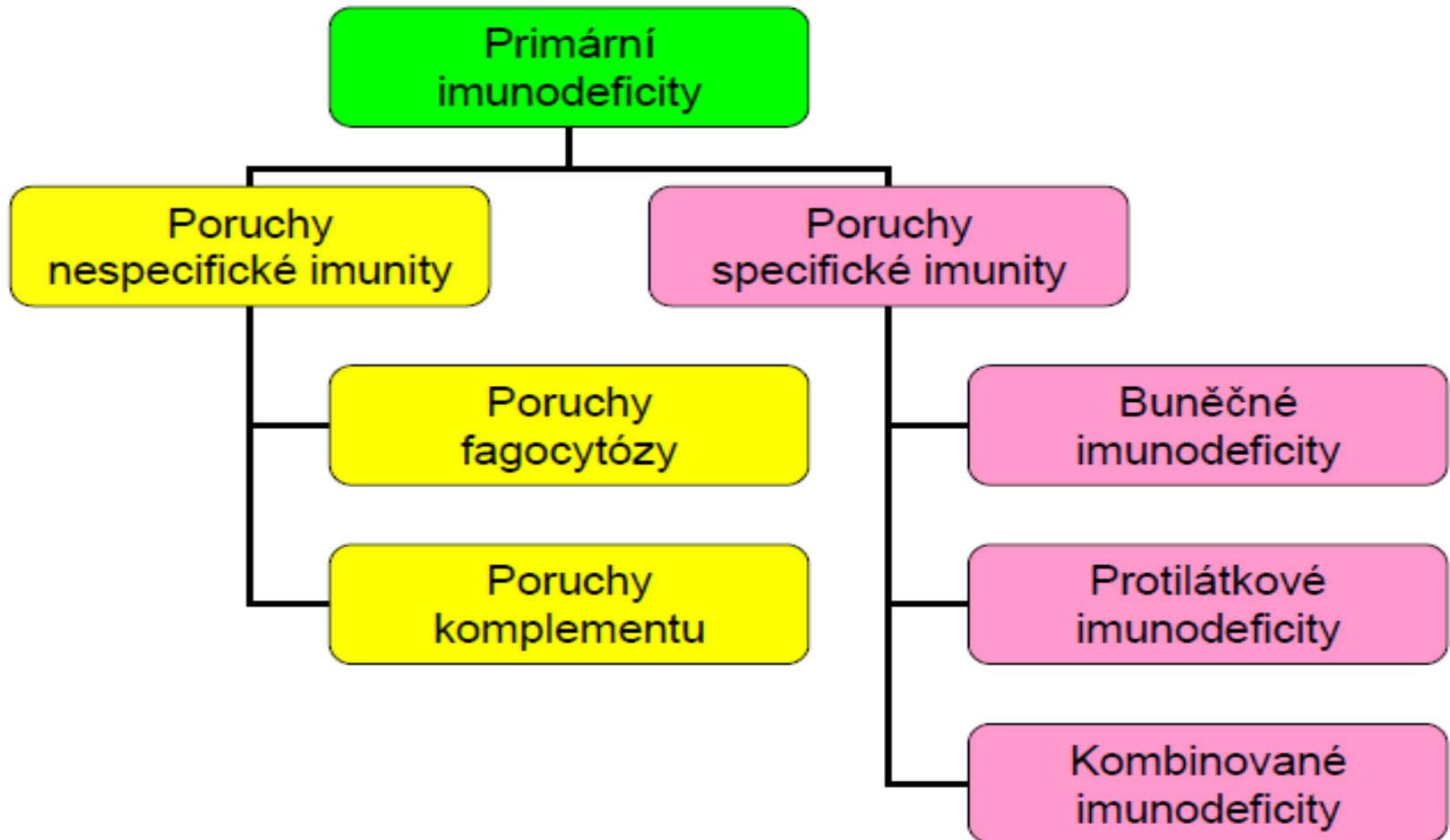
# **Infekční procesy u primárních imunodeficiencí**

*Infekce se opakují, trvají dlouho, probíhají těžce, špatně odpovídají na antibiotickou léčbu.*

*Etiologie se liší podle charakteru imunologického defektu (vrozených imunitních mechanismů, imunity zprostředkované lymfocyty T, tvorby, protilátek).*



# Rozdělení primárních imunodeficiencí



# Stavy imunitní nedostatečnosti - imunodeficience - poruchy imunitního systému

Členění:

**primární**

a

**sekundární**

jsou podmíněny genetickým defektem  
manifestace zpravidla v časném údobí  
po narození

nejsou podmíněny genetickým defektem  
získávají v průběhu života

Oběma typy může být zasažena kterákoli složka imunitního systému

# Evropská databáze pacientů s primárními imunodeficiencemi

([www.esid.org](http://www.esid.org) 2008)

<u>Celkový počet evidovaných pacientů:</u>	<b>6323</b>
(tč. cca 8000)	
Deficience převážně protilátkové	54,8%
Deficience převážně T-buněk	7,78%
Poruchy fagocytózy	12,97%
Deficience komplementového systému	1,80%
Další dobře definované imunodeficience	18,0 %
Syndromy autoimunitní a dysregulační	1,15%
Autoinflamatorní syndromy	1,08%
Neklasifikované PID	2,34%

# Vyšetřované parametry v imunologické laboratoři

- Hladiny imunoglobulinů
- Hladiny C3, C4 složek komplementu v séru
- Aktivace komplementu klasickou a alternativní cestou
- Zastoupení lymfocytárních subpopulací
- Proliferační schopnosti, produkce cytokinů
- Burst test
- Myeloperoxidáza

# Poruchy buněčně zprostředkované imunity

- Rozdělení:
  - těžké kombinované imunodeficity
  - funkční poruchy T-lymfocytů

Těžká kombinovaná  
imunodefciencie (SCID)

**Severe Combined Immunodeficiency**

Deficit T- i B-lymfocytů Geneticky  
různorodá skupina poruch

# SCID

## nejdůležitější laboratorní nálezy

- Heterogenní skupina onemocnění postihující T, B a někdy i NK lymfocyty
- Klinická manifestace v prvních měsících života
- Typický laboratorní rys je lymfopenie
- U dětí ve věku přibližně 6 měsíců je nutné absolutní počty nižší než  $4 \times 10^9/l$  nutné dovyšetřit
- Opakovaně nalezená lymfopenie.
- Porušená proliferativní odpověď po stimulaci mitogeny.
- Obvykle nízké hladiny IgM a IgA, hladiny IgG nestoupají.

# SCID

## nejčastější klinické příznaky

- Velmi časný nástup obtíží - první měsíce života
- Závažné a obtížně léčitelné infekce zejména bronchopulmonální, pokašlávání neodpovídající na běžnou antibiotickou léčbu
- Chronické průjmy, ne vždy lze prokázat etiologické agens.
- Kožní infekce, exantémy
- Neprospívání i při nepřítomnosti průjmů
- Komplikace po vakcinaci BCG
- Příznaky maternofetálního engraftmentu
- Bez léčby děti umírají zpravidla do 1 roku od narození

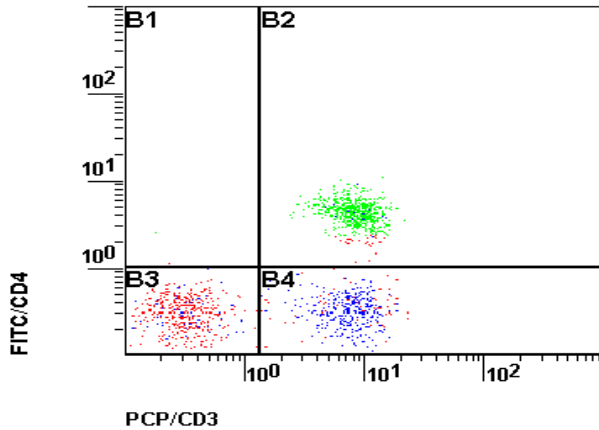


# Maternofetální engraftment

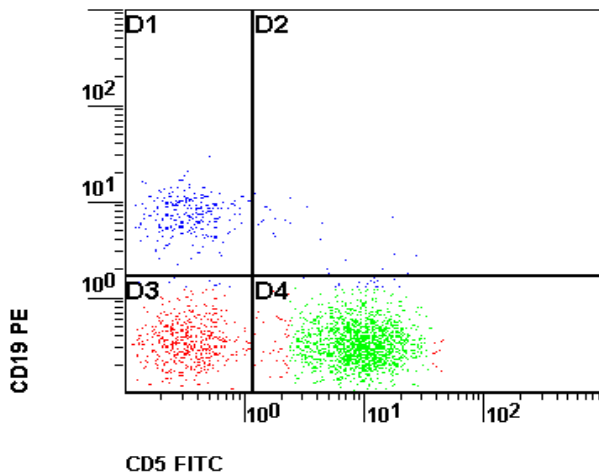
- Asi u 50% pacientů se SCID lze prokázat mateřské lymfocyty, u 30-40% z nich lze prokázat klinické příznaky engraftmentu.
- Kožní exantém
- Zvýšení jaterních testů
- Eozinofilie
- Infiltrace kůže T-lymfocyty
- T-lymfocyty jsou často aktivovány, jsou CD45RO+ = mateřské

# ZDRAVÁ OSOBA

(7):Z0034407.LMD FL3 LOG/FL1 LOG A



(5):Z0034410.LMD FL1 LOG/FL2 LOG A



## T LYMFOCYTY

- CD3+ : 71%
- CD3+4+ : 46%
- CD3+8+ : 21%

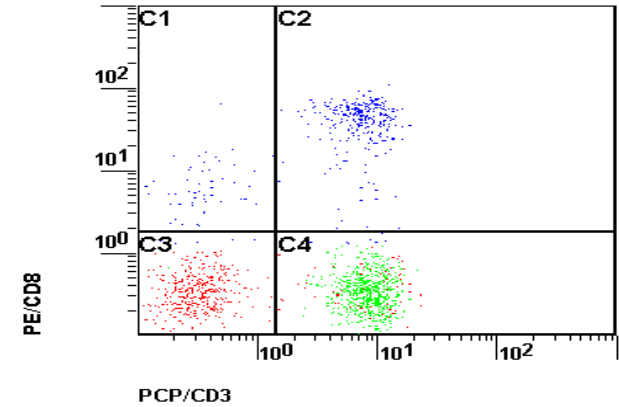
## B LYMFOCYTY

- CD19+ : 11%

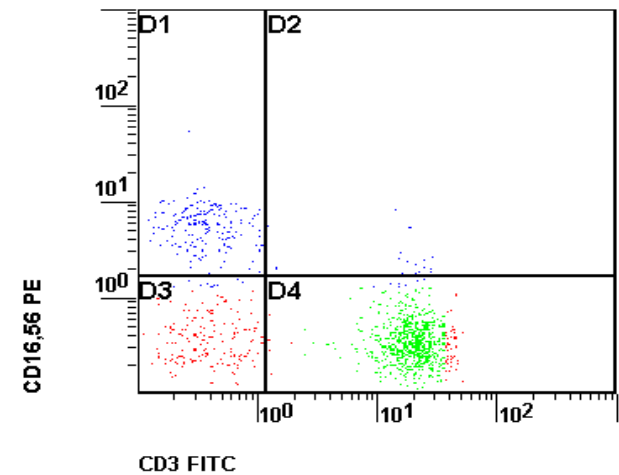
## NK LYMFOCYTY

- CD16,56+ : 16%

(7):Z0034407.LMD FL3 LOG/FL2 LOG A

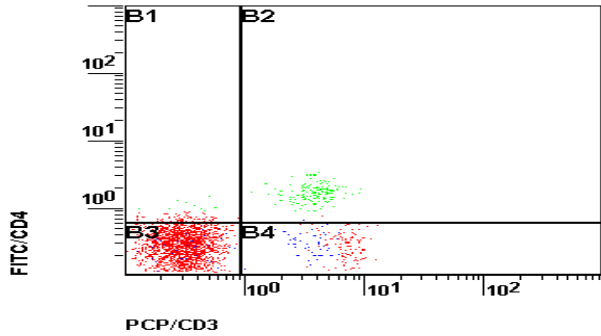


(6):Z0034411.LMD FL1 LOG/FL2 LOG A



# SCID

(1):Z0008654.LMD FL3 LOG/FL1 LOG A



## T LYMFOCYTY

- CD3+ : 14%
- CD3+ 4+ : 8%
- CD3+ 8+ : 2%

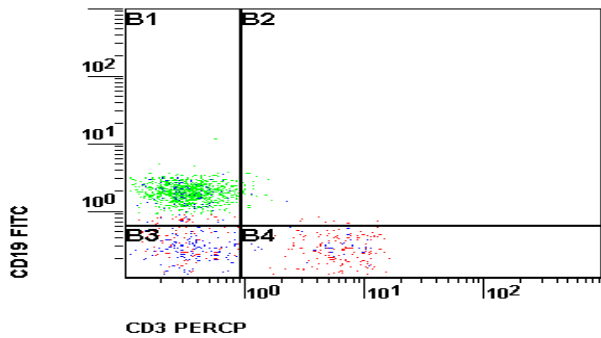
## B LYMFOCYTY

- CD19+ : 71%

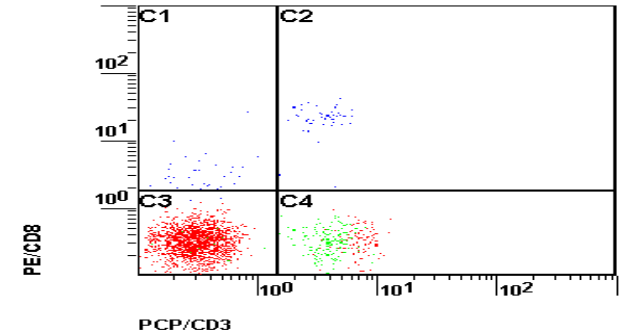
## NK LYMFOCYTY

- CD16,56+ : 13%

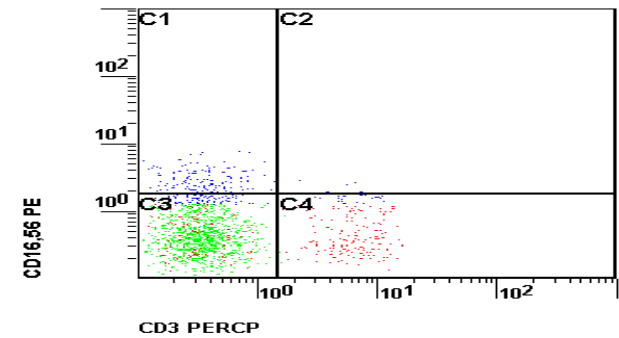
(2):Z0008657.LMD FL3 LOG/FL1 LOG A



(1):Z0008654.LMD FL3 LOG/FL2 LOG A



(2):Z0008657.LMD FL3 LOG/FL2 LOG A



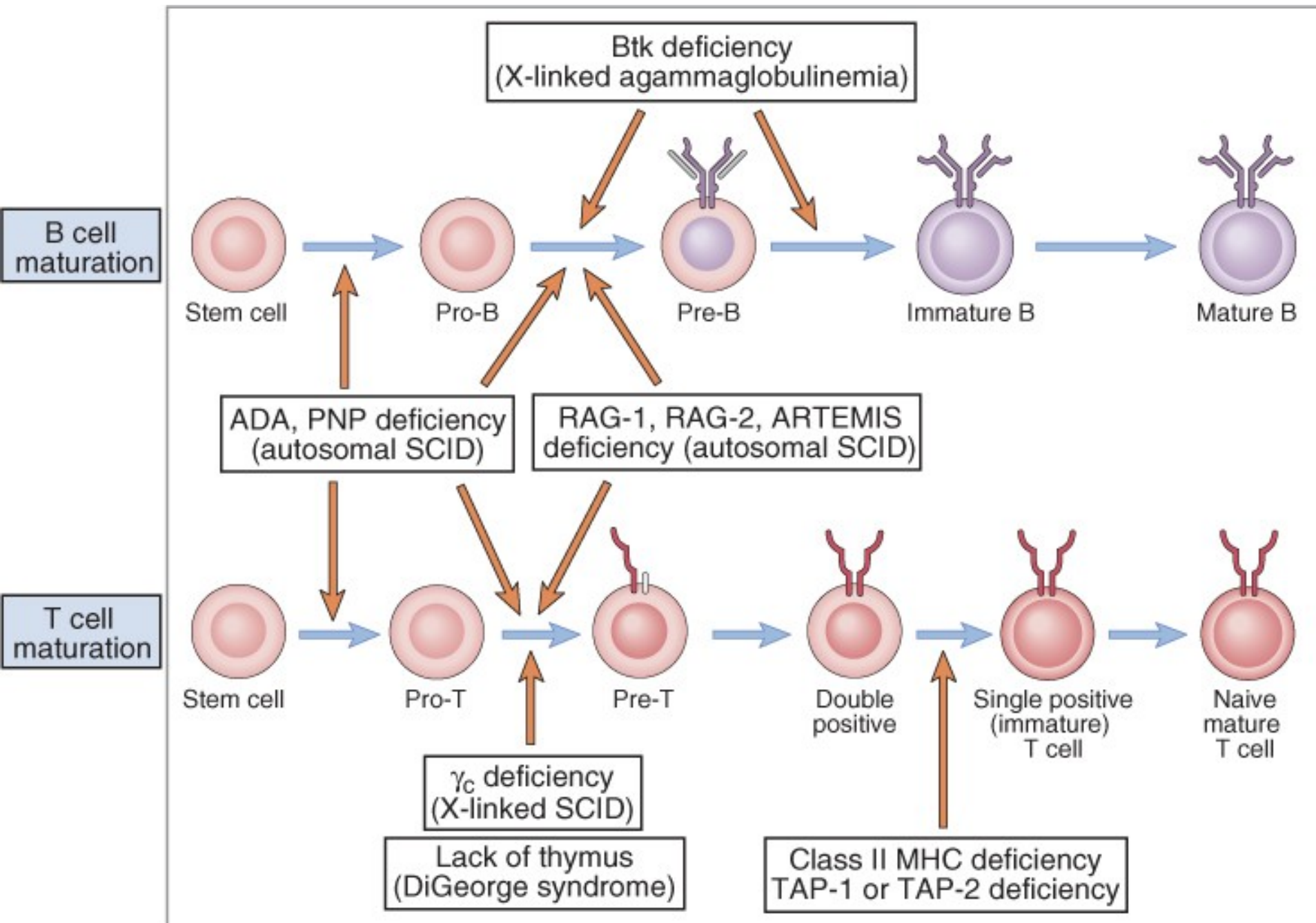
# SCID

infekce způsobené atypickými patogeny

- Pneumocystová pneumonie
- Cytomegalovirová pneumonitida
- Diseminovaná BCG-óza
- Atypické mykobakteriózy
- Kandidiáza orofaryngu, kůže

# Molekulární podstata SCID

- Je heterogenní, počet poruch narůstá
- SCID T-B-
  - Dědí se autozomálně recesivně
  - Zachovány NK buňky
  - Často deficit rekombinázy RAG-2 enzymu , nutný pro rekombinační seskupení genů kódujících TCR a BCR
  - Porucha v expresi receptoru pro IL-7 (CD127 –  $\alpha$  podjednotka receptoru)
- SCID T-B+
  - Absence T lymfocytů a NK buněk
  - Představuje zhruba 60% všech onemocnění SCID
  - V 70% vázána na chromozom X – mutace v genu pro  $\gamma$ -řetězec recptoru který je společný pro o IL-2, IL-4, IL-7, IL-9 a IL-15
  - Ve 30% autozomálně recesivníporuch kinázy Jak3
- Syndrom retikulární dysgeneze
  - Postižení kmenové buňky
  - Je blokován vývoj myeloidních buněk a lymfocytů
- Porucha adenosin deaminázy – (ADA)
  - Dědí se autozomálně recesivně
  - Porucha nebo absence enzymu vede k akumulaci produktů metabolismu purinů, které jsou toxické pro časně T-lymfocyty = výsledek těžká T-lymfopenie



# SCID T<sup>-</sup>B<sup>-</sup>

- chybějí T i B lymfocyty
- přítomnost NK buněk
- Příčiny bývají různé:
  - některé případy:
    - 1. deficit rekombinázy RAG1 nebo 2 – nutný k přeskupování genů kódujících TCR a BCR řetězec (mutace v genu pro RAG1 nebo RAG2)
    - 2. Deficit endonukleázy rozeznávajícím koncové sponky během VDJ rekombinace (mutace v genu ARTEMIS)
  - Porucha exprese receptoru pro IL-7

# Deficience adenozyndeaminázy (ADA)

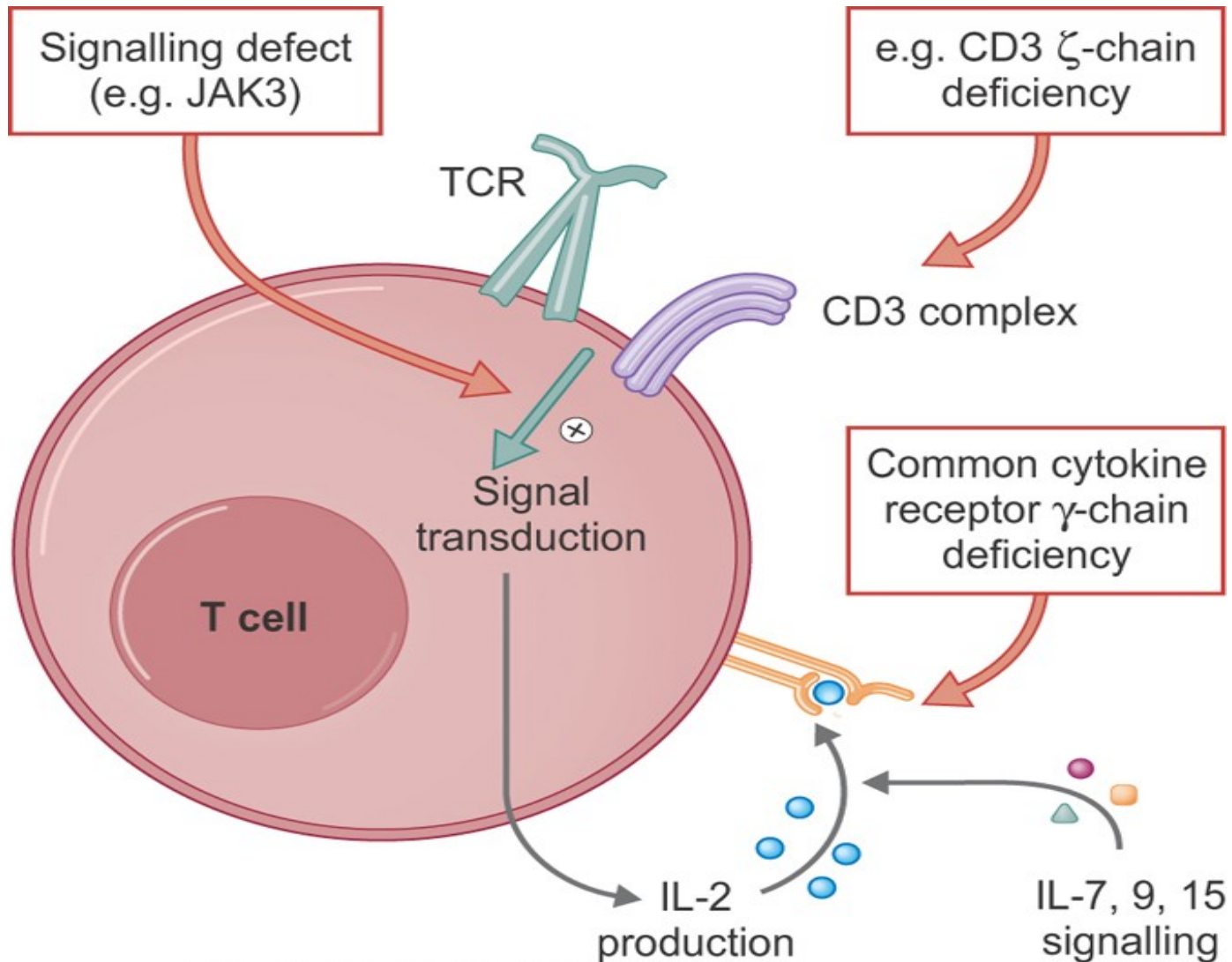
- Autozomálně recesivní onemocnění
- Absence nebo dysfunkce enzymu – akumulace metabolismu purinů toxických pro časně formy lymfocytů
- Důsledek je pokles T-, B- a NK buněk
- Počty lymfocytů jsou obvykle normální při narození, ale se velice rychle snižují
- T-lymfocyty nejsou schopny proliferovat po antigenní stimulaci



# SCID T<sup>-</sup> B<sup>+</sup>

- chybí T lymfocyty a NK buňky,
- B-lymfocyty neaktivní
- nejčastější forma (60% všech případů)
- V 70% vázána na **chromozom X**
- Mutace genu  $\gamma$  řetězce receptoru pro IL-2
- $\gamma$  řetězec je společný pro receptory IL-4,IL-7,IL-9, IL-15
- Deficience JAK-3 kinázy
- Deficience některé podjednotky komplexu CD3( $\delta$ , $\epsilon$ ,  $\zeta$ )
- Deficience CD45 molekuly
- U všech deficitů – nízké hladiny Ig

# Molekulární podstata SCID



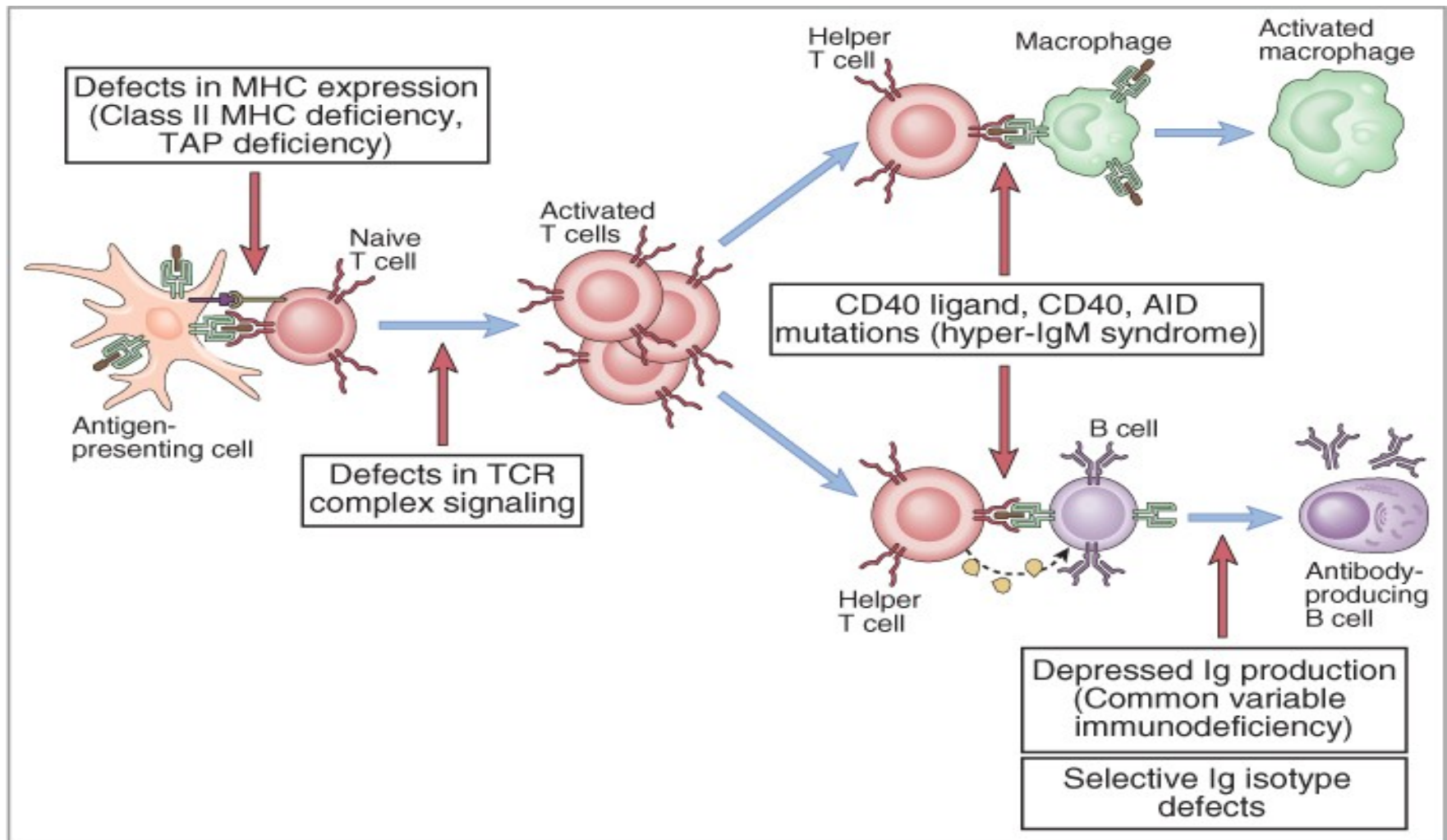
# Léčba pacientů se SCID

SCID se dá léčit genovou terapií (náhrada chybného genu) nebo transplantací kostní dřeně nejlépe do tří měsíců věku (za předpokladu haploidentické shody v HLA-antigenech).

# Funkční poruchy T-lymfocytů

- Normální nebo snížený počet T-lymfocytů
- Poruchy v Ag prezentaci
- Skupina aktivačních poruch T-lymfocytů

# Funkční poruchy T-lymfocytů



# Poruchy v antigenní prezentaci u T-lymfocytů

- Defekty v expresi HLA I. nebo HLA II. Třídy – defekt nebo dysfunkce CD8+ nebo CD4+ T-lymfocytů
- Označení také jako „ Syndrom holých T-lymfocytů“
- Chybění CD8+ Příčiny v genech faktorů, regulujících expresi MHC I – defekt v genech kódujících podjednotky peptidové pumpy TAP
- Chybění CD4+ defekt transkripčních faktorů regulujících expresi HLA II.třídy

# Aktivační poruchy T-lymfocytů

- Hyper IgM- syndrom
- Wiskottův Aldrichův syndrom
- Chédiakův – Higashiho syndrom
- Omennův syndrom
- Familiární hemofagocytující lymfohistióza
- Lymfoproliferativní syndrom vázány na chromosom X
- Familiární lymfoproliferativní syndrom s autoimunitu

# Hyper IgM syndrom

- Porucha na úrovni T nebo B lymfocytů
- Skupina chorob s geneticky definovaným podkladem poruch v signalizační cestě CD40L – CD40
- Nutné pro izotypový přesmyk + somatická hypermutace
- Při poruše T-lymfocytů (CD40L deficiencie) také zvýšená citlivost k mykobakteriálním infekcím → CD40L zapojena také do stimulace makrofágů a IL-12 – INF $\gamma$  cesty
- Při poruše B-lymfocytů defekt enzymu AID, který je rovněž nutný pro izotypový přesmyk + somatická hypermutace
- Zvýšená náchylnost k infekcím
- U některých typů obrovská germinální centra v mízních uzlinách
- U některých typů zvýšená frekvence autoimunit



# Omennův syndrom

- Těžká kombinovaná imunodeficiencie s hypereosinofilií,
- Dědičnost: Autosomálně recesivní
- Mutace genu **RAG1**, **RAG2** aktivace Th2 lymfocytů
- Syndrom je charakterizován **infiltrací kůže** a střevní sliznice (endotelu) aktivovanými T-lymfocyty oligoklonálního charakteru.
- Mimo **eosinofilii**, kterou způsobují Th2-lymfocyty pomocí IL-4 a IL-5 interleukinů
- Nemocní mají různě rozsáhlé postižení kůže, hepatosplenomagálii a urputné **průjmy**
- Aktivované T-lymfocyty lze prokázat v krvi, v periferních lymfatických orgánech je počet značně redukován

# Primární imunodeficiencie spojené s dysregulacemi imunitního systému 1

- **Familiární hemofagocytické/lymfohistiocytické syndromy: deficiencie perforinů:** ↑ T-lymfo, normální B-lymfo, ↓↓NK; absence cytotoxické aktivity NK a T-lymfo
- **Defekty v subsetu Treg IPEX:** mutace FoxP3 vázaná na X chromozóm: normální T-lymfo, absence Treg, normální B-lymfo, autoimunitní postižení mnohých orgánů

# Primární imunodeficiencie spojené s dysregulacemi imunitního systému 2

- **Autoimunita bez lymfoproliferace APECED:**

Mutace genu pro thymový transkripční faktor AIRE

absence negativní selekce autoimunitních klonů T-lymfo

normální T a B lymfo

autoimunita řady orgánů

kandidóza

# Primární imunodeficiencie spojené s dysregulacemi imunitního systému 3

- **Autoimunitní lymfoproliferativní syndrom: ALPS**

**ALPS-Fas** – mutace ve Apo/Fas (CD95) defekt apoptózy, zvýšený počet CD3+4-8- $\alpha\beta$  T-lymfocytů, normální B-lymfo, autoimunita, splenomegalie, lymfadenopatie, lymfoproliferace

**ALPS – Fas-L** – mutace v ligandu Apo/Fas (CD178) defekt apoptózy, autoimunita, splenomegalie, lymfadenopatie, lymfoproliferace

**Deficience FADD** – defekt adaptorového proteinu FADD narušuje přenos proapoptotických signálů z Apo/Fas receptoru - lymfoproliferace

# Primární imunodeficiencie spojené s dysregulacemi imunitního systému 4

- **Defekty v receptoru pro IL-10 nebo tvorbě IL-10.**  
**Deficiencie IL-10:** autoimuninita gastrointestinálního traktu
- **Deficiencie řetězce  $\alpha$  (CD210R) nebo  $\beta$  (CD230b) pro IL-10** – normální T-lymfo, B-lymfo, autoimunita, zvláště GIT
- **Interferonpatie:** defekty v genech kódujících proteiny zapojené v „úklidu“ narušených nukleových kyselin – zvýšená expozice fragmentům nukleových kyselin, zvýšená tvorba interferonů I. třídy

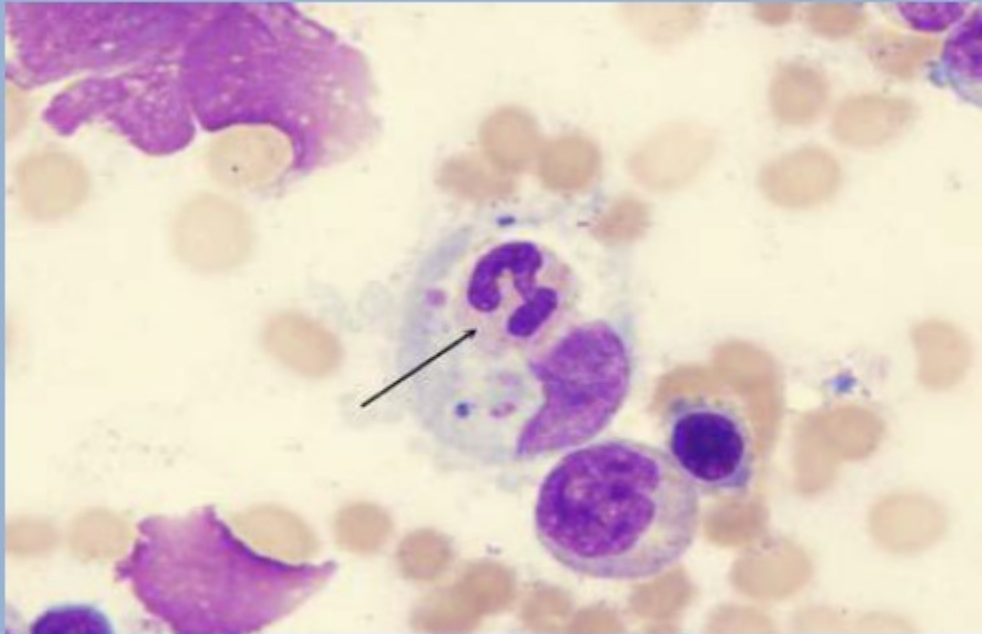
# Chédiakův – Higashiho syndrom

- Laboratorně prokazatelný defekt CD8+ cytotoxických lymfocytů a NK buněk
- U rozvinutého syndromu může dojít k infiltraci tkání následkem lymfoproliferace.
- Dědičné onemocnění způsobené mutací genu **LYST** (**lysosomal trafficking regulator**, lokalizace 1q42.1–q42.2).
- Produkt tohoto genu se účastní na formování lyzosomů především ovlivňuje složení jejich obsahu
- V případě defektu jsou lyzosomy i melanosomy **zvětšené** (někdy až do obřích rozměrů) a **dysmorfické**.
- Defektní složení granul neutrofilů způsobuje **neúčinnost fagocytózy**
- **Výsledkem je** zvýšená **vnímavost vůči určitým infekcím**, především **bakteriálním (hlavně *Staphylococcus aureus*) a mykotickým**.
- Postižení jedinci mají **sníženou pigmentaci** – světlou a vlasy mají světlý až stříbrný nádech. Přítomná je **fotofobie** a zvýšená citlivost na sluneční záření. Příčinou jsou defektní granula melanocytů.
- Onemocnění bez léčby končí nekontrolovatelnou aktivací a proliferací T-lymfocytů a makrofágů, které pohlcují vlastní krevní elementy

# Familiární hemofagocytující lymfohistióza

- Maligní proliferace T-lymfocytů doprovázená hemofagocytózou
- Autozomálně recesivní onemocnění
- Příčiny onemocnění jsou heterogenní – např. vrozená deficiencie perforinu v cytotoxických T-lymfocytech a NK buňkách

# Mikroskopický obraz hemofagocytující lymfohistiózy





# Lymfoproliferativní syndrom vázány na chromosom X

- Maligní lymfoproliferace a hemofagocytóza, hypogamaglobulinémie
- Nemoc se spouští infekcí EBV virem
- Příčina mutace adaptorové molekuly SAP
- SAP je asociován a aktivačními nebo adhezivními receptory CD150, CD244, CD229 a tlumí jejich aktivaci
- Při absenci SAP dochází k hyperreaktivě těchto receptorů a nekontrolovatelné proliferace B-lymfocytů navozené EBV virem

# Familiární lymfoproliferativní syndrom s autoimunitou

- Porucha v mechanismu apoptózy
- Vede ke zvýšené lymfoproliferaci spojené s autoimunitou
- Dysfunkce receptoru Fas
- Dysfunkce Fas ligandu
- Deficit kaspázy 3

# Kombinované vrožené imunodeficiencie spojené se syndromy

- Kongenitální trombocytopenie: Wiskott-Aldrich syndrom: ↓ T-lymfo, normální B-lymfo ↓ IgM, ↑ IgE, autoimunita
- Poruchy v reparačních mechanismech DNA – ataxia teleangiectasia: ↓ T-lymfo, normální B-lymfo ↓ IgG, IgA, ↑ IgM
- Defekty thymu s dalšími vroženými anomáliemi: DiGeorge Syndrom: ↓ T-lymfo, normální B-lymfo , normální nebo ↓ Ig
- Hyper IgE syndomy (HIES): Jobův syndrom: mutace transkripčního faktoru STAT3
  - normální T-lymfo ↓ Th17, ↓ B-lymfo, ↓ BAFF ↑ IgE
  - Vnímavost ke *S. aureus*, kandidám
  - Vývojové vady v obličeji

# DiGeorgův syndrom – kvantitativní porucha T-lymfocytů

- Embryonální porucha – narušení vývoje v oblasti 3. a 4. embryonálního oblouku
- 3.žaberní oblouk – absence nebo hypoplazie příštítných tělísek s následnou hypokalcémií
- Abnormality v arteriálním oběhu, srdci, jícnu a čelistech
- Porucha ve vývoji thymu – snížené zastoupení T-lymfocytů, může vést k dysregulaci B lymfocytů
- Incidence 1:3 000 narozených dětí
- Syndrom delece chromosomu 22q11.2

# DiGeorgův syndrom - klinika

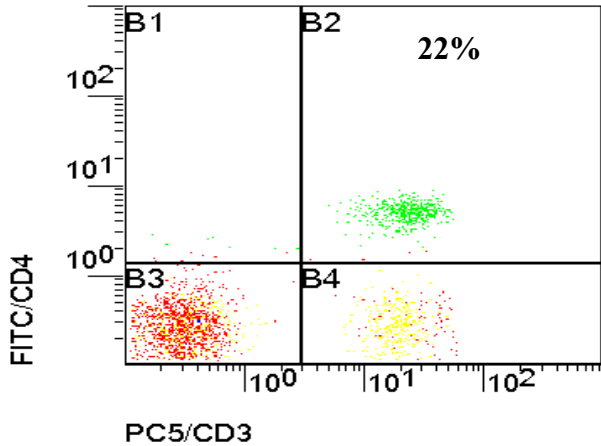
- Obvyklé syndromy:
  - Srdeční vady
  - Obličejový dysmorfismus
  - Těžká kombinovaná imunodeficiencie – nutná zvýšená opatrnost při aplikaci živých vakcín
  - Hypokalcémie

# DiGeorgův syndrom - léčba

- Chirurgické řešení srdečních komplikací
- Chemoprolaxe
- Allogenicá transplantace thymu
  - Úspěšná u dětí s „kompletním Digeorgeho syndromem“ před rozvinutím infekcí
  - Vede ke stabilní imunorekonstituci

# SYNDROM DI GEORGE

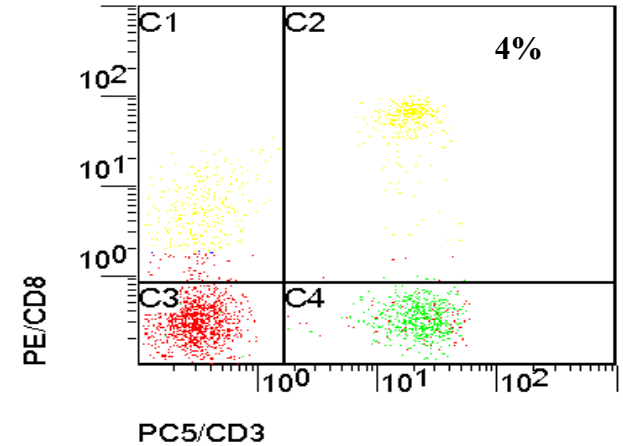
(3):Z0001091.LMD FL4 LOG/FL1 LOG A



T LYMFOCYTY

- CD3+ : 40 (58-85)%
- CD3+ 4+ : 22 (30-60)%
- CD3+ 8+ : 4 (15-35)%

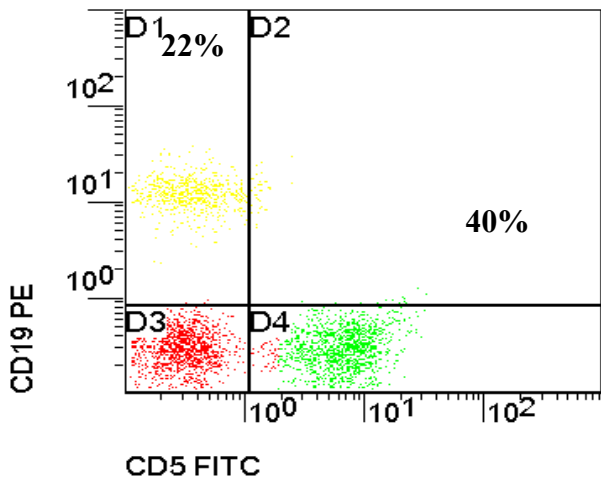
(3):Z0001091.LMD FL4 LOG/FL2 LOG A



B LYMFOCYTY

- CD19+ : 22 (7-23) %

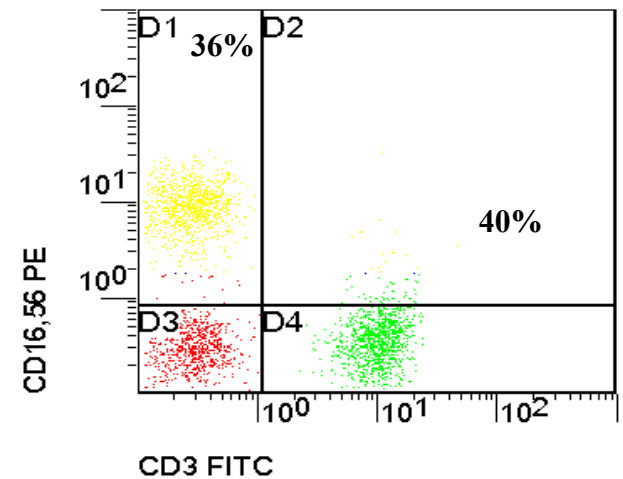
(1):Z0001094.LMD FL1 LOG/FL2 LOG A



NK LYMFOCYTY

- CD16,56+ : 36 (6-20)%

(2):Z0001095.LMD FL1 LOG/FL2 LOG A



# Wiskot – Aldrichův syndrom (WAS)

Vzácná recesivně dědičná imunodeficience vázaná na chromozom X, popsaná poprvé v roce 1937 Wiskottem.

- Incidence 1:4 000 000 narozených dětí
- Příčinou je mutace genu WAS pro syntézu regulačního proteinu WASP

WASP hraje klíčovou úlohu při polymerizaci aktinu v hematopoetických buňkách

–To vede k poruchám v oblasti

- Signalizace
- Lokomoce
- Formace imunologických spojů

–Důsledkem těchto poruch jsou dysfunkce T a B lymfocytů a NK buněk



# WAS

- Různorodost klinických příznaků související s typem mutace genu WASP
  - Jsou známy 3 hlavní klinické fenotypy:
    - Klasický WAS
    - Na chromozom X vázaná trombocytopenie
    - Na chromozom X vázaná neutropenie
- Nejčastější klinické příznaky
  - Rekurentní infekce
  - Ekzémy
  - Zvýšené riziko rozvoje autoimunitních onemocnění a malignit

# WAS

## Diagnostika

- KO + diferenciál
- počet lymfocytů B normální
- výrazně snížené hladiny IgM (IgA, IgE a IgG obvykle v normě),
- průkaz nepřítomnosti proteinu WAS
- průkaz mutací v genu WASP

## Léčba

### Podpůrná

Imunizace

Intravenózní podání gamaglobulinů, kortikosteroidů

Transfúze

Profylaktické podání antibiotik

Splenektomie

### Kurativní

Transplantace kostní dřeně

# Poruchy tvorby protilátek – humorální imunodeficiencie

- Projevují se především komplikovanými a častými infekcemi dýchacích cest.
- Mohou se objevit i meningitidy nebo průjmy.
- Kauzálním agens většiny infekcí jsou opouzdřené bakterie (Haemophilus, Pneumokok..).
- Není zvýšená náchylnost k virovým infekcím
- Nástup příznaků po vymizení mateřských protilátek. Ale: nejčastější primární humorální imunodeficit -CVID se může manifestovat v kterémkoliv věku pacienta!

# Typy protilátkových imunodeficiencí

- “Čisté” protilátkové imunodeficiency: X-vázaná agamaglobulinémie (X-LA), deficit  $\mu$  řetězce,  $Ig\alpha$ , BLNK,  $\lambda 5$ ...
- Protilátkové imunodeficiency doprovázené různým stupněm dysregulace T-lymfocytů – CVID.
- Kombinované imunodeficiency, kde klinicky převažuje manifestace T-lymfocytární deficiencie – (S)CID.

# Nejčastější tyty primárních humorálních imunodeficiencí

- Selektivní deficit IgA
- Přejídná hypogamaglobulinémie kojenců
- Běžná varibilní imunodeficiencie
- X-vázaná agamaglobulinémie
- Goodův syndrom
- Recesivně dědičné vrozené agamaglobulinémie
- „Hyper IgM syndromy“

# X-vázaná (Brutonova) agamaglobulinémie

- Opakované a závažné infekce zejména respiračního traktu - otitidy, bronchitidy, pneumonie.
- Příčinou infekcí jsou zejména opouzdřené bakterie.
- Někdy anamnéza začíná meningitidou.
- Manifestace začíná obvykle mezi 4-12 měsícem.
- Asi u 1/5 nemocných se první klinické příznaky objevují až ve věku 3-5 let.
- Důležitý je anamnestický údaj o časných úmrtích v rodině ukazující na možnou X-vázanou dědičnost.
- Laboratorně nacházíme obvykle velmi nízké hladiny všech imunoglobulinových tříd a nepřítomnost B-lymfocytů.

# X-vázaná agamaglobulinémie

- Velmi nízké hladiny všech izotypů imunoglobulinů.
- V periferní krvi méně než 1% B-lymfocytů
- Objevují se pacienti s “leaky“ fenotypem u nichž mohou být přítomny až normální hladiny imunoglobulinů i počty B-lymfocytů.
- U 1/4 nemocných bývá v době stanovení diagnózy přítomna granulocytopenie.

# X-vázaná agamaglobulinemie

- Mutace v genu kódující Brutonovu tyrosinkinázu – důležitá pro diferenciaci B lymfocytů
- Ženy přenašečky, manifestace u mužů
- Dochází k zastavení vývoje B lymfocytů
- Nepřítomnost B lymfocytů v krevním řečišti

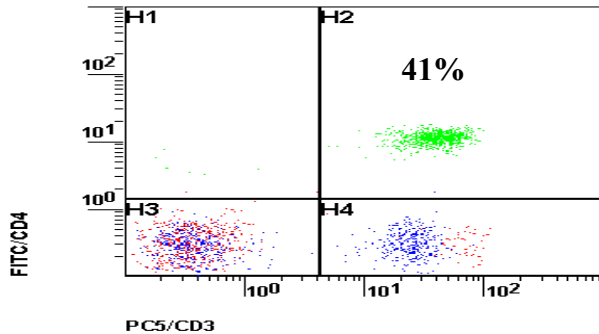


# X-VÁZÁNÁ AGAMAGLOBULINEMIE

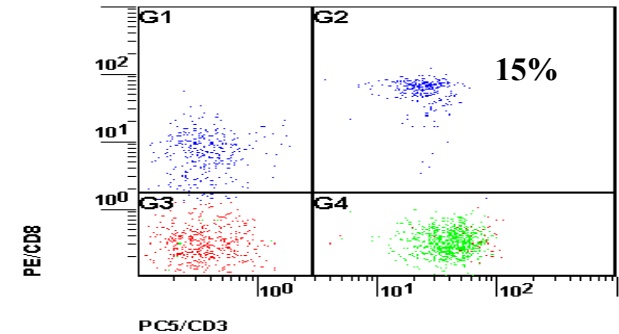
(1):Z0009576.LMD FL4 LOG/FL1 LOG A

## T LYMFOCYTY

(1):Z0009576.LMD FL4 LOG/FL2 LOG A



- CD3+ : 59 (58-85)%
- CD3+ 4+ : 41 (30-60)%
- CD3+ 8+ : 15 (15-35)%

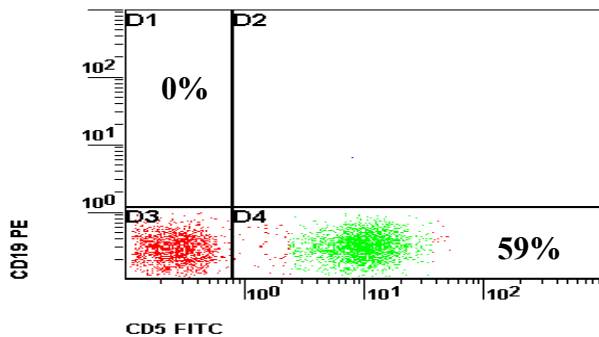


## B LYMFOCYTY

(2):Z0009578.LMD FL1 LOG/FL2 LOG A

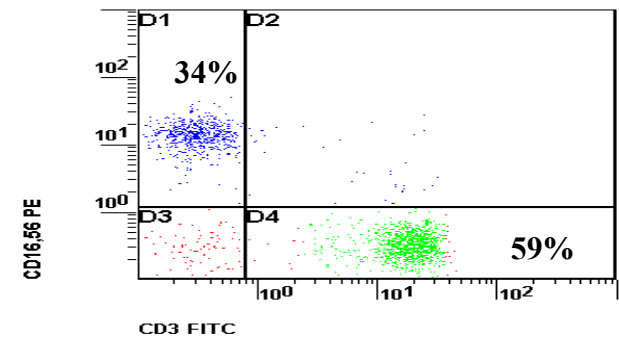
- CD19+ : 0 (7-23) %

(3):Z0009579.LMD FL1 LOG/FL2 LOG A



## NK LYMFOCYTY

- CD16,56+ : 34 (6-20)%



# Selektivní deficit IgA

- Definován jako  $\text{IgA} < 0.07 \text{ g/l}$  (normální hladiny jsou 0.8-3.6 g/l).
- Podle definice by diagnóza měla být stanovena až ve věku 4 let!
- Hladiny jsou obvykle stacionární, nedochází ke „zlepšením“.
- Prevalence v naší populaci 1:400 osob.
- Klinickou manifestací je nejčastěji zvýšená náchylnost k banálním respiračním infekcím, hlavně v předškolním věku.
- Většina IgA deficitních osob je zcela bez klinických obtíží.
- Je prokázán zvýšený výskyt autoimunitních chorob, snad i alergií.
- Pozor na výskyt anti-IgA protilátek!

# Goodův syndrom

- Hypogamaglobulinémie spojená s thymomem
- Objevuje se obvykle v 5-6 decenniu
- Snížení všech tří základních isotypů
- V 85% jsou v krvi nepřítomny B-lymfocyty
- Často přítomny anémie, leukopenie, trombocytopenie
- Objevují se i další autoimunitní choroby.

# Přechodná hypogamaglobulinémie kojenců

- Snížení sérových hladin IgG a IgA, hladiny IgM obvykle normální.
- Normální počty B-lymfocytů.
- Zachovalá specifická imunitní odpověď.
- Někdy zvýšená náchylnost k infekcí až vyžadující imunoglobulinovou substituci.

# Deficit tvorby podtříd IgG

- Definovány poklesem hladin jednotlivých podtříd pod „normální hladiny“.
- Klinicky se jednotlivé deficity prakticky neliší, většinou dominují respirační infekce.
- Kromě deficitu IgG1 mohou být celkové hladiny IgG normální.
- Zřejmě nejvýraznější klinické obtíže způsobuje deficit IgG2.
- Etiopatogeneze je nejasná, u některých pacientů byly prokázány mutace genů pro  $\gamma$ -řetězce.

# Běžná variabilní imunodeficience (CVID)

- Hypogamaglobulinémie manifestující se v jakémkoliv věku, obvykle až v dospělosti.
- Dominují příznaky infekcí dýchacích cest - opakované sinusitidy, pneumonie, bronchitidy. Může dojít k vývinu bronchiektázií a/nebo plicní fibrózy.
- Někteří pacienti udávají i častější průjmy, případně jiné lokalizace infekcí.
- Častý je výskyt autoimunitních chorob - hlavně perniciózní anémie.
- Geneticky zatím nejasné, v příbuzenstvu častý výskyt selektivního deficitu IgA.

# Prevalence CVID v roce 2011

(data ÚZIS)

---

	<b>0-5 let</b>	<b>6-14 let</b>	<b>15-19 let</b>	<b>20 let a více</b>	<b>celkem</b>
Abs. počet	1 875	2 031	1 442	8 588	13 936
Na 1000 obyvatel	3	2	3	1	1,4

---

- Běžně se udává prevalence asi 4/100 000

# Běžná variabilní imunodeficience (CVID) laboratorní nálezy

- Nízké hladiny IgG a IgA, hladina IgM je variabilní.
- Je porušena tvorba specifických protilátek.
- B-lymfocyty jsou obvykle přítomny, snížený výskyt paměťových B-lymfocytů a plazmatických buněk
- Jako infekční agens dominují opouzdřené bakterie- Haemophily, pneumokoky, St aureus.



# Diagnostický postup při nálezu hypogamaglobulinememie

## 1. Vyloučení sekundarity

- Lékové hypogamaglobulinémie
- Lymfomy
- Leukémie
- Ztráty močí, stolicí
- Monoklonální gamapatie, hlavně light-chain myeloma, nesečernující myelom

# Význam vyšetření hladin Ig v diagnostice hypogamaglobulinémií

- V kojeneckém věku:
- Hladina IgG má svůj typický průběh, běžné snížení je dáno nejčastěji fyziologickou transitorní hypogamaglobulinémií.
- Hladina IgA v tomto věku nemá výpovědní hodnotu.
- Hladina IgM: je důležitým znakem vlastní tvorby imunoglobulinů. Ale třeba u SCID může být normální, stejně jako u “hyper-IgM syndromů”.

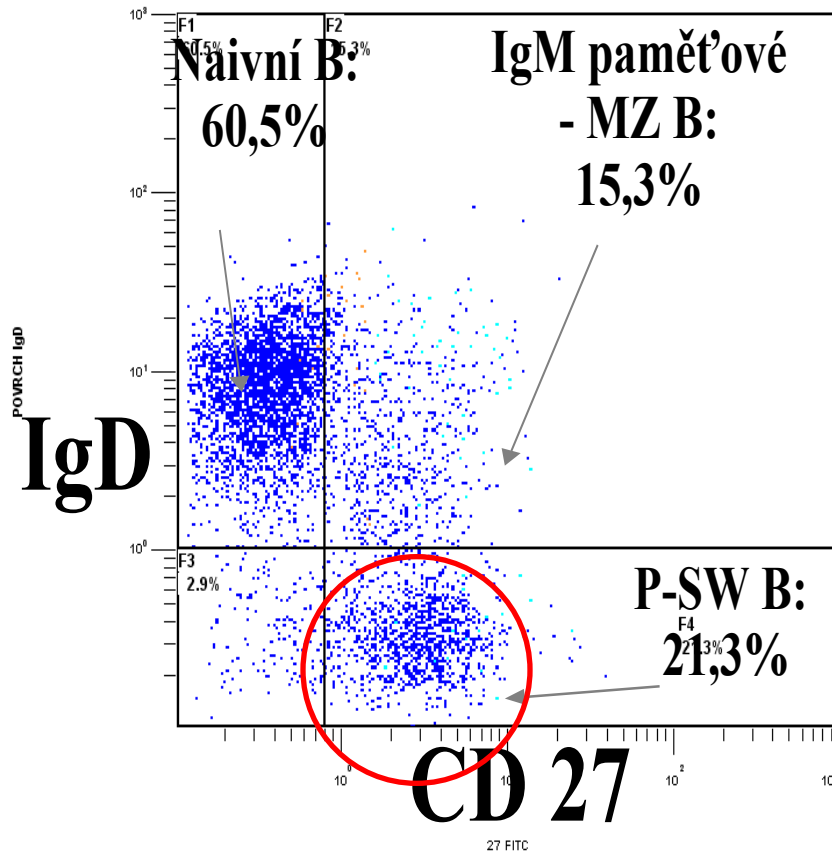
## Význam vyšetření hladin Ig v diagnostice hypogamaglobulinémií

- Ve věku cca od 2 let:
- Hladina IgG asi nejvíce vypovídá o tíži imunodeficitu pacienta
- Hladina IgA – bývá u primárních hypogamaglobulinémií obvykle výrazně snižena,
- Hladina IgM může být u CVID normální, stejně jako u „hyper IgM syndromů“

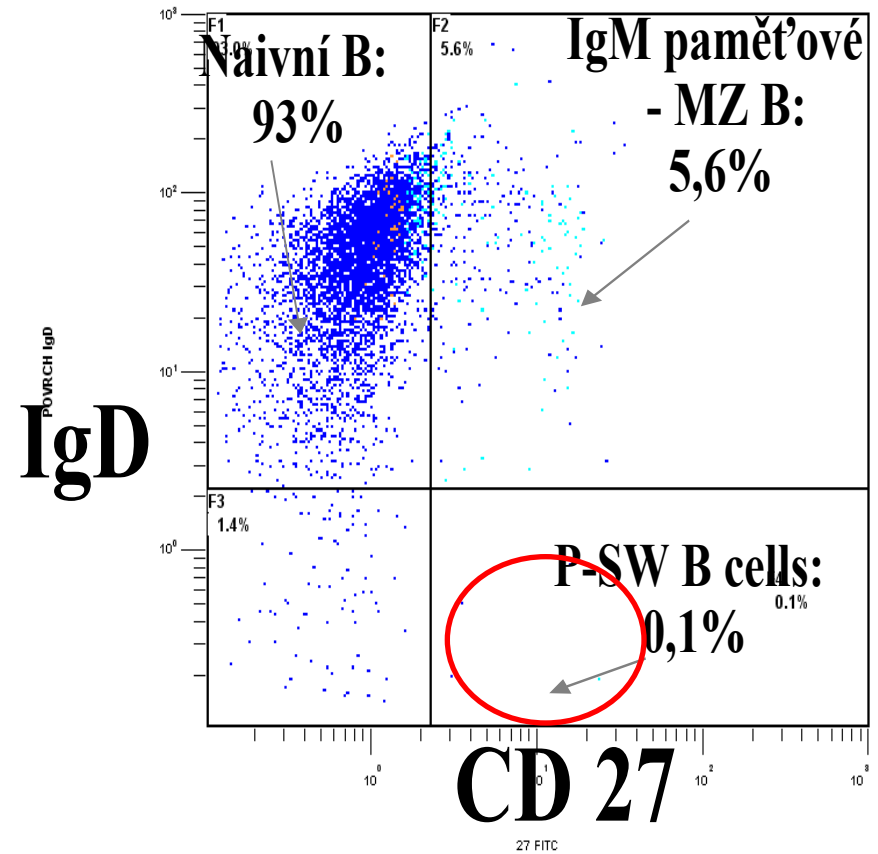
# Subpopulace B lymfocytů pacienta s CVID a zdravé kontroly

u

Kontrolní osoba



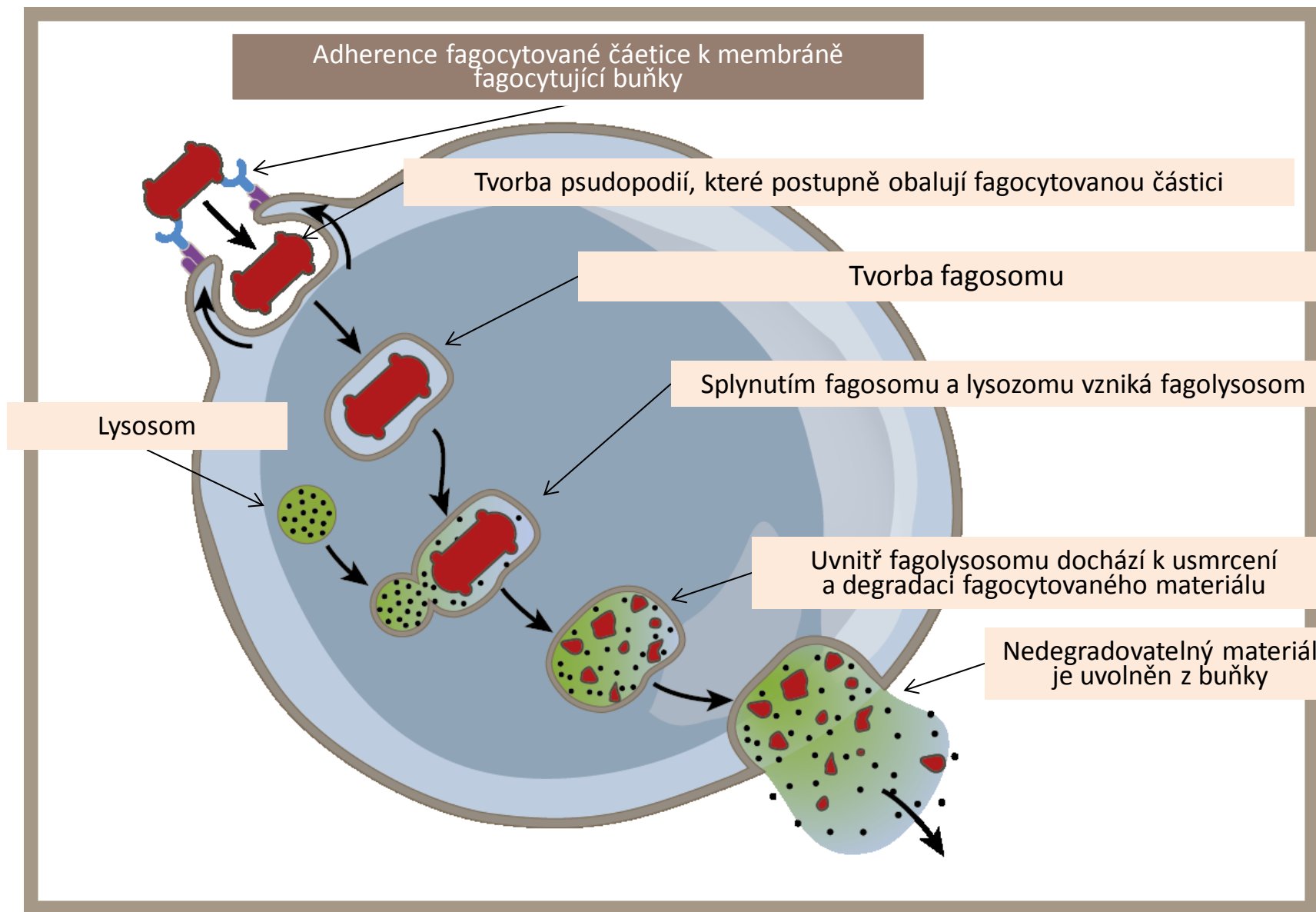
CVID pacient



# Poruchy fagocytózy

- Infekce způsobené stafylokoky, enterobakteriemi, plísněmi a mykobaktériemi
- Poruchy v počtu, adhezivitě a motilitě
- flegmózní zánět sliznic, kůže a moho vést až k sepsi
- Porucha mikrobicidních mechanismů:
  - Hnisavé infekce, lokalizované

# Fagocytóza



# Poruchy v počtu granulocytů

- **Kostmanův syndrom** – mutace faktoru HAX1 nebo v genu pro neutrofilní elastázu
  - incidence 1: 200 000
  - Počet neutrofilů je nižší než  $0,5 \times 10^9/l$
  - Nekrotizující záněty kůže a sliznic, časté bakt. infekce S.aureus, E.coli
  - Riziko rozvoje myelodisplastického syndromu nebo akutní myeloidní leukémie

# Kostmanův syndrom - diagnostika

- Laboratorní –
  - KO a diferenciál – přetrvávající neutropenie
  - V kostní dřeni pozorovatelné zastavení maturace neutrofilů ve fázi promyelocytu
- Klinická
  - Těžké bakteriální infekce v ranném dětství
  - Chronická gingivitida, stomatitida, perirektální zánět
  - Vysoká mortalita způsobená infekcemi
  - Terapie rekombinantním G-CSF – zvýšení počtu neutrofilů
  - Riziko rozvoje myelodysplastického syndromu nebo akutní myeloidní leukémie
  - Transplantace kostní dřeně



# Cyklická neutropenie

- Cyklický pokles neutrofilů v třítýdenních intervalech
- V této době jsou pacienti náchylní k infekcím typickým pro dysfunkci fagocytů
- Mutace v genu pro neutrofilní elastázu, ale v jiné oblasti než u Kostmanova syndromu
- Léčebný efekt G-CSF

# Poruchy ve funkcích fagocytujících buněk

- Chronická granulomatóza
- LAD syndrom
- Deficit myeloperoxidázy

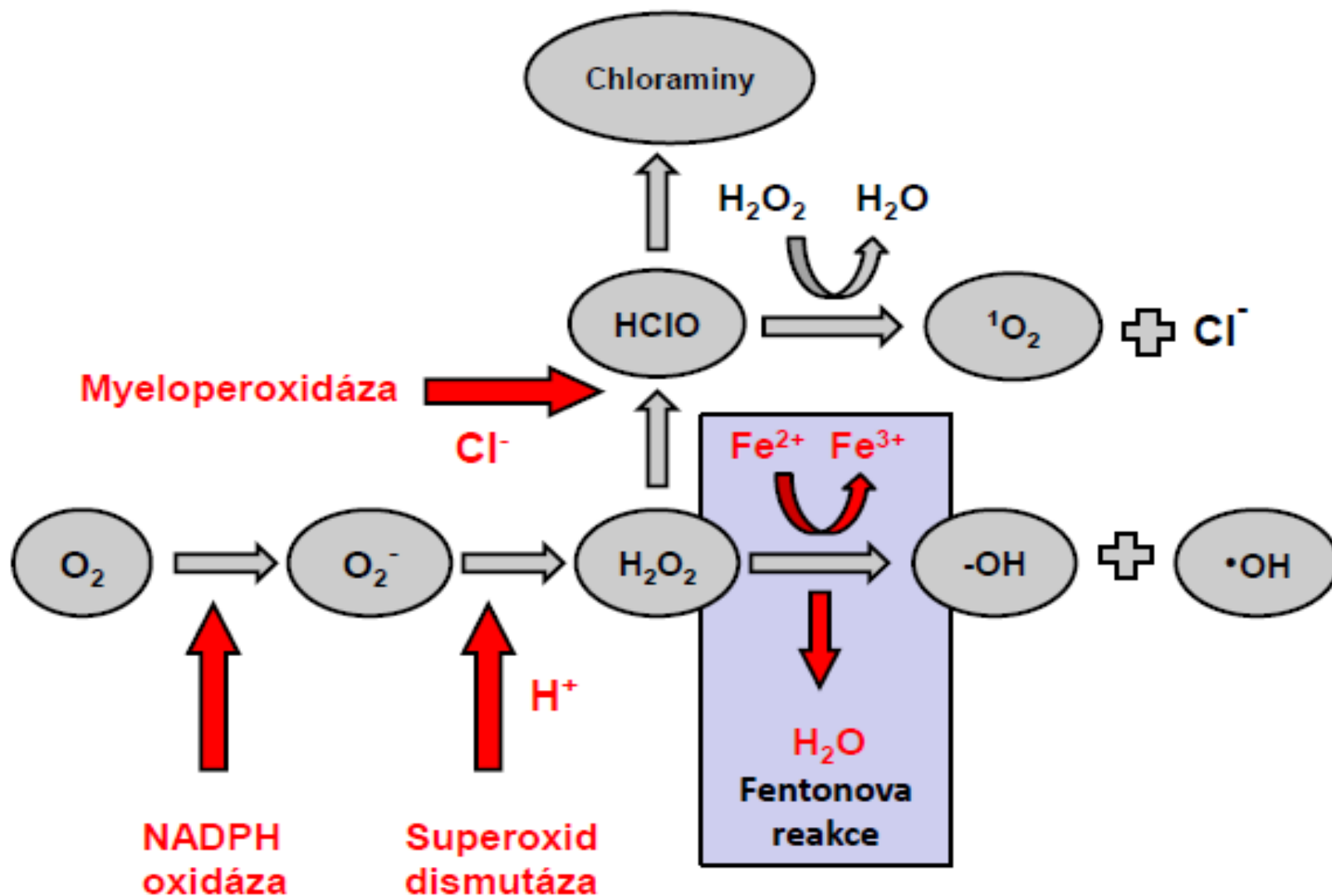
# Chronická granulomatóza

- Defekty v enzymu NADPH oxidázy
- Frekvence 1:250 000
- Náchylnost k infekcím kataláza pozitivními bakteriemi a houbovými patogeny
- Tvorba hlubokých abscesů
- Dědičnost – X- vázaná nebo autozomálně recesivní

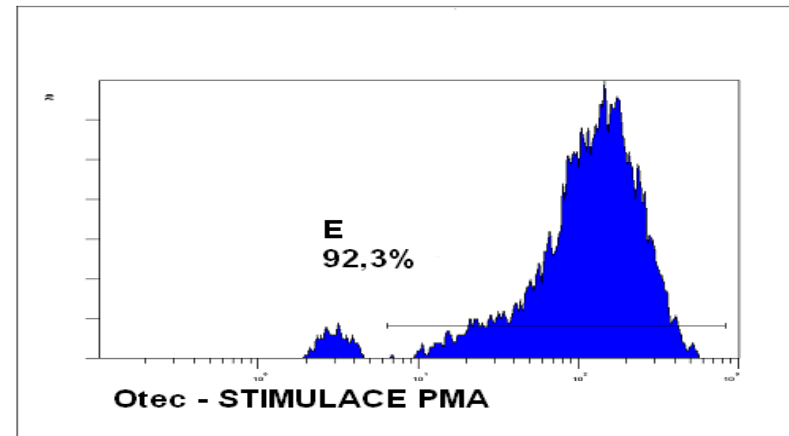
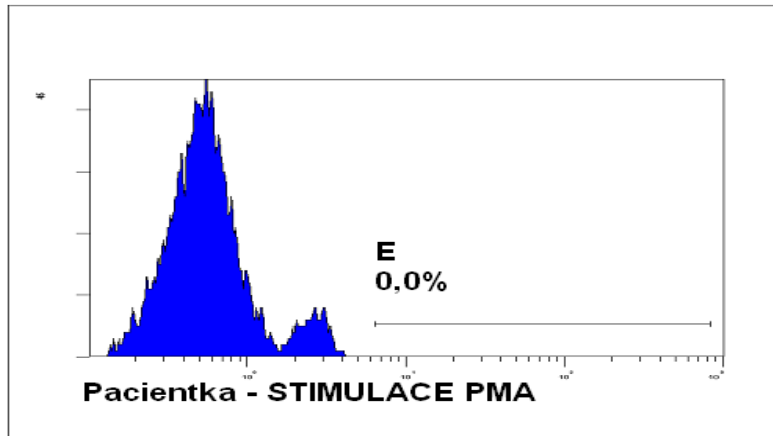
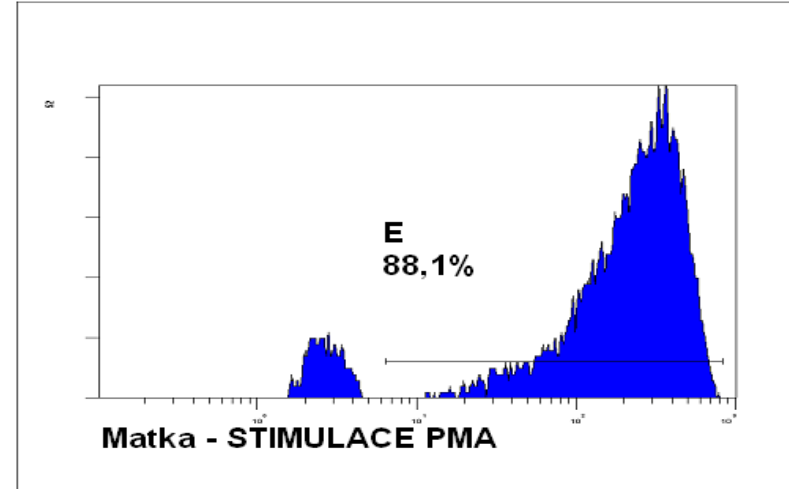
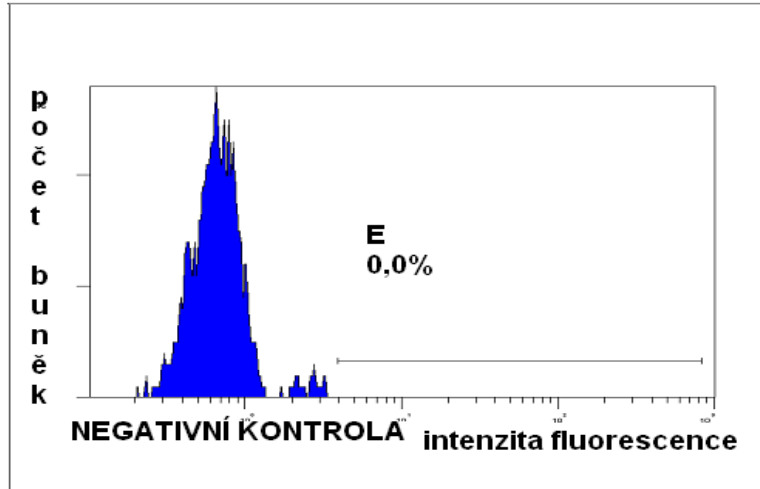
# Chronická granulomatózní choroba

- Opakované abscesy nejčastěji postihující játra, periproktální oblast, plíce, objevují se hnisavé lymfadenitidy, osteomyelitidy.
- Vznikající granulomy jsou zodpovědné za neinfekční projevy - mohou působit útlak, například žlučovodů, stenózy v různých oblastech
- Většinou poměrně časný nástup obtíží, první příznaky se však vzácně mohou objevit i v dospělosti.
- Příčinou je **porucha tvorby reaktivních metabolitů kyslíku.**

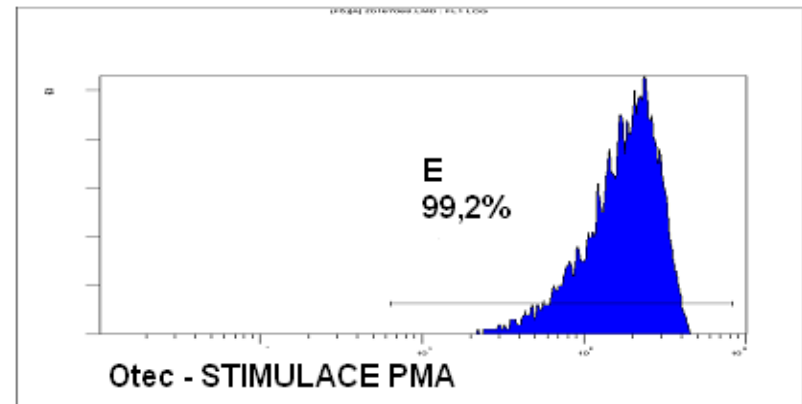
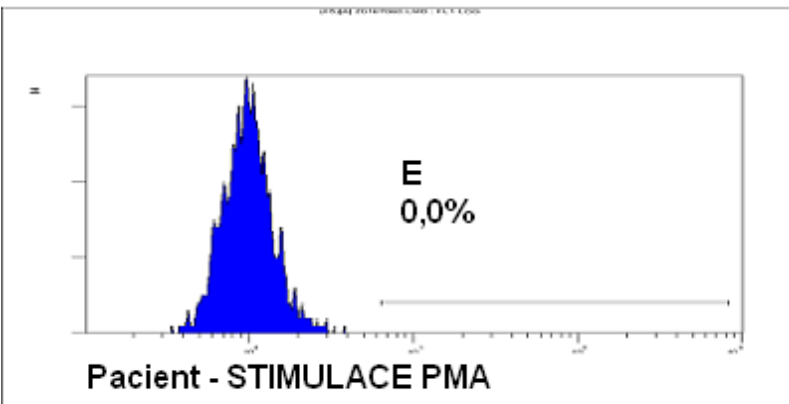
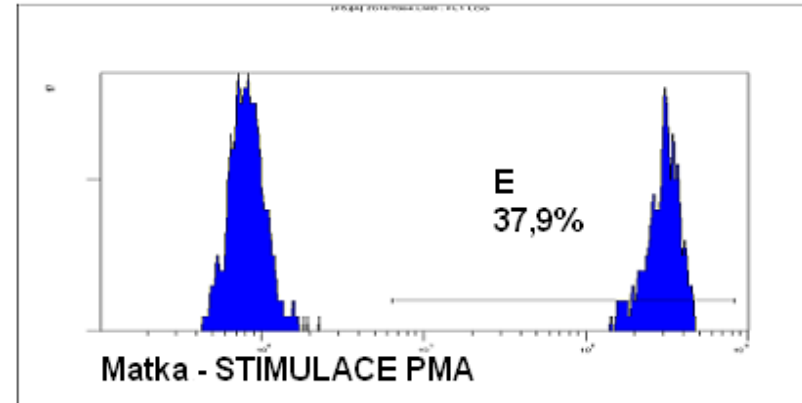
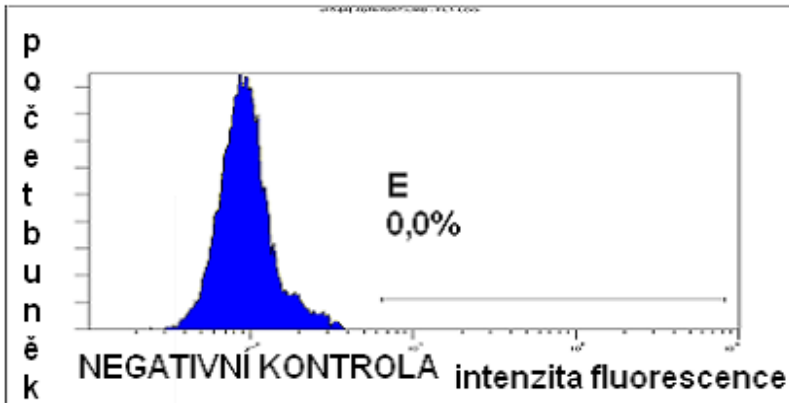
# Mechanismy nitrobuněčného zabíjení závislé na kyslíku



# Chronic Granulomatous Disease (autosomal recessive)



# Chronic Granulomatous Disease (X-linked)



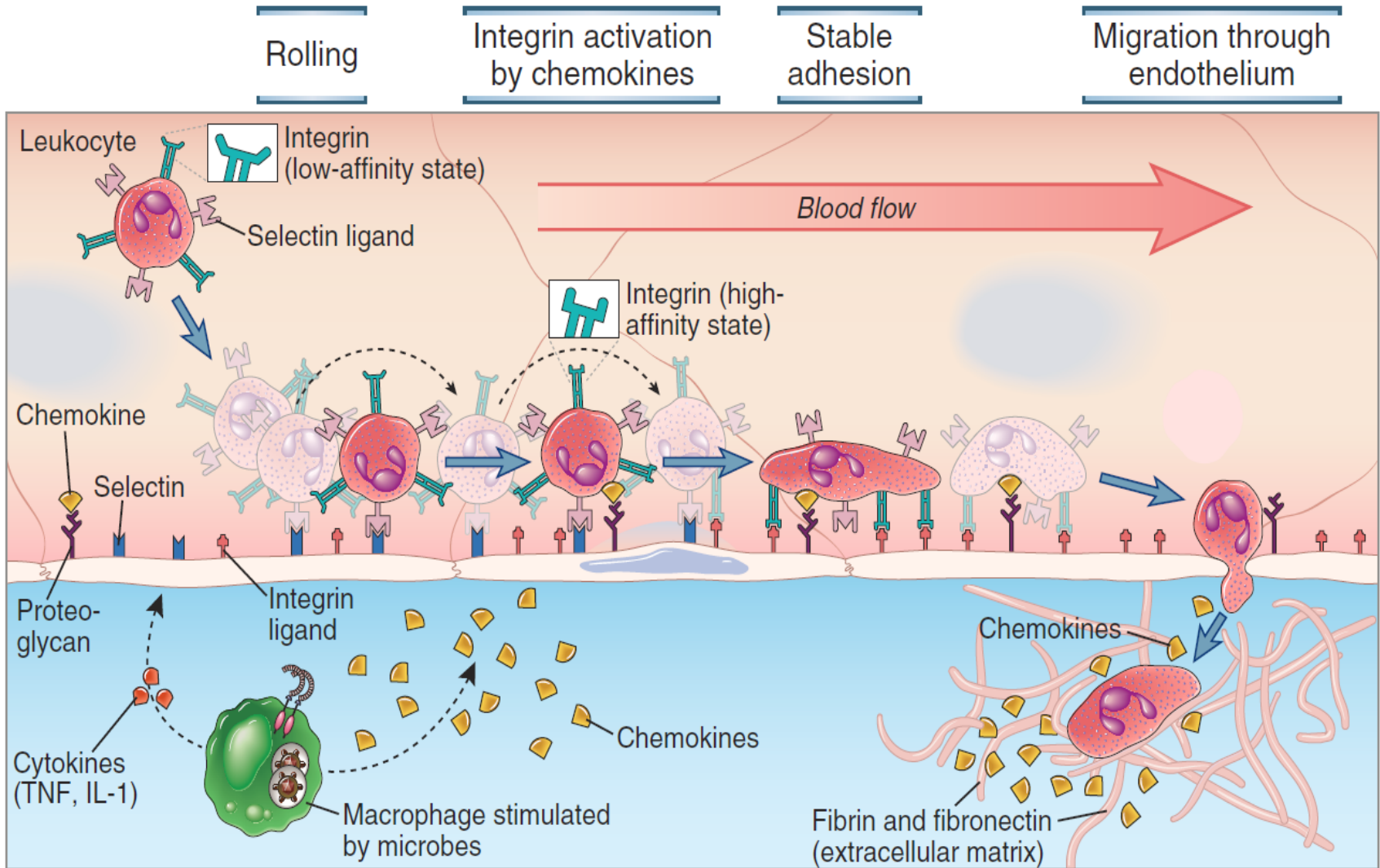
# LAD syndrom

- Leukocyte **A**dhesion **D**eficiency – deficit adheze leukocytů
- Vzácný imunodeficit spojený s poruchami integrinových a selektinových molekul na povrchu neutrofilů

LAD I	LAD II	LAD III
defekt integrinové podjednotky $\beta 2$ (CD18)	chyba v expresi CD15 a E-selektinů	defekt v procesu aktivace integrinů
spontánní mutace genu pro CD18, na chromozomu 21q22.3	Defekt genu pro fukosyl-trasferázu	Mutace genu FERMT3
1:100 000		



# Cesta leukocytů do místa zánětu

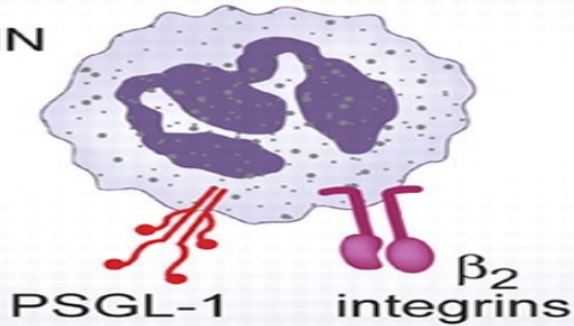


# Deficit leukocytárních integrinů (LAD-I, LADII)

- LAD-I - porucha syntézy CD18 -  $\beta$ 2podjednotka integrinů, nevytváří se komplex CD11/CD18 – integriny nutné k přechodu cév do místa zánětu.
- Častější je deficit molekuly CD18, někdy může být CD18 vyjádřena, ale je nefunkční
- LAD-II- abnormální glykosylace membránových molekul, mutace v genu kódujícím fucosyl transporter zabraňuje vstupy fukózy do Golgiho aparátu – všechny fucosylované proteiny na leukocytech je jsou silně sníženy, včetně H-antigenu na erytrocytech a molekule CD15s na leukocytech. CD15s je ligandem pro endoteliální selektin – znemožnění procesu rollingu. Pacienti mají dále růstovou retardaci a psychiatrické potíže
- LAD-III – defektivní signalizace  $\beta$ 1,  $\beta$ 2,  $\beta$ 3 integrinů na leukocytech a destičkách

## Unaffected

PMN



## LAD-I



**Integrins:**

Normal expression and function

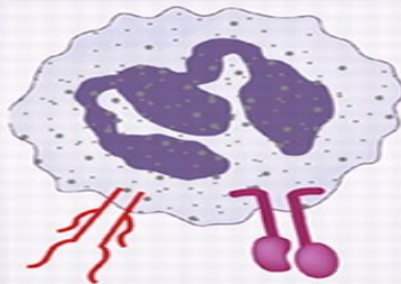
Reduced or absent expression of  $\beta_2$  integrins on leukocytes

**Selectin ligands (PSGL-1):**

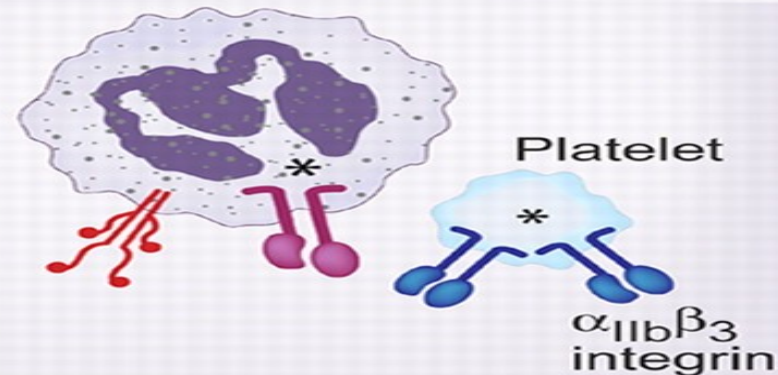
Normal expression and function

Normal expression and function

## LAD-II



## LAD-IV;LAD-III



**Integrins:**

Normal expression and function

Defective signaling of  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  integrins on leukocytes,  $\alpha_{IIb}\beta_3$  integrin on platelets

**Selectin ligands (PSGL-1):**

Defective fucosylation

Normal expression and function

# Deficity leukocytárních integrinů

- Postiženy neutrofily, makrofágy, lymfocyty
- Opožděné odhojování pupečníku s omfalitidou.
- Abscesy s malou tvorbou hnisu.
- Často postižena periproktální oblast, objevují se gingivitidy, lymfadenitidy, kožní infekce.
- Porucha hojení ran.
- V krvi výrazná leukocytóza i mimo akutní infekci.

# Myeloperoxidáza - MPO

- Nomenklatura enzymů - E.C.1.11.1.7.
- Výskyt - především neutrofilní granulocyty a monocyty
- Gen - chromosom 17q21.3-q23
- Reakce MPO s peroxidem vodíku a chloridy – vznik chlornanu až chloru – tisíckrát toxičtější než peroxid vodíku
- Reakce MPO s peroxidem vodíku a jodidy – vznik volného jodu – váže se na proteiny terčové buňky – ničení její biologické funkce

# Deficience myeloperoxidázy

- Deficience - vrozená –
  1. částečná - výskyt cca 1:2000
  2. úplná - výskyt cca 1:4000
- Dědičnost - autosomálně recesivní
- Deficience - získaná - snížená syntéza nebo zvýšená syntéza

# Cytometrické stanovení myeloperoxidázy

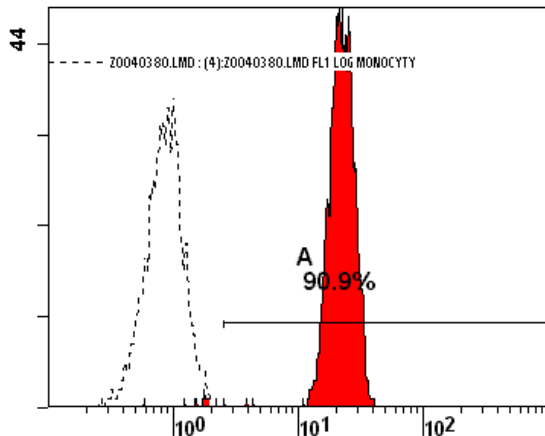
- Označení monocytů monoklonální protilátkou CD14PE
- Fixace vzorku
- Promytí
- Označení myeloperoxidázy monoklonální protilátkou proti myeloperoxidáze značenou FITC a obarvení izotypové kontroly - IZO FITC u kontrolní zkumavky
- Permeabilizace
- Promytí
- Lýza kyselinou mravenčí
- Analýza fixovaných buněk do 24h
- Vyhodnocení : % MPO pozitivních granulocytů a monocytů
- Norma: pro obě populace: 75 - 100% positivity

# Deficit MPO

## Exprese MPO - monocyty

ZDRAVÁ  
KONTROLA

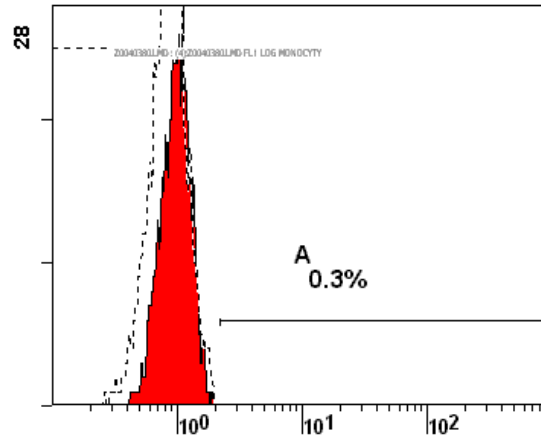
(6):Z0021369.LMD FL1 LOG MONOCYTY



MPO FITC

PACIENTKA

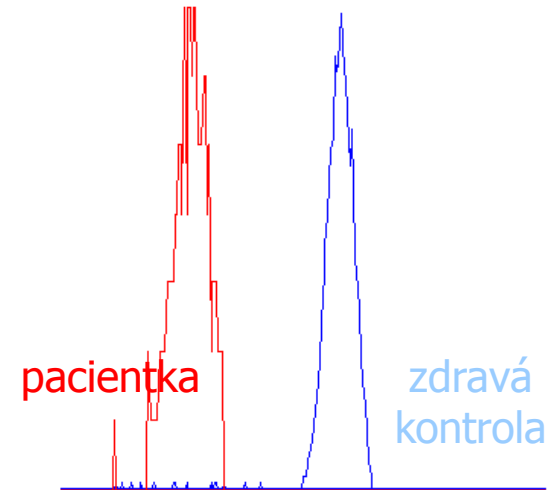
(5):Z0040381.LMD FL1 LOG MONOCYTY



MPO FITC

SROVNÁNÍ

■ MPO FITC  
■ MPO FITC



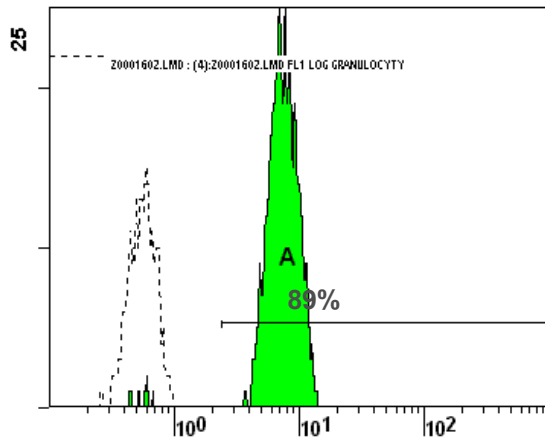


# Deficit MPO

## Exprese MPO - granulocyty

ZDRAVÁ  
KONTROLA

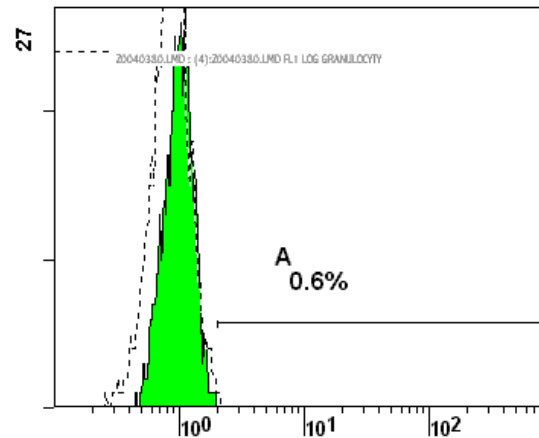
(2):Z0019678.LMD FL1 LOG GRANULOCYTY



MPO FITC

PACIENTKA

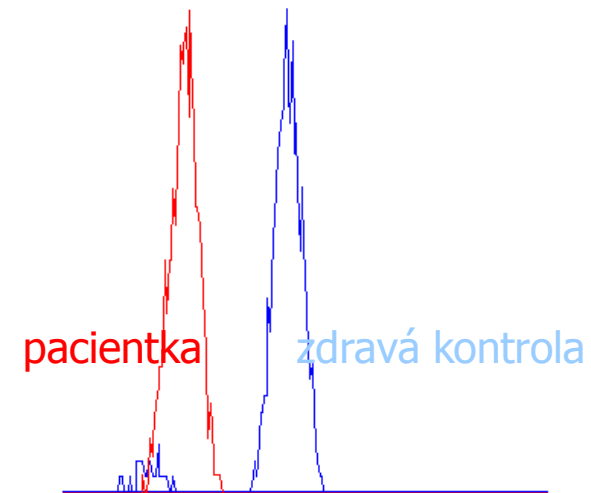
(6):Z0040381.LMD FL1 LOG GRANULOCYTY



MPO FITC

SROVNÁNÍ

■ MPO FITC  
■ MPO FITC



# Deficit MPO

## Burst test - stimulace E. coli

ZDRAVÁ  
KONTROLA

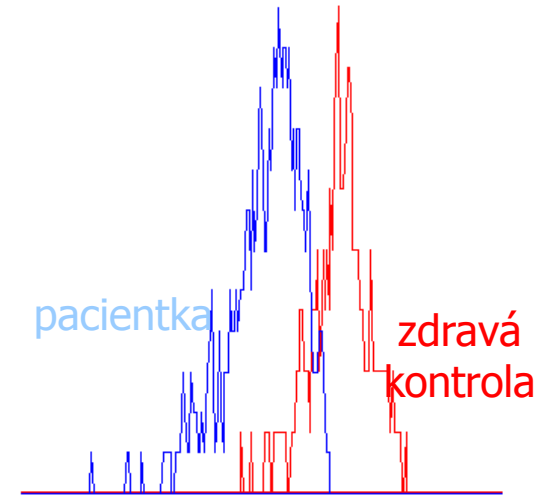
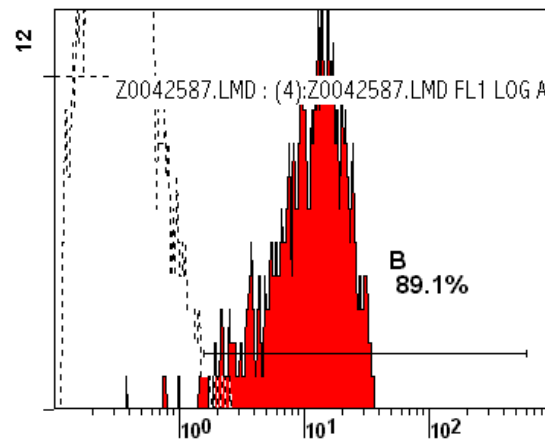
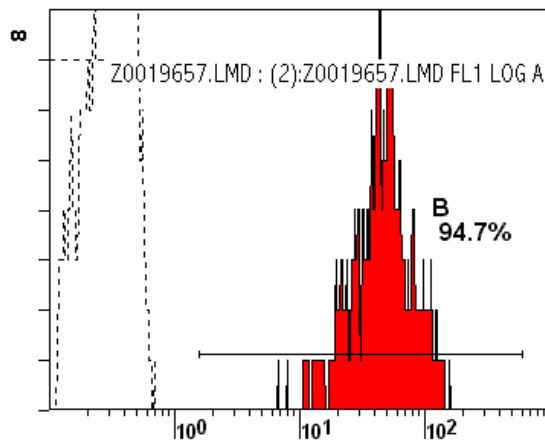
PACIENTKA

SROVNÁNÍ

(3):Z0019658.LMD FL1 LOG A

(1):Z0040296.LMD FL1 LOG A

■ STIMULACE E.C.  
■ STIMULACE E.C.



STIMULACE E.C.

STIMULACE E.C.

Počet aktivovaných  
buněk: 95%

Počet aktivovaných  
buněk: 89%

Stimulační index: 163

Stimulační index: 22

# Deficit MPO

## Burst test - stimulace PMA

ZDRAVÁ KONTROLA

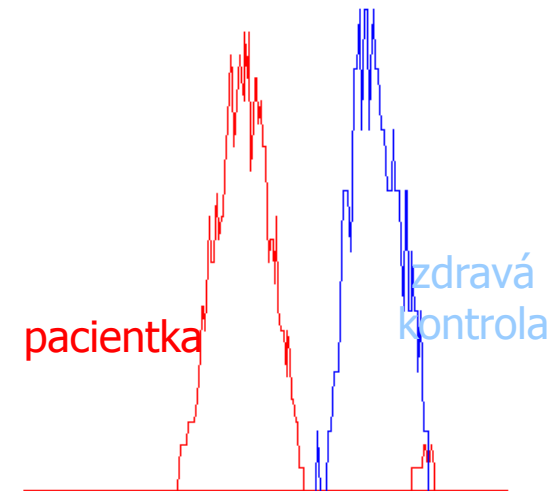
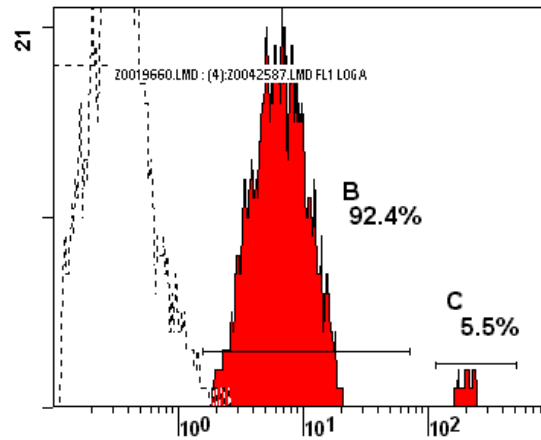
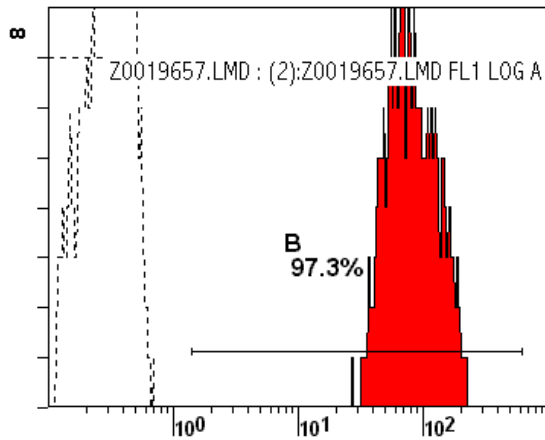
PACIENTKA

SROVNÁNÍ

(6):Z0019660.LMD FL1 LOG A

(5):Z0040298.LMD FL1 LOG A

■ STIMULACE PMA  
■ STIMULACE PMA



STIMULACE PMA

STIMULACE PMA

Počet aktivovaných buněk: 97%

Počet aktivovaných buněk: 92% a 6%

Stimulační index: 281

Stimulační index: 23 a 201

# Poruchy signálních drah vrozené imunity

- Deficience Nemo – narušena regulace intracelulární dráhy NFκB
- Deficience signálních drah TLR – deficience IRAK-4, MyD88 – zvýšená vnímavost k bakteriálním infekcím
- Deficience TLR3 – zvýšená vnímavost k virovým infekcím
- Deficience IL-17R, IL-17F – chronická mukokutánní kandidóza
- Deficience STAT-1 – narušení vyzrání subsetu TH17 – chronická mukokutánní kandidóza – (opakované infekce kvasinkami rodu *Candida* na kůži)

# Poruchy spojené s vnímavostí k mykobakteriálním infekcím

- Deficience podjednotek receptorů pro IL-12/23 – snížená syntéza IFN- $\gamma$
- Deficience podjednotek receptoru pro IFN- $\gamma$

# Poruchy komplementového systému

- Popsány poruchy všech jednotlivých složek komplementu, některých inhibitorů i receptorů pro komplementové složky
- Poruchy C1, C2, C3 a C4 – účastní se opsonizace a solubilizace imunitních komplexů
  - Immunokomplexové choroby typu SLE,
- Mohou být kombinované s hnisavými infekcemi
- Poruchy složek C3, v alternativních složkách komplementu a ve složkách C6 – C9
  - nisseriové infekce nebo bez příznaků
  - Deficience MBL – (Mannan binding lectin)
- Deficience MBL – (Mannan binding lectin) – časté infekce u dětí

# Hereditární angioedém (HAE)

- **AGNIOEDÉM**

- je náhle vzniklý **nezánětlivý** otok kůže nebo sliznic vyvolaný vazoaktivními mediátory, které jsou příčinou dilatace a zvýšené permeability cév

# Hereditární angioedém (HAE)

- Mortalita 15-33% (USA)
  - otoky laryngu → asfyxie
- Autozomálně dominantní dědičnost mutace genu pro C1-INH
  - Chromozom 11
    - 200 různých mutací genu spojeno s klinickými projevy HAE
  - Spontánní mutace činí 10-20%



# Hereditární angioedém (HAE)

- PATOGENEZE

- Podstatou vzniku je nedostatečný útlum aktivace klasické cesty komplementu kterou zajišťuje inhibitor první složky (C1-INH)
- Snížená regulace kininového systému (C1-INH normálně inhibuje kalikrein) → ↑ bradykinin

# Hereditární angioedém (HAE)

- TYPY

- I. typ: porucha biosyntézy C1-INH u 85 % nemocných
- II. typ: funkční porucha C1-INH při normální nebo zvýšené hladině C1-INH v séru
- III. typ: žádné abnormality v množství nebo funkci C1-INH

# Hereditární angioedém (HAE)

- KLINICKÉ PROJEVY
  - Recidivující náhle vzniklé masivní otoky kůže a sliznic
  - Otok dosahuje maxima během několika hodin, ustupuje spontánně během 1–4 dnů
  - Chybí svědění
  - Frekvence edémů v rozmezí několika dnů až roků
  - Nereaguje na léčbu antihistaminiky a nedostatečně na celkovou aplikaci kortikoidů

# Hereditární angioedém (HAE)

## ● KLINICKÉ PROJEVY

- nejčastěji rty, víčka, krk, horní končetiny, genitál
- otok jazyka a hrtanu
- otok sliznice GITu – nauzea, zvracení, bolesti břicha, průjem - „*akutní břicho*“
- otok sliznice močových cest – retence moči
- postižení CNS – úporné bolesti hlavy, křeče, afázie i hemiplegie

# Hereditární angioedém (HAE)

- DIAGNOSTIKA

- Anamnéza

- Vyšetření

- snížení koncentrace C1-INH na 12–50 %, snížení C4 a C2 složky komplementu, C3 v normě (TYP I)
- C1-INH snížený, normální nebo vysoký, ale funkčně neaktivní; snížení C4 a C2 (TYP II)
- Snížený C1q u pacientů bez rodinného výskytu → získaný angioedém

# Sekundární imunodeficiencie

- Neboli získané imunodeficiencie
  - Metabolické choroby – diabetes, uremie
  - Imunosupresivní, cytostatická léčba, ozařování
  - Poruchy výživy, choroby zažívacího traktu, dlouhodobé redukční diety
  - Alkoholismus
  - Věk
  - Závažná poranění, polytraumata, popáleniny, stavy po rozsáhlých operacích
  - Virové a chronické infekce
  - Chronická expozice chemickým škodlivinám
  - Chronické stresové situace

# Dřeňové útlumy

- Příčiny : Léky a chemikálie: benzen a příbuzné chemikálie, antibiotika, cytostatika a imunosupresiva.... viry, nádorová onemocnění
- Závažnost projevů imunodeficiencie je determinovaná počtem neutrofilů: koncentrace 500-1000bb/ul – 20% riziko infekce, při koncentraci pod 500bb/ul – riziko 50% infekce; 100bb/ul – riziko infekce =100%
- Projevy – horečka, třesavka, nekrotizující záněty v dutině ústní, vulvě, konečníku, pneumonie, krvácivé projevy

# Imunodeficiencie při periferních poruchách granulocytů

- Autoimunitní idiopatická neutropenie
- Protilátky proti povrchovým strukturám neutrofilů ( např. CD16, CD11a, CD11b... v závislosti na typu onemocnění)
- U některých pacientů se SLE, RA, Sjögrenovou chorobou, smíšenou chorobou pojiva, autoimunitní cytopenickou purpurou, chronickou aktiní hepatitidou, Gravesovou – Basedovou chorobou, Hashimotovou thyreoiditidou
- Příčiny: ovlivnění počtu nebo funkce zralých neutrofilů v periferní krvi přítomností extracelulárních faktorů: autoprilátek, imunokomplexů, cytokinů, toxických metabolitů při metabolických chorobách
- Závažnost a klinika viz poruchy dřeně



# Imunodeficiencie po splenektomii

- Způsobena poruchou fagocytózy ve slezině i na periférii (deficit tuftsinu), snížená tvorba antipolysacharidových protilátek.
- Nejzávažnější komplikací je rozvoj hyperakutní pneumokové sepse.
- Prevence: očkování proti pneumokokům, meningokokům, Haemophilus influenzae b, profylaktické podávání PNC.

# Imunodeficiencie při periferních poruchách lymfocytů

- Lymfopenie při autoimunitních systémových onemocněních (např. SLE)
- Lymfopenie při imunosupresivní léčbě (cyklosporin, anti-T-lymfocytární monoklonální protilátky)
- Lymfopenie při virových onemocněních
- Častější výskyt herpetických a respiračních onemocnění
- Zvýšená spontánní stimulace x snížená proliferace po stimulaci PHA, snížená produkce IL-2

# Imunodeficiencie při sekundárních protilátkových poruchách

- Poruchy tvorby Ig – imunosupresivní léčba, nádorové onemocnění B-lymfocytů, ztráty imunoglobulinů – nefrotický syndrom, závažná střevní onemocnění, střevní lamfangiektázie
- Porucha opsonizační a neutralizační funkce Ig, není porušena tvorba specifických protilátek na nové Ag
- Zvýšená náchylnost k infekcím opouzdřenými mikroorganismy

# **Sekundární hypogamaglobulinémie**

- **Poruchy tvorby protilátek**
  - Chronická lymfatická leukémie
  - Lymfomy
  - Plasmacytomy
- **Zvýšené ztráty imunoglobulinů**
  - Nefrotický syndrom
  - Exudativní enteropatie
  - Střevní lymfangiektázie

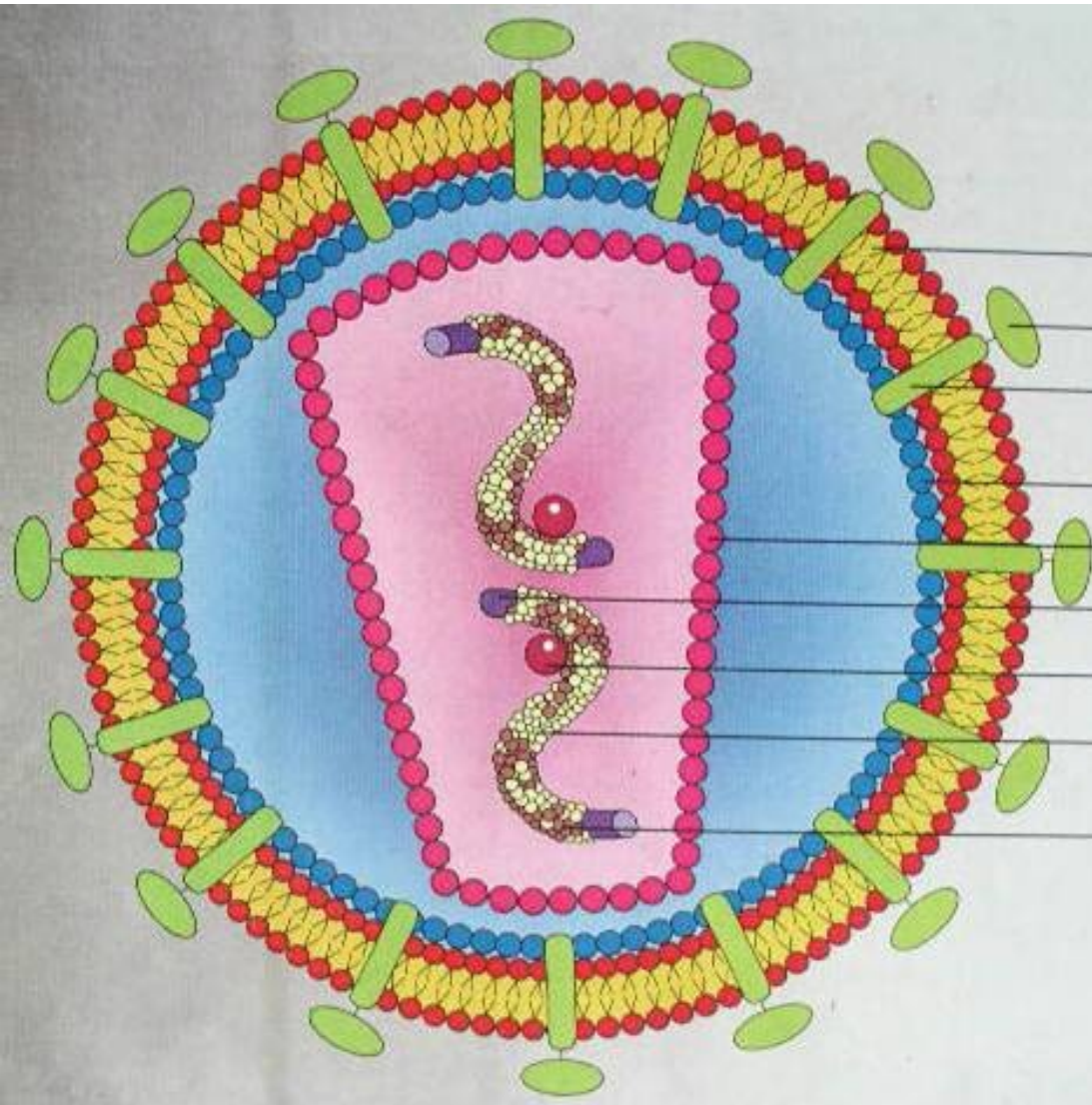
# **Sekundární hypogamaglobulinémie**

- **Poruchy tvorby protilátek**
  - Chronická lymfatická leukémie
  - Lymfomy
  - Plasmacytomy
- **Zvýšené ztráty imunoglobulinů**
  - Nefrotický syndrom
  - Exudativní enteropatie
  - Střevní lymfangiektázie

# Sekundární buněčné imunodeficiencie

- Syndrom získané imunodeficiencie – AIDS
- Infekce virem HIV-1 nebo HIV-2
- Vazba na receptor CD4 nebo na receptory pro chemokiny (CCR5, CXCR4)
- Přenos krví, pohlavním stykem, transplacentárně a mateřským mlékem

# Virus HIV



Fosfolipidová membrána

gp120 povrchový GP

gp41 transmembránový GP

p17M myristilovaný protein

p24 protein tvořící kapsidu

RNA

p51 reverzní transkriptáza

p7 bílkoviny navazující

p9 na nukleové kyseliny

# Virus HIV

**retrovirus** (RNA virus) z čeledi *Retroviridae*, rod *Lentiviridae*

**Reverzní transkriptáza** - umožňuje přepis genetické informace viru z RNA do DNA přepis genetické informace viru z RNA do DNA,

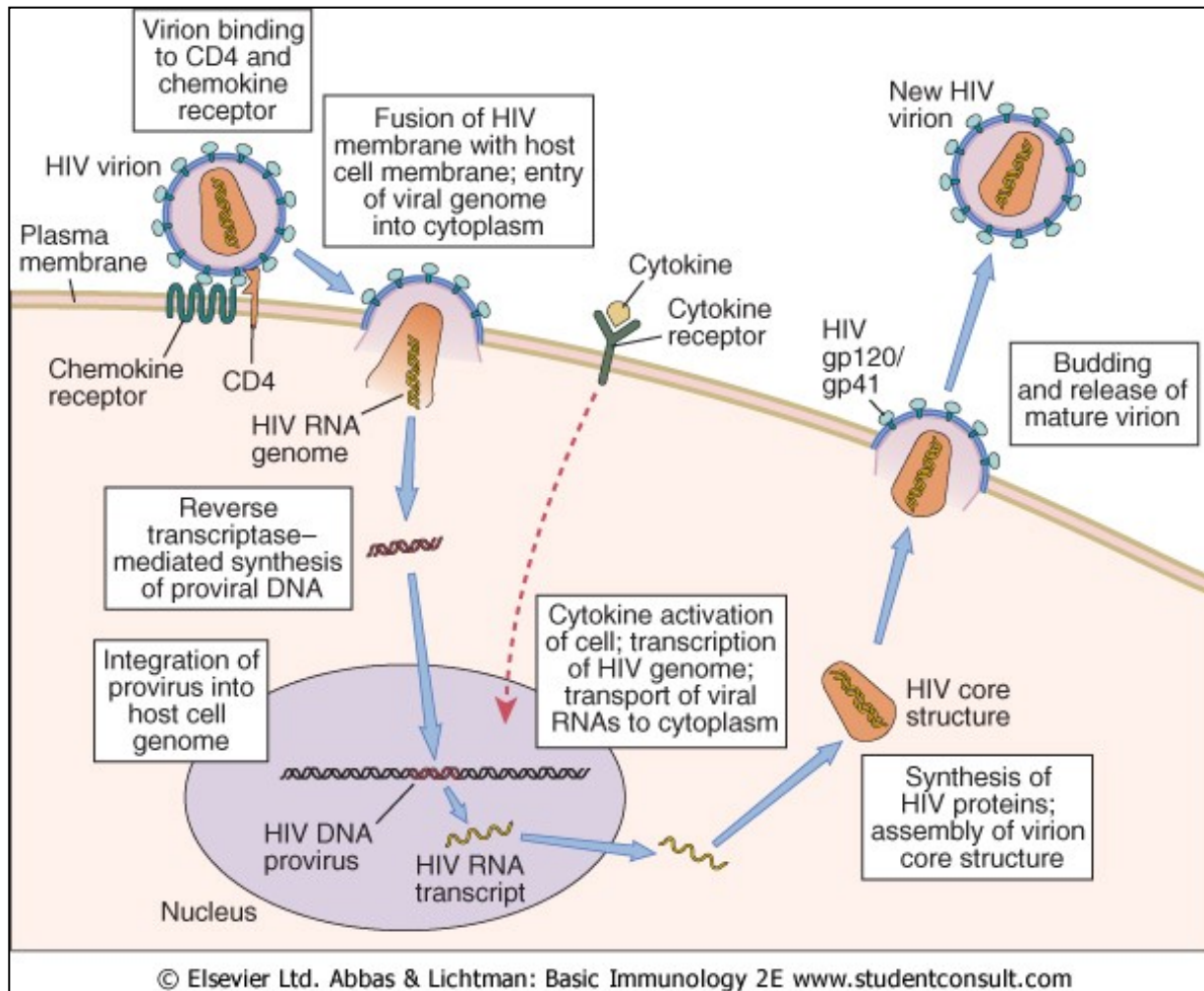
**Integráza** umožňuje integraci takto vzniklé DNA do DNA hostitelské buňky

## Faktory patogenity:

- vysoká reprodukční schopnost -10<sup>9</sup> až 10<sup>12</sup> virionů za hodinu
- životnost jednoho virionu je asi 6 hodin, životnost T-buněk v krvi je asi 2,5 dne
- ve snaze vyrovnat úbytek T-ly dojde k vyčerpání organismu

**Velká antigenní variabilita**, která je důsledkem rychlého množení a vyšší pravděpodobnosti chyb (mutcí) při kopírování nukleové kyseliny.





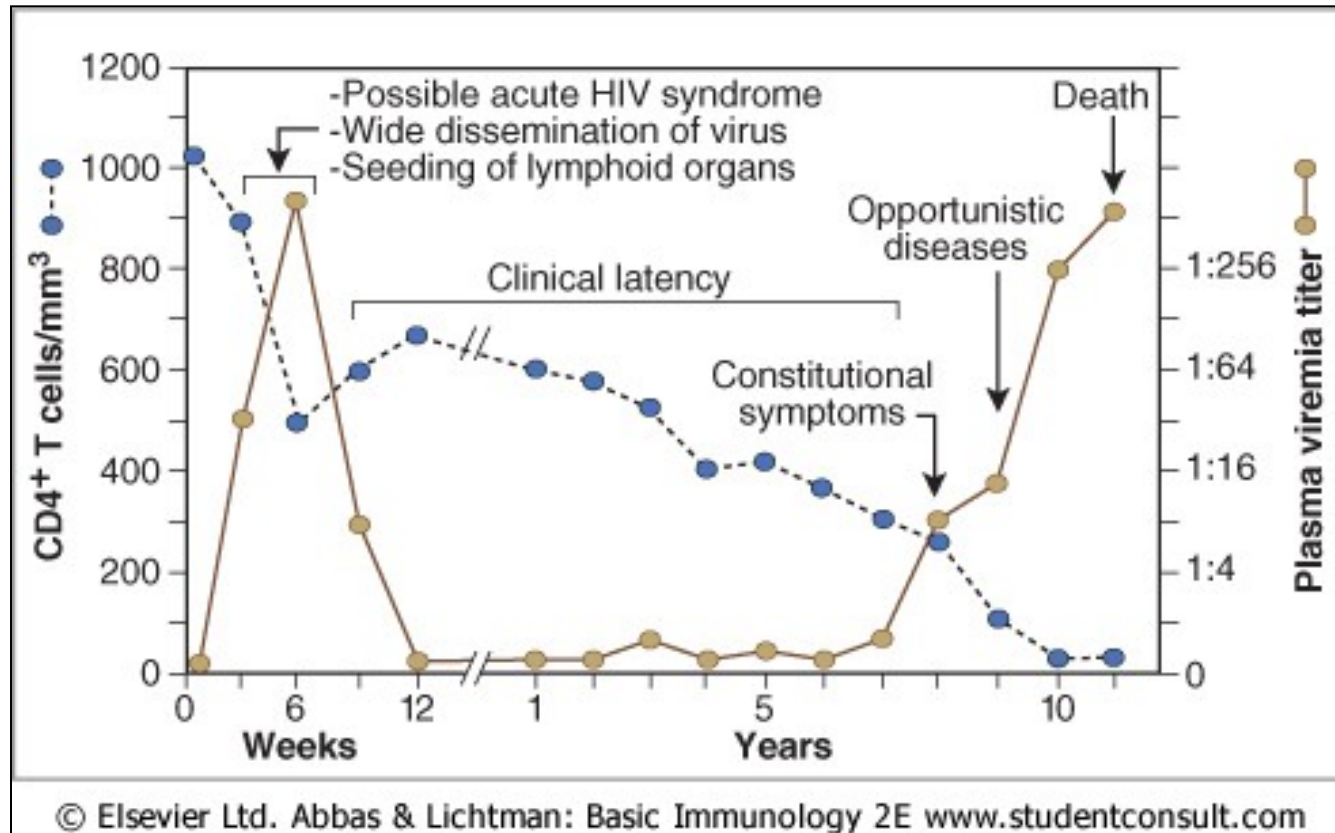
# Fáze HIV

- HIV se váže na receptor CD4+ (T-pomocné lymfocyty) jako koreceptor používá používá receptor pro chemokiny
- pomocí reverzní transkriptázy a integrázy se RNA přepíše do DNA a včlení se do genomu
- infikovaná buňka může produkovat velká množství virových částic, sama potom zaniká (lymfocytopenie) a další infikuje

## **Fáze:**

**Akutní** - horečka a zduření uzlin (podobné chřipce)

- velké množství virových částic v krvi, probíhá intenzivní imunitní reakce (přechodný pokles CD4+, poté pokles virových částic a tvorba anti-HIV protilátek a virově specifických klonů T-lymfocytů)



# Fáze HIV

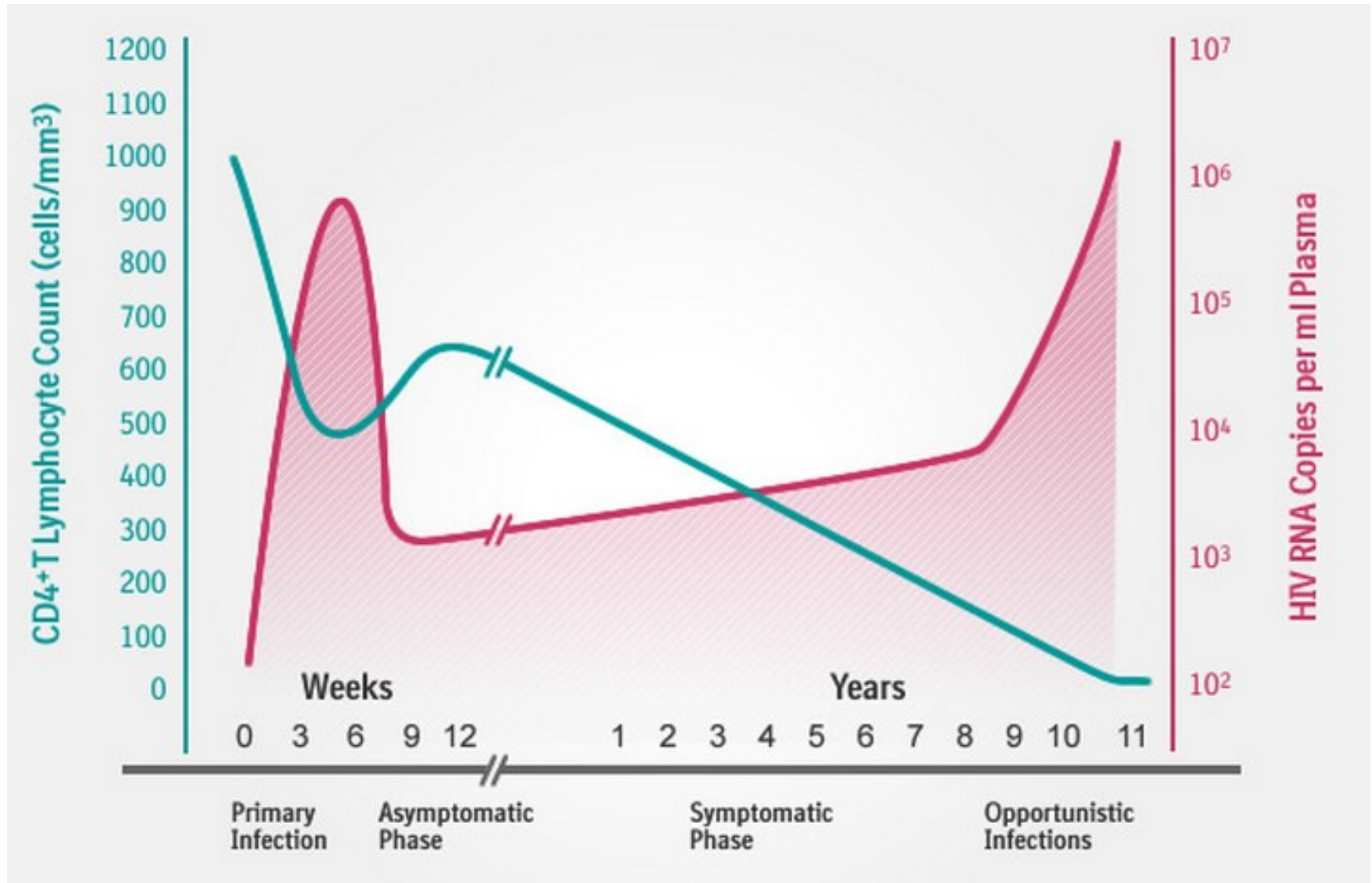
## **Asymptomatická**

- trvá několik let bez projevů
- napadení dalších CD4+, které hynou (nahrazeny nově vzniklými z thymu až do vyčerpání)
- zároveň probíhá destrukce makrofágů a jiných antigen prezentujících buněk infikovaných HIV

## **Symptomatická**

- začíná se projevovat porucha imunity - propukají různá infekční onemocnění
- klesá počet CD4+ (až k nule) a klesá i množství antivirových protilátek a antivirových T-lymfocytů
- selhání imunity - zvýšená incidence alergií, nádorových a autoimunitních onemocnění
- postižení umírají nejčastěji na opotunní infekce (TBC, pneumocystová pneumonie, encefalitida, kandidóza, impetigo)

# CD4+ lymphocyte T a symptomatologie HIV infekce



# HIV/AIDS

## Klinické kategorie

- A) akutní infekce za 3-6 týdnů od nákazy, fáze asymptomatického průběhu, generalizovaná lymfadenopatie
  
- B) nespecifické příznaky trvající déle než měsíc, horečka nad 38,5 st.C, průjmy, „malé“ oportunní infekce, periferní neuropatie
  
- C) „velké“ oportunní infekce, nádory i jiné stavy

# HIV/AIDS

## Laboratorní kategorie

- 1) T-lymfocyty CD4+ 500/  $\mu$ L (28%)
- 2) T-lymfocyty CD4+ 200-500/  $\mu$ L (14-28%)
- 3) T-lymfocyty CD4+ 200/  $\mu$ L (14%)

# AIDS - syndrom získané imunodeficiency

Je definován jako soubor klinických forem onemocnění, především oportunních infekcí a malignit, které se rozvinou v důsledku destrukce funkcí imunitního systému virem HIV.

Virus přetrvává v organismu od jeho získání nepřetržitě, infekce probíhá s neúprosnou progresí a končí smrtí.

Klinické známky onemocnění se vyvíjejí tak, že lze postupně rozlišovat různá vývojová stádia, která jsou v současnosti formulována v mezinárodně uznávané klasifikaci.



# Klinická kategorie A

- asymptomatická HIV infekce
- perzistující generalizovaná lymfadenopatie
- akutní (primární) HIV infekce

# Klinická kategorie B

- horečka >38,5 st.C déle než měsíc
- průjem déle než měsíc
- orofaryngeální kandidová infekce
- vulvovaginální kandidová infekce  
(chronická nebo obtížně léčitelná)
- herpes zoster recidivující nebo postihující více dermatomů
- orální „vlasatá“ leukoplakie

# Klinická kategorie C ( AIDS )

- pneumocystová pneumonie
- toxoplazmová encefalitida
- ezofageální, tracheální, bronchiální nebo plicní kandidóza
- chronický anální herpes simplex nebo herpetická bronchitida, pneumonie nebo ezofagitida
- CMV retinitida, generalizovaná CMV infekce
- progresivní multifokální leukoencefalopatie
- mykobakteriální infekce

# Klinická kategorie C ( AIDS )

- Kaposiho sarkom
- maligní lymfomy (Burkittův, imunoblastický a primární cerebrální lymfom)
- Encefalopatie
- Končí smrtí



# Diagnostika HIV infekce

- Průkaz protilátek
  - ELISA
  - Western blott
- Průkaz antigenu p 24

# Diagnostika

- ELISA – sérum, přítomnost protilátek proti virovým antigenům p24, gp120 (ELISA)
- Western blot – detekuje přítomnost protilátek proti proteinům viru (core-proteiny, polymerázy, envelope-proteiny)
- Oba pozitivní, je zahájena léčba

# Metody nepřímé diagnostiky

**anti-HIV** – specifické protilátky  
proti transmembránovému  
glykoproteinu v zevním obalu viru

- ELISA
- Western blot (WB) – specifičtější,  
méně senzitivní

**anti-p24** - proti antigenu p24

# Metody nepřímé diagnostiky

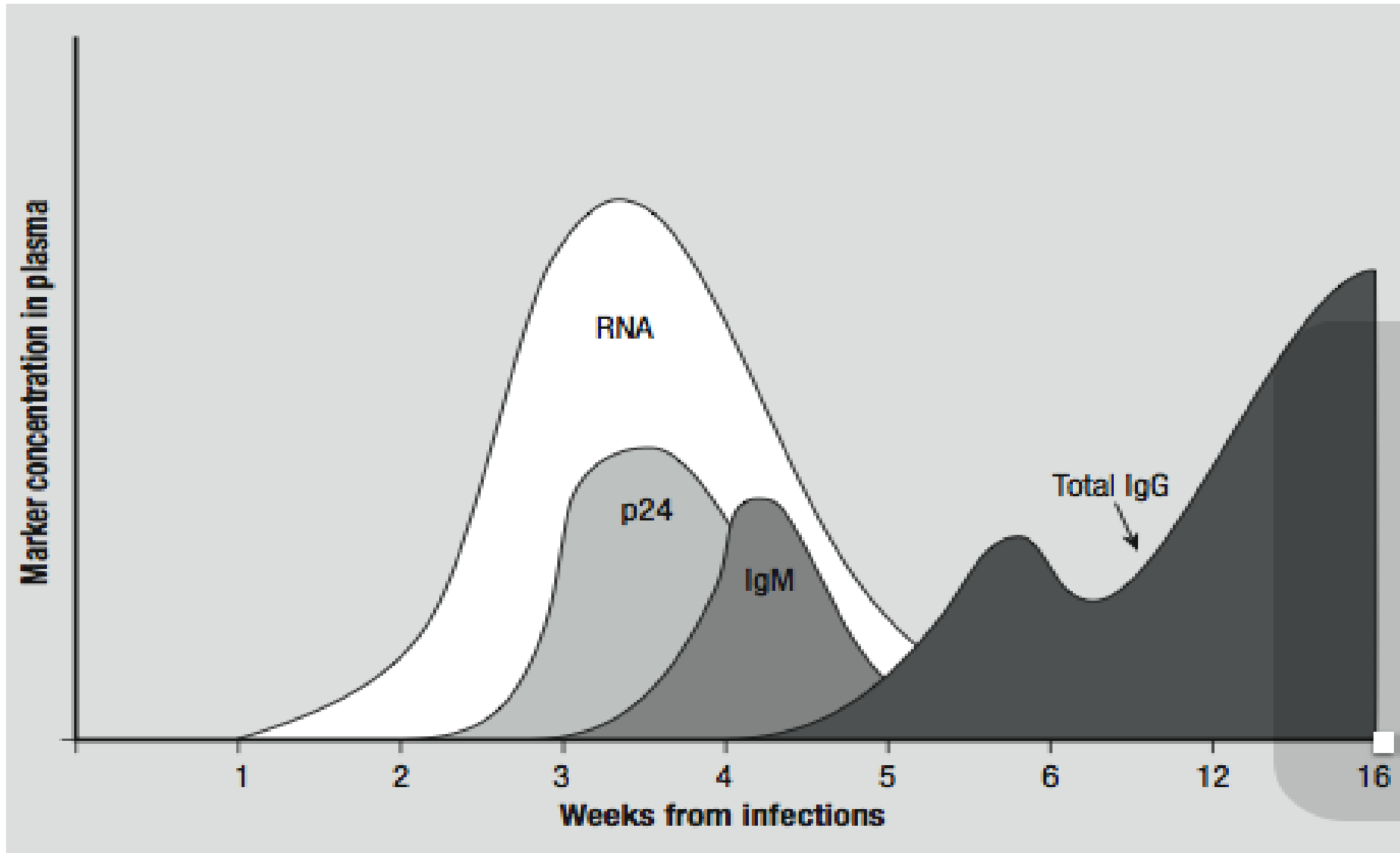
**anti-HIV** – specifické protilátky  
proti transmembránovému  
glykoproteinu v zevním obalu viru

- ELISA
- Western blot (WB) – specifičtější,  
méně senzitivní

**anti-p24** - proti antigenu p24



# Markery v plazmě



# Metody testování

- A) Screeningové testy
  - -ELISA (4 generace), rapid test (částicová aglutinace, imunodot, imunofiltrace, imunochromatografie)
- B) Konfirmační testy
  - -pokud je scr.test + pro potvrzení diagnózy
  - -WB, LIA (line immune assays – rekombinantní proteiny), detekce RNA (PCR)

# některé pojmy



Diagnostické okno (window period)

= *období, kdy nejsou detekovatelné specifické anti-HIV protilátky (časná infekce)*

Set-point

= *hladina RNA udržovaná aktivitou IS*

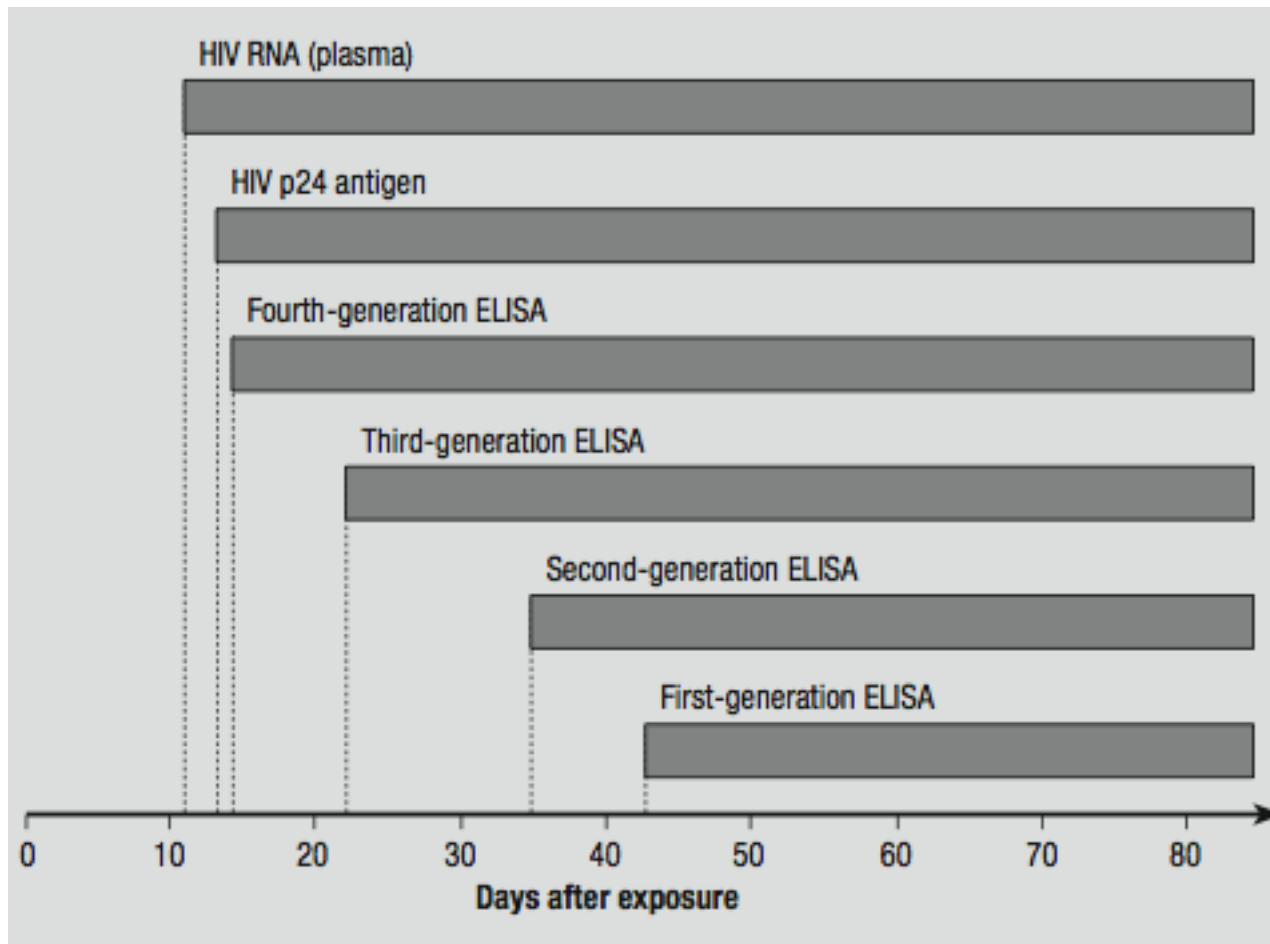
Viral load

= *koncentrace virové RNA v plazmě (kvantitativní test)*

# ELISA (EIA)

- 1985 I.generace: senzitivní, málo specifická, Ab 40 dní po infekci, virový lyzát
- 1987 II.generace: rekombinantní proteiny a HIV Ag, Ab cca 33dní po inf.
- 1990 – rostoucí variabilita HIV (HIV-1, HIV-2, Ag M,N,O...antigenový konjugát k průkazu imunokomplexu, Ab 22 dní po inf.
- IV.generace...technicky náročnější a drahá, detekce Ag p24 i Ab anti-p24 zkracuje window period na úroveň detekovatelnosti RNA
- Riziko 2. diagnostického okna (p24 pokles před detekovatelností Ab)

# ELISA – zkrácení diagn.okna



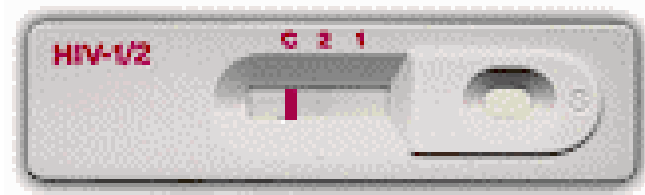
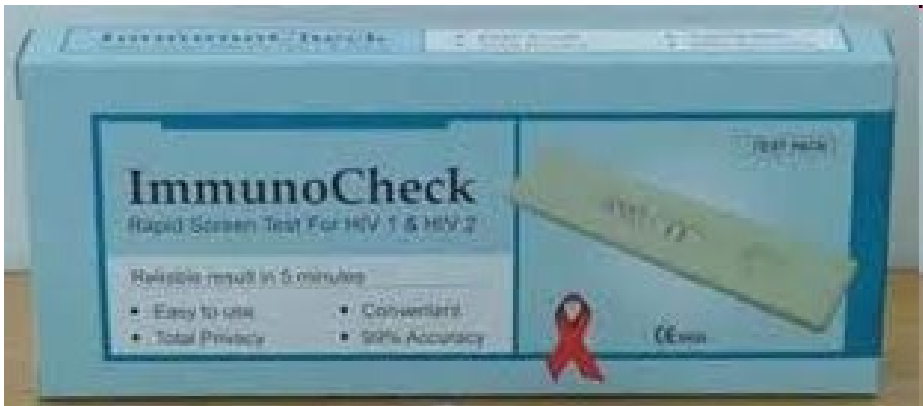
# Rapid testy

- Stále ve vývoji
- Výsledek za 15 min
- Krev, sliny, moč
- Většinou II.gen EIA (rekombinantní proteiny), imunodot, imunochromatografie, částicová aglutinace)
- - nepřesnost, chyby personálu, špatné vyhodnocení doma, nevhodné v obl.s vysokou incidencí a prevalencí nemoci, testy různých firem různě spolehlivé
- + snadné, nenáročné na vybavení a čas

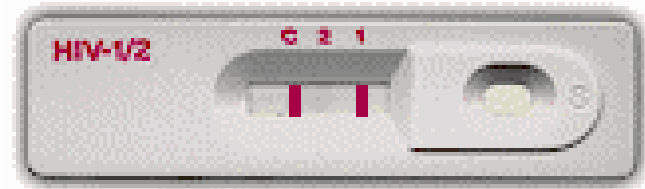
# Zařízení pro testování ze slin



Principem je  
imunochromatografie



**NEGATIVE**



**POSITIVE HIV 1**



**POSITIVE HIV 2**



**POSITIVE HIV 1 & 2**



**INVALID TEST**

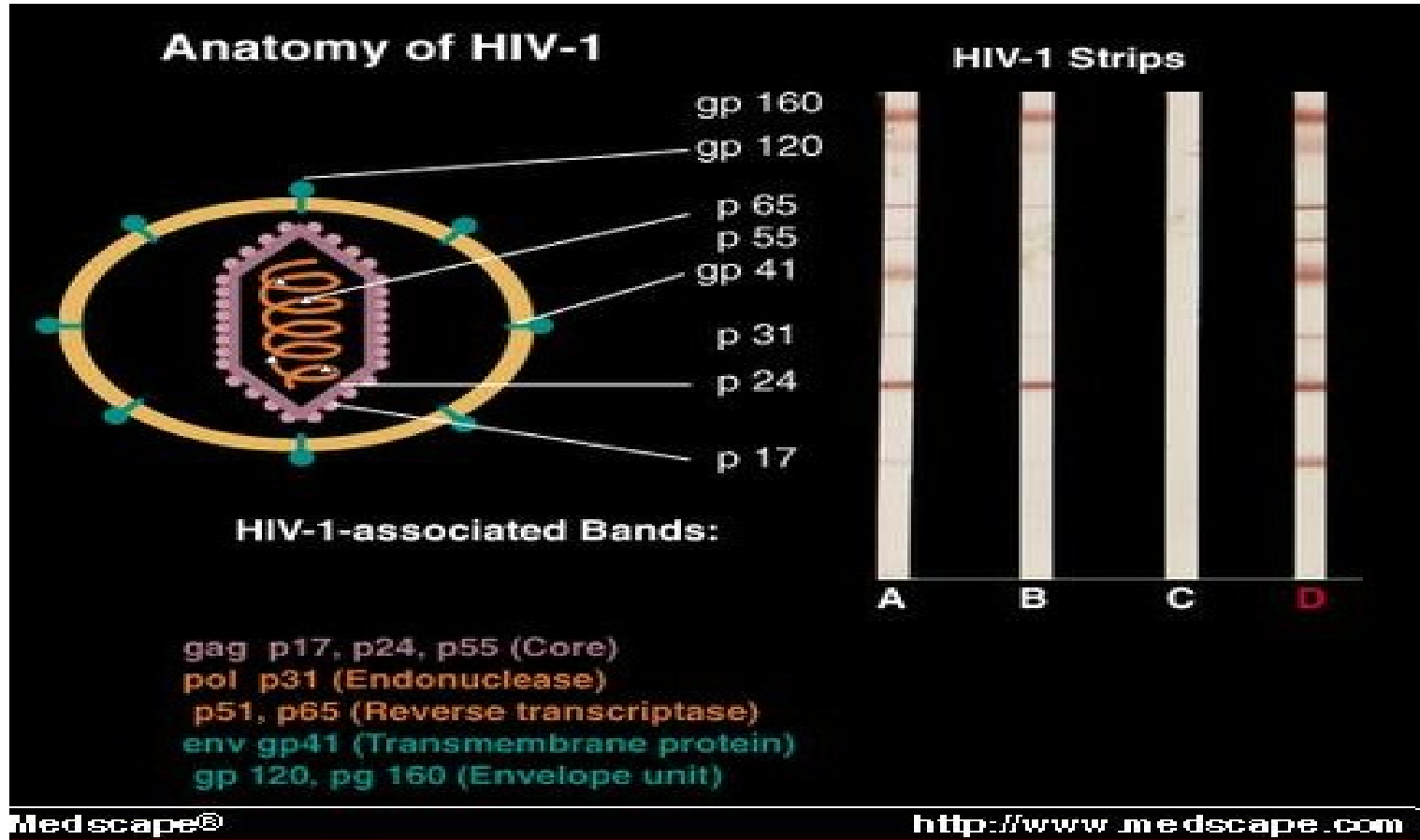




# Western blot

- Antigeny HIV-1 i HIV-2
- Protilátky se váží na odpovídající virové proteiny nanesené v proužcích (Env gp 41,160,120, Gag p17,p24,p55 a Pol p34, p40, p52, p60)
- 1. elektroforéza Ag, přenesení na folii, rozstříhání na proužky, inkubace sérem
- Výsledek +, -, nejistý (indeterminate)
- + test Centers for Disease Control, WHO 2 Env, American Red Cross 3 proužky

# Western blotting



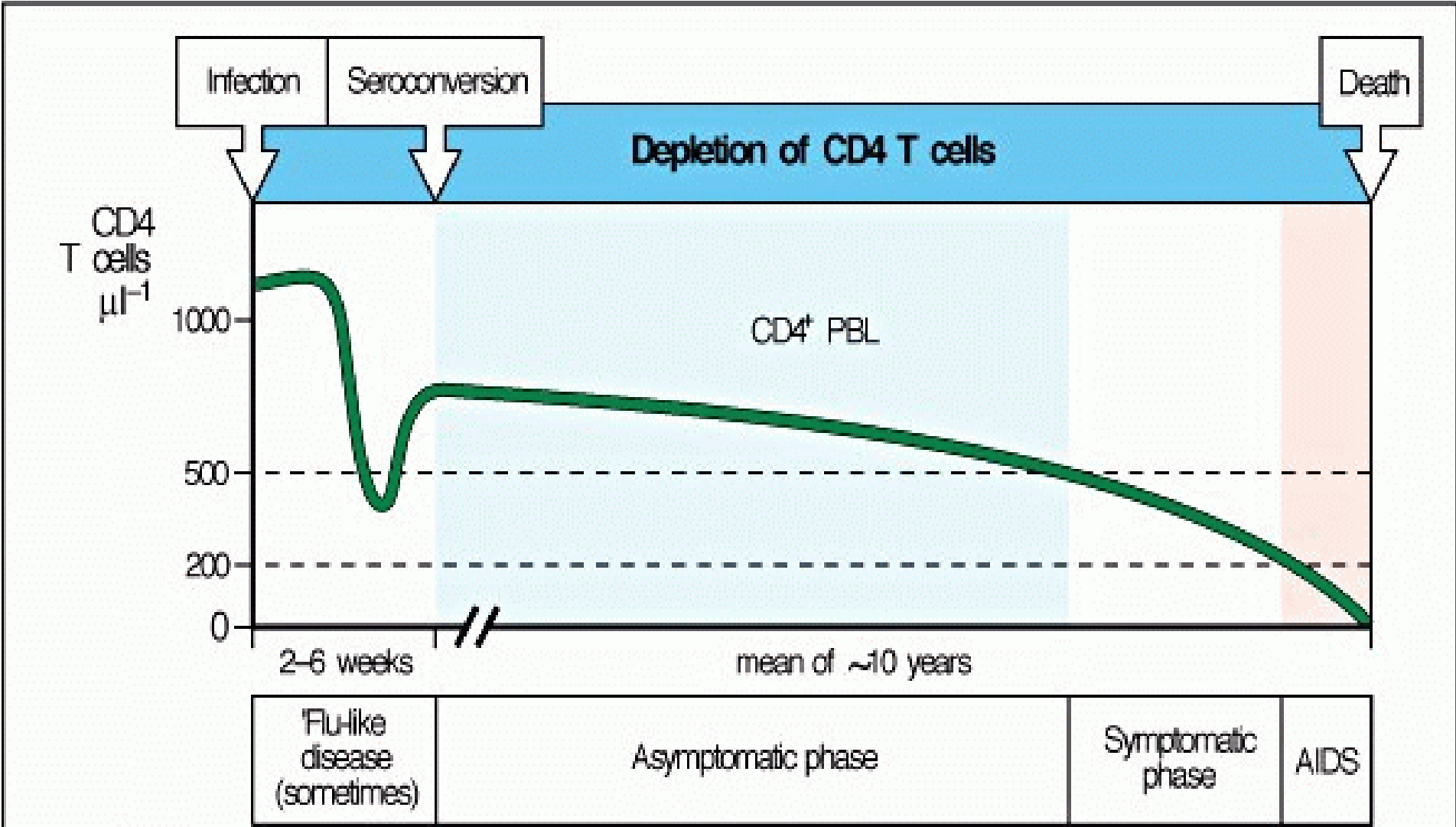
# Diagnóza

- **Anti-HIV**
  - Primární dg. HIV+
- **Počet replik virových kopií RNA HIV-1 (VL)**
  - Aktivita infekce
  - Monitorování průběhu léčby
- **Antigen p24**
  - Aktivita infekce
- **Absolutní počet CD4+ lymfocytů**
  - Základní imunologický marker

# Léčba

- Účinná léčba vedoucí k odstranění viru z těla infikovaného jedince neexistuje
- HIV dovedeme sice léčit, ale ne vyléčit
- Výchova a preventivní programy prioritou

# CD4+ lymphocytes and symptomatology of HIV infection



# HIV/AIDS

## Laboratorní kategorie

- 1) T-lymfocyty CD4+ 500/  $\mu\text{L}$  (28%)
- 2) T-lymfocyty CD4+ 200-500/  $\mu\text{L}$  (14-28%)
- 3) T-lymfocyty CD4+ 200/  $\mu\text{L}$  (14%)

# Léčba

- Komplexní – antiretroviry, antivirotika, antimykotika
- Inhibitory:
  - reverzní transkriptázy
  - proteolytických enzymů
  - Vstupu HIV do T - lymfocytů

# Terapie AIDS

- Antiretrovirová
  - **Nukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy:**  
azidothymdin (syn. zidovudin), didanosin, zalcitabin, stavudin, lamivudin
  - **Nenukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy:**  
Nevirapin, delavirdin, efavirenz
  - **Inhibitory HIV proteinázy:** Saquinavir, ritonavir, indinavir
- Profylaxe pneumocystové pneumonie (co-trimoxazol), antivirotika, antimykotická antibiotika



# STRATEGIE LÉČBY

- **HAART - Highly  
Active  
Anti  
Retroviral  
Therapy**
- **Mega-HAART**

**HAART** éra (od r. 1996) = troj a vícekombinace

## **HAART**

- **H**ighly **A**ctive **A**nti**R**etroviral **T**herapy

## **cART**

- **C**ombination **A**nti**R**etroviral **T**herapy

## **OBT**

- **O**ptimalising **B**asic **T**reatment

# Vznik rezistence

## Součást obranné a evoluční strategie viru

- chyby při replikaci RNA do DNA
- 1 chyba / 10000 bází
- každá nově vzniklá RNA = 1 chyba
- rychlost replikace HIV  
= **1 mil. vyšší evoluční rychlost než hostitelský organizmus**
- uvnitř jednoho pacienta milióny různých variant viru

## r. 1996 – účinná AR terapie

### HAART (cART, OBT)

- Standardní léčebný postup
- Modifikace přirozeného průběhu nemoci
- Původně fatální onemocnění
- Chronická choroba s mnohaletým průběhem

**Medián přežití léčených > 35 let**

# Nežádoucí jevy u HIV a cART

- Metabolizmus tuků, cukrů
- Laktátová acidóza
- Faktory krevního srážení
- Onemocnění ledvin - HIV nefropatie...
- Onemocnění jater
- Endokrinní žlázy – štítná žláza, nadledviny...
- Neurologické poruchy – polyneuropatie...
- Metabolizmus kostí – úbytek kostní tkáně, aseptická nekróza kostí
- Onkologická onemocnění
- ...

# Význam stravy

- Proteinově kalorická podvýživa
- vit. A, beta-karoten, vit. B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, vit. C, vit. E
- Železo, selén, zinek