

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 obranyschopnosti = atopie, alergie,
- imunosuprese, **imunodeficiencie – snížení aktivity IS**

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.

Imunodeficiencie

**Primární
(vrozené)**

**Sekundární
(získané)**

Zvýšená vnímavost k infekčním agens

Náchylnost k maligním procesům

Autoimunitní projevy

Dysregulace imunitního systému

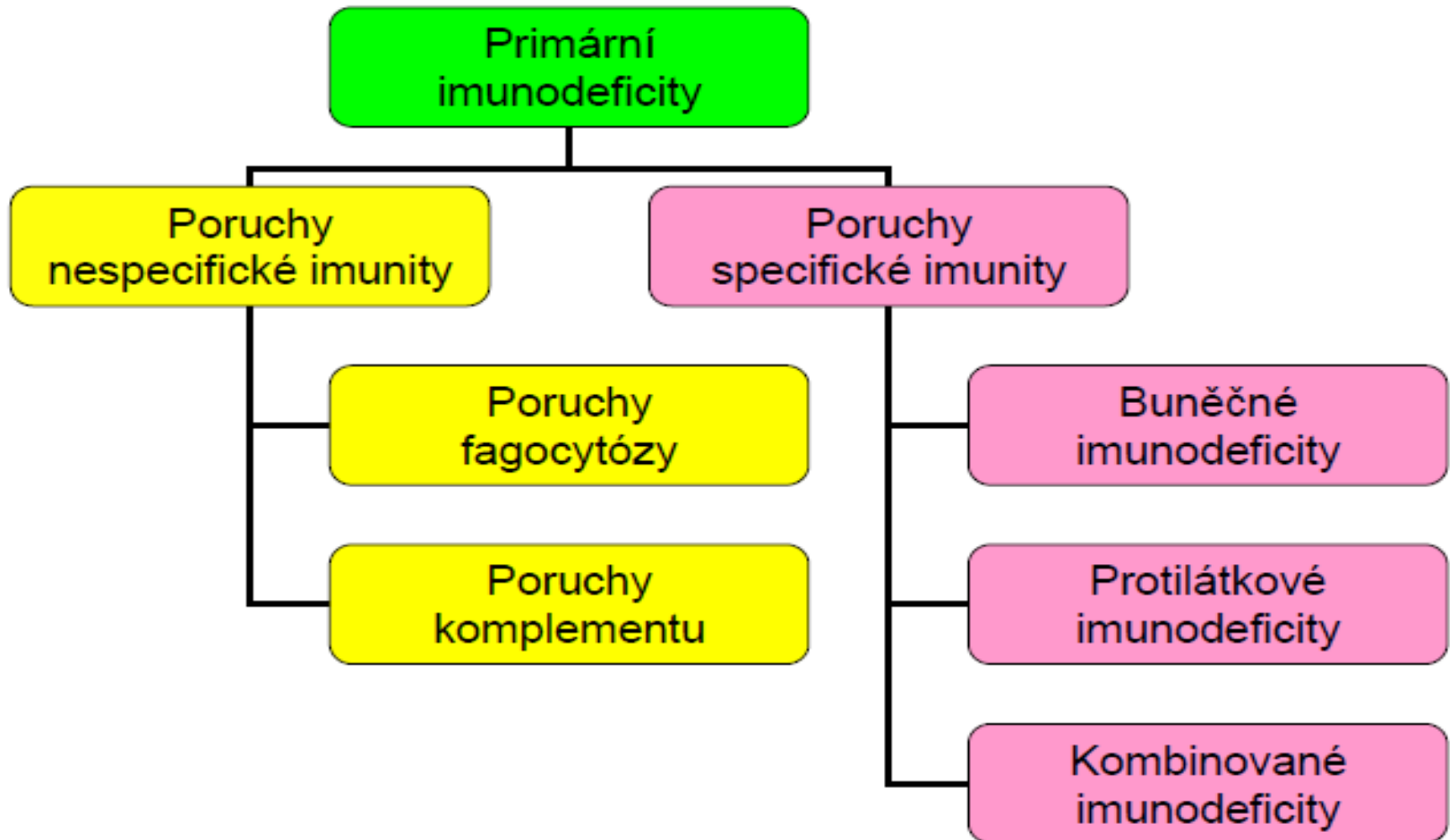
Klinická manifestace imunodeficiencí

- 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

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 imunodeficience**

- jsou podmíněny genetickým defektem
- manifestace zpravidla v časném údobí po narození

sekundární imunodeficience

- 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 2015)

<u>Celkový počet evidovaných pacientů:</u>	6323
(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
- Zastoupení lymfocytárních subpopulací
- Hladiny C3, C4 složek komplementu v séru
- Aktivace komplementu klasickou a alternativní cestou
- 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, t-GVHR, generalizovaná BCG-itis



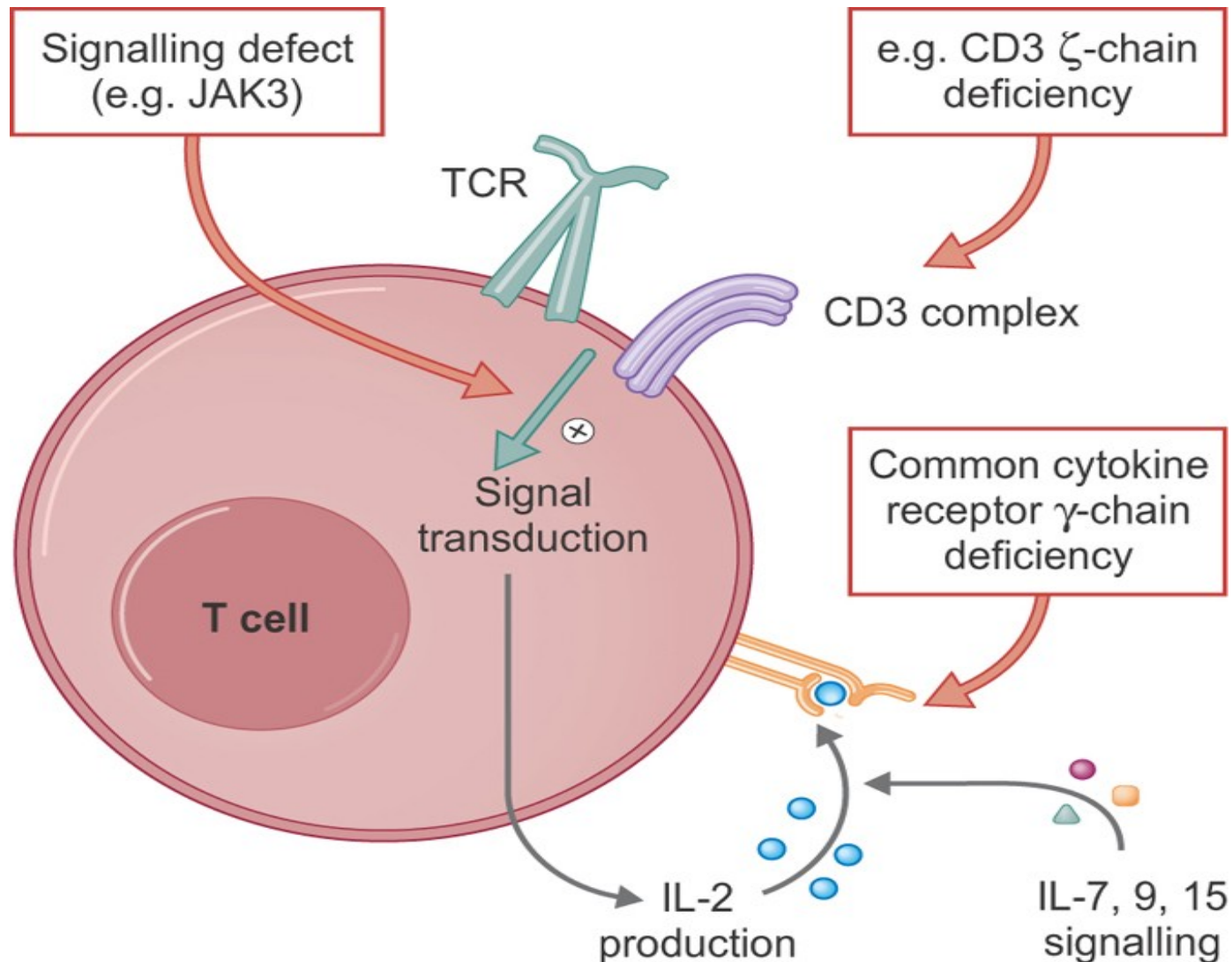
SCID



Molekulární podstata SCID

- Je heterogenní, počet poruch narůstá.
- **SCID T-B-NK+**
 - 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 – α podjednotka receptoru).

Molekulární podstata SCID



Molekulární podstata SCID

- **SCID T-B+NK-**

- Absence T lymfocytů a NK buněk.
- Představuje zhruba 60% všech onemocnění SCID.
- V 70% vázána na chromozom X – **mutace v genu pro γ -řetězec receptoru cytokinů**, který je společný pro receptory cytokinů IL-2, IL-4, IL-7, IL-9 a IL-15.
- Ve 30% autozomálně recesivní **porucha kinázy Jak3**.
- **Deficit některé podjednotky komplexu CD3 (δ, ϵ, ζ)**.
 - U všech nízké hladiny Ig.

Molekulární podstata SCID

- **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, počty lymfocytů jsou obvykle normální při narození, ale se velice rychle snižují, T-lymfocyty nejsou schopny proliferovat po antigenní stimulaci.

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.

SCID

nejdůležitější laboratorní nálezy

- 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.

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

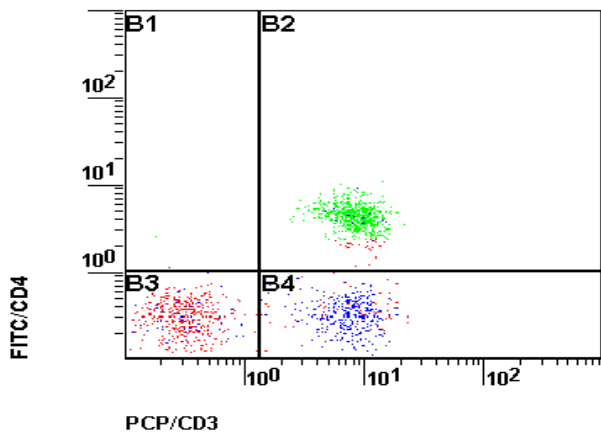
SCID

infekce způsobené atypickými patogeny

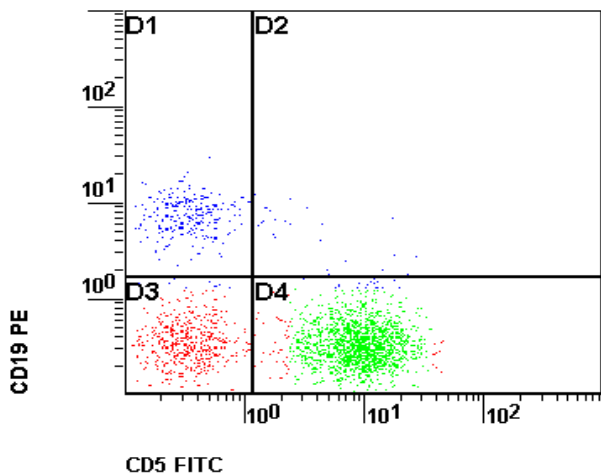
- Pneumocystová pneumonie
- Cytomegalovirová pneumonitida
- Diseminovaná BCG-óza
- Atypické mykobakteriózy
- Kandidiáza orofaryngu, kůže

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%

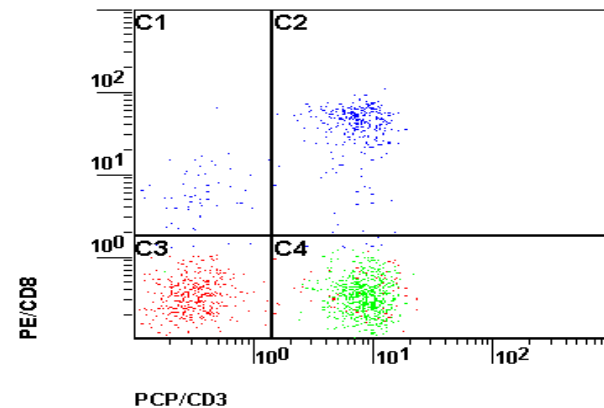
B LYMFOCYTY

- CD19+ : 11%

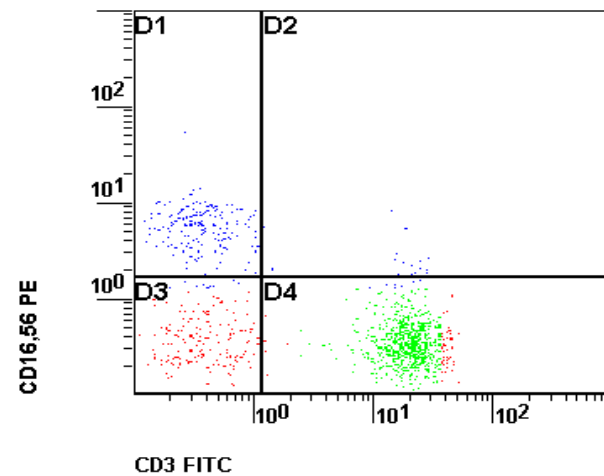
NK LYMFOCYTY

- CD16,56+ : 16%

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



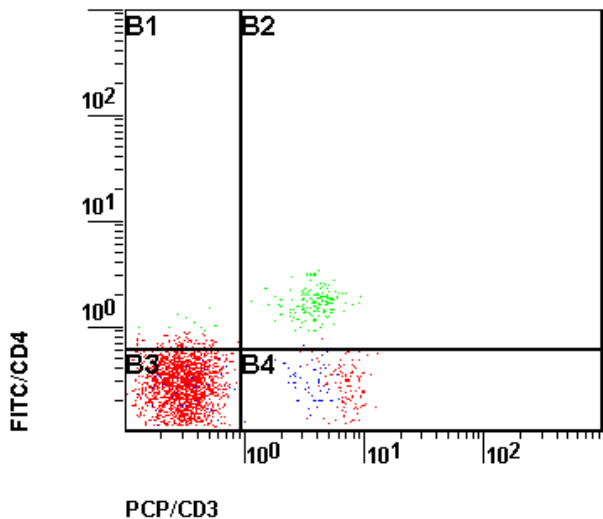
(6):Z0034411.LMD FL1 LOG/FL2 LOG A



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

SCID

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



T LYMFOCYTY

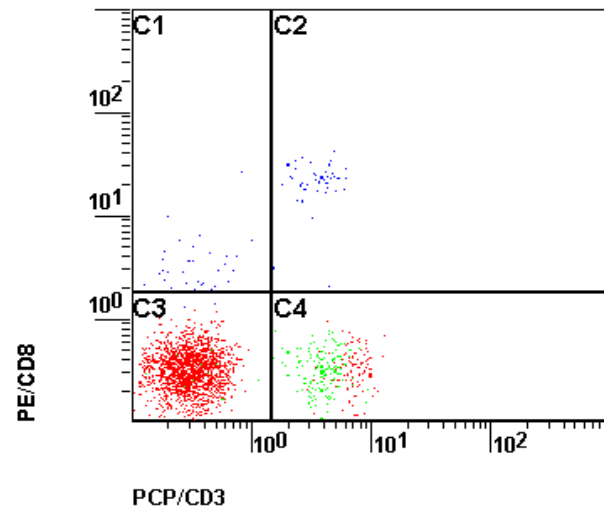
- CD3+ : 14%
- CD3+ 4+ : 8%
- CD3+ 8+ : 2%

B LYMFOCYTY

- CD19+ : 71%

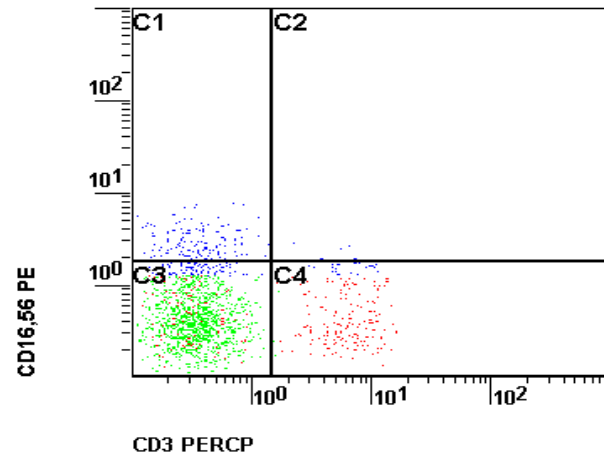
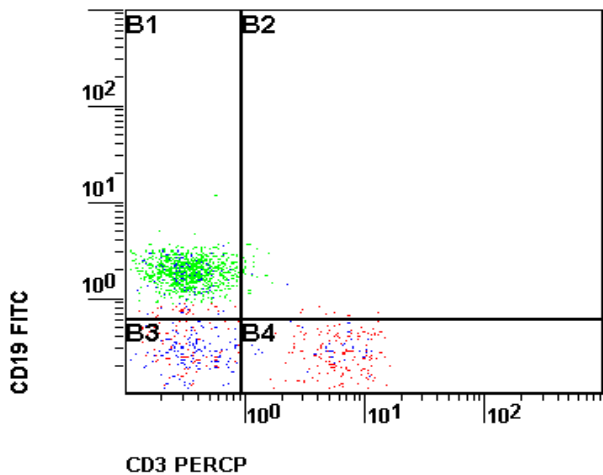
NK LYMFOCYTY

- CD16,56+ : 13%



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

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



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).

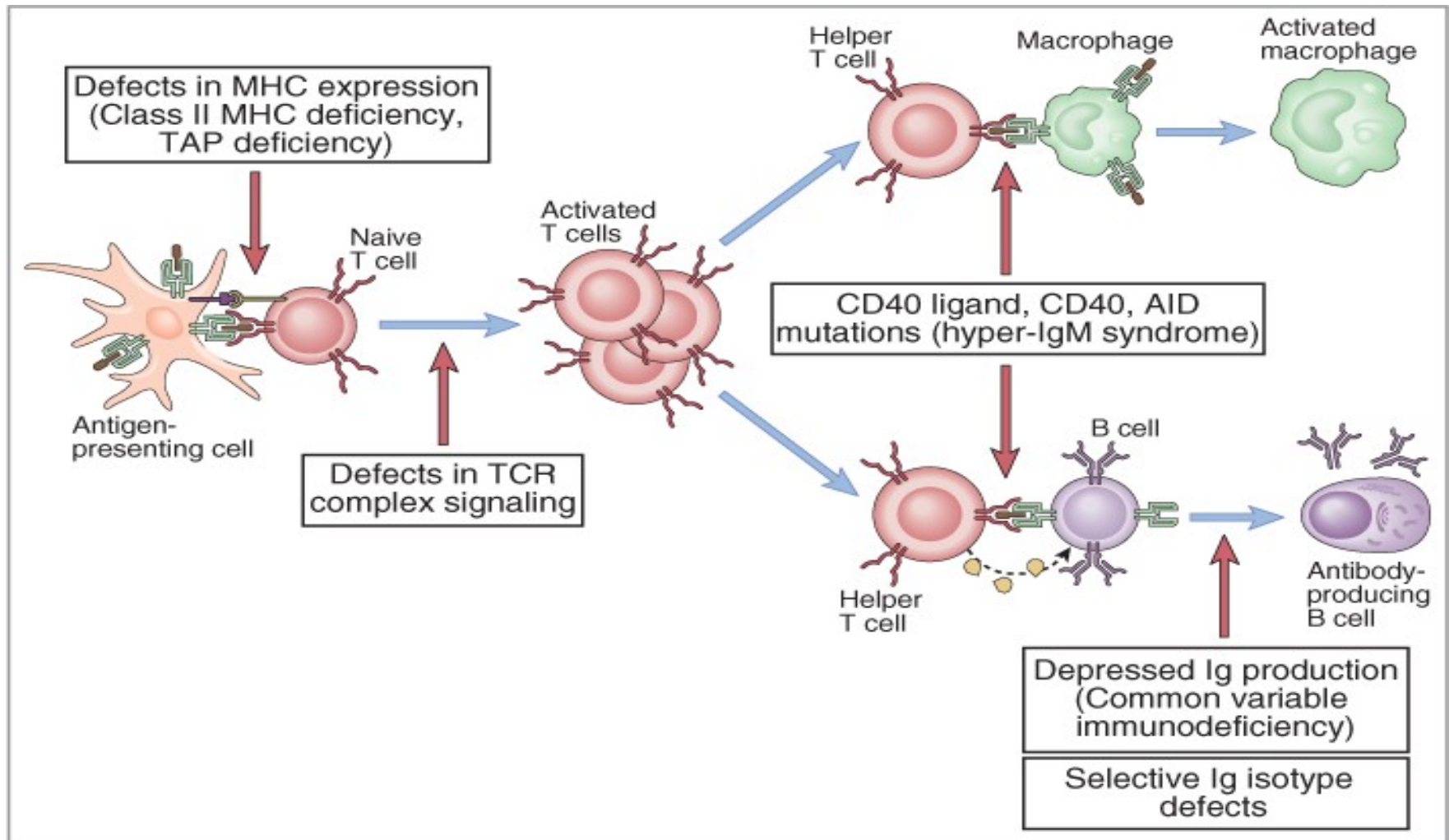
Poruchy T-lymfocytů

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

Funkční a aktivační poruchy T-lymfocytů



Aktivační poruchy T-lymfocytů

- Hyper IgM- 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 γ cesty.
- Při poruše B-lymfocytů defekt enzymu AID (Activation-induced cytidine deamináza), který je rovněž nutný pro izotypový přesmyk + somatickou hypermutaci.
- Zvýšená náchylnost k infekcím.
- U některých typů obrovská germinální centra v mízních uzlinách.
- U některých typů zvýšená frekvence autoimunit.

Omennův syndrom

- Těžká kombinovaná imunodeficience 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.
- **Eosinofilie** způsobená Th2-lymfocyty (IL-4 a IL-5)
- 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

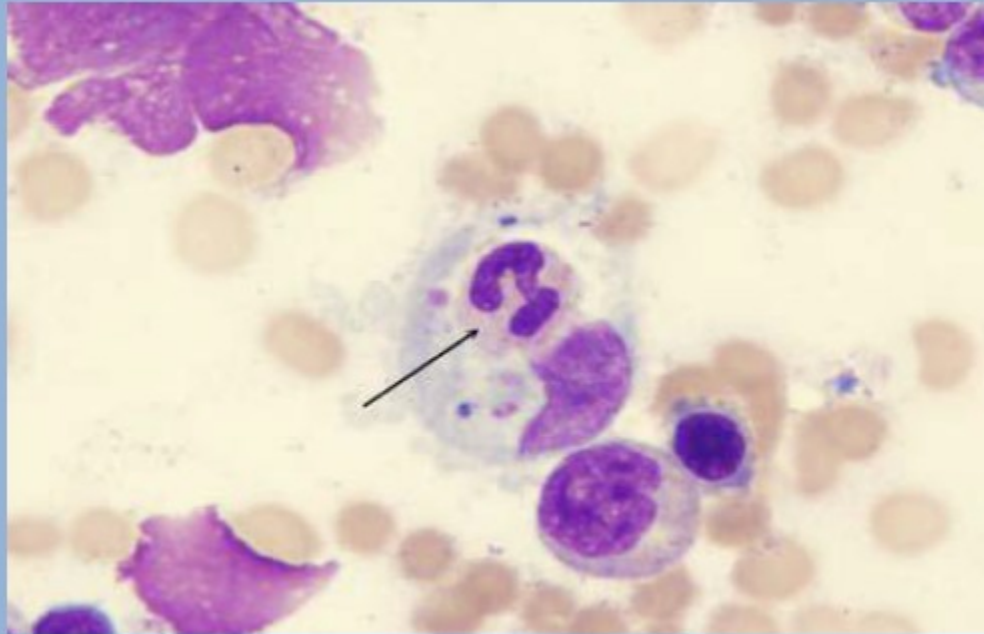
Chédiakův – Higashiho syndrom

- 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 lymfohisticytoza

- Hlavní znak aktivace a maligní proliferace T-lymfocytů a makrofágů provázená masivní produkcí cytokinů a hemofagocytární (fagocytóza krevních elementů) aktivitou makrofágů v lymforetikulárním systému a CNS.
- 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 hyperreaktivitě 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
 - Vnímovost ke *S. aureus*, kandidám
 - Vývojové vady v obličeji

Wiskot – Aldrichův syndrom (WAS)

Vzácná recesivně dědičná imunodeficiencie 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 snížená 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

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

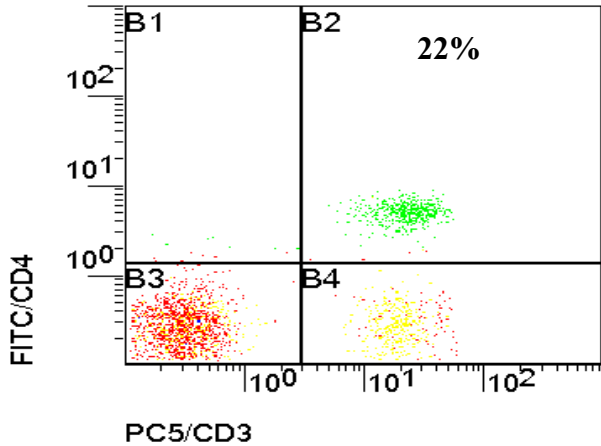
- Obvyklé syndromy:
 - Srdeční vady
 - Obličejový dysmorfismus
 - Těžká kombinovaná imunodeficiencie – nutná zvýšená opatrnost při aplikaci živých vakcín
 - Hypokalcémie

DiGeorgův syndrom - léčba

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

Syndrom Di George

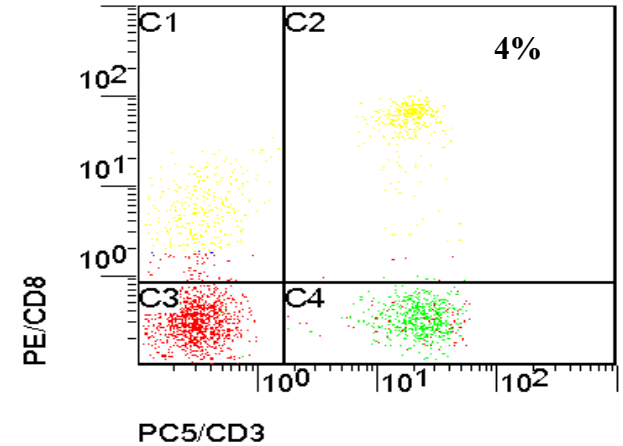
(3):Z0001091.LMD FL4 LOG/FL1 LOG A



T LYMFOCYTY

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

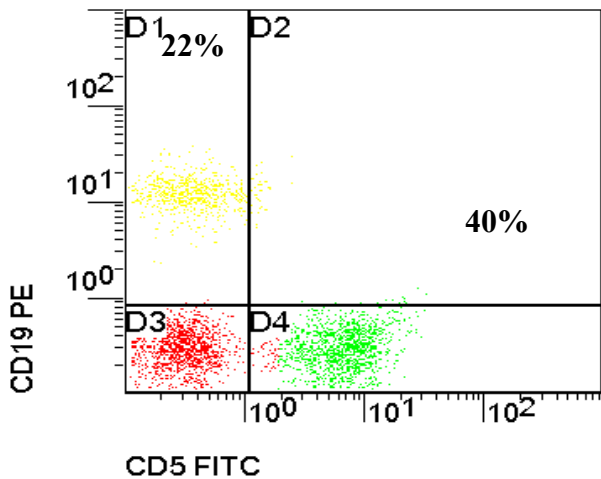
(3):Z0001091.LMD FL4 LOG/FL2 LOG A



B LYMFOCYTY

- CD19+ : 22 (7-23) %

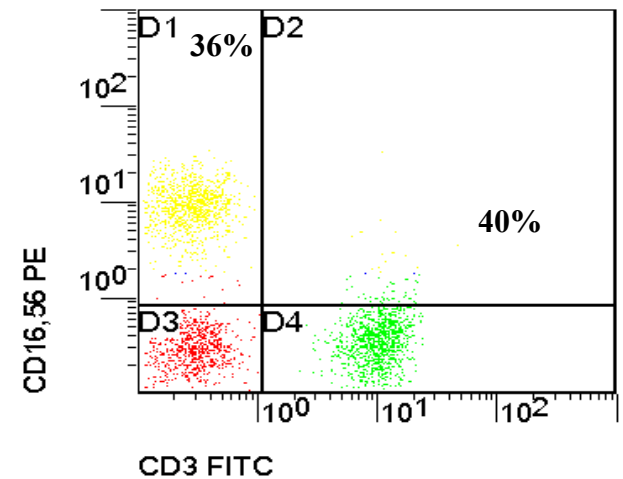
(1):Z0001094.LMD FL1 LOG/FL2 LOG A



NK LYMFOCYTY

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

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



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 imunodeficience: X-vázaná agamaglobulinémie (X-LA), deficit μ řetězce, deficit molekuly $Ig\alpha$, BLNK, I5...
- Protilátkové imunodeficience doprovázené různým stupněm dysregulace T-lymfocytů – CVID.
- Kombinované imunodeficience, kde klinicky převažuje manifestace T-lymfocytární deficiencie – (S)CID.

Nejčastější tyty primárních humorálních imunodeficiencí

- Selektivní deficit IgA
- Přechodná 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.

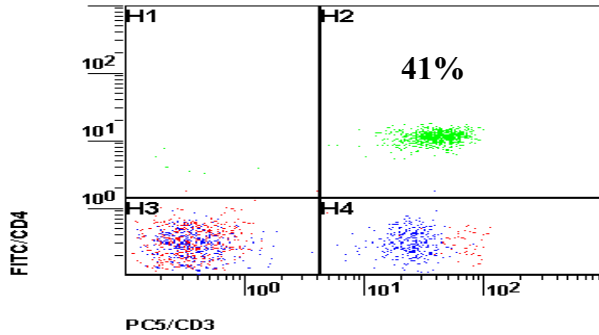
X-vázaná agamaglobulinemie

- 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

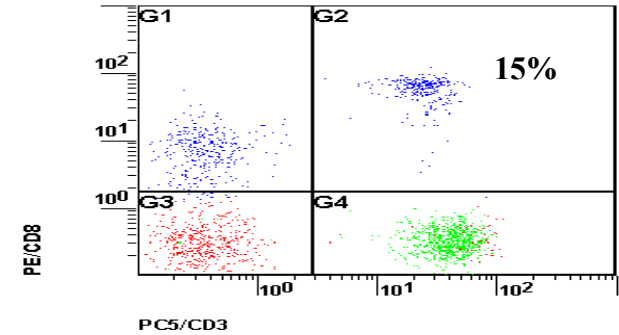
(1):Z0009576.LMD FL4 LOG/FL1 LOG A

T LYMFOCYTY



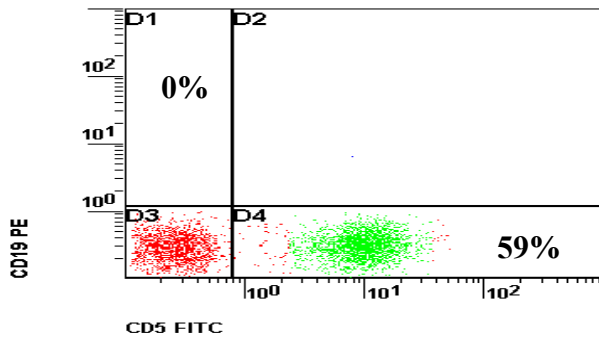
- CD3+ : 59 (58-85)%
- CD3+ 4+ : 41 (30-60)%
- CD3+ 8+ : 15 (15-35)%

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



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

B LYMFOCYTY

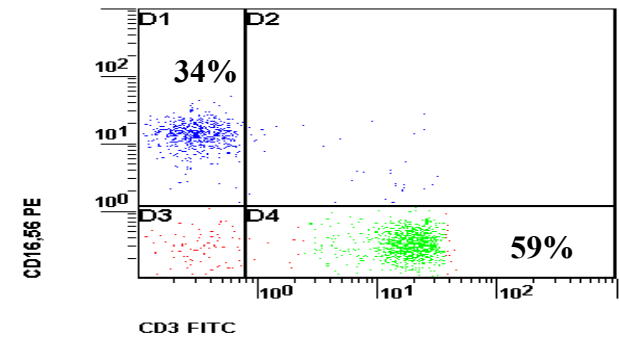


- CD19+ : 0 (7-23) %

NK LYMFOCYTY

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

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



Selektivní deficit IgA

- Definován jako $\text{IgA} < 0.07 \text{ g/l}$ (normální hladiny jsou $0.8\text{--}3.6 \text{ g/l}$).
- 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 γ -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 bronchiectázií 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)

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

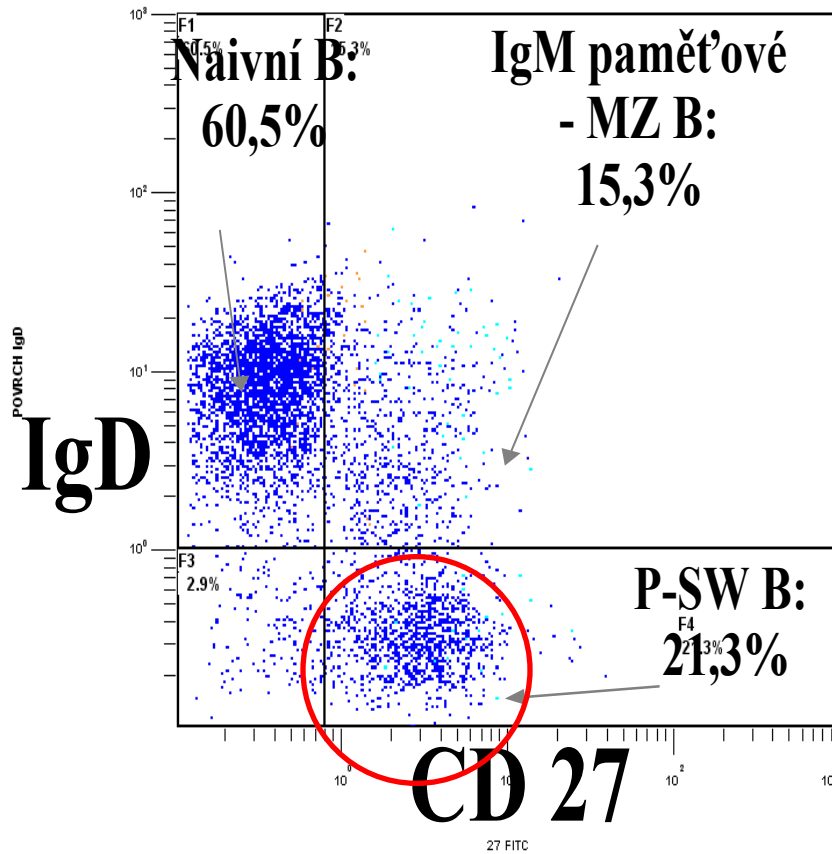
- Běžně se udává prevalence asi 4/100 000

Běžná variabilní imunodeficience (CVID) laboratorní nálezy

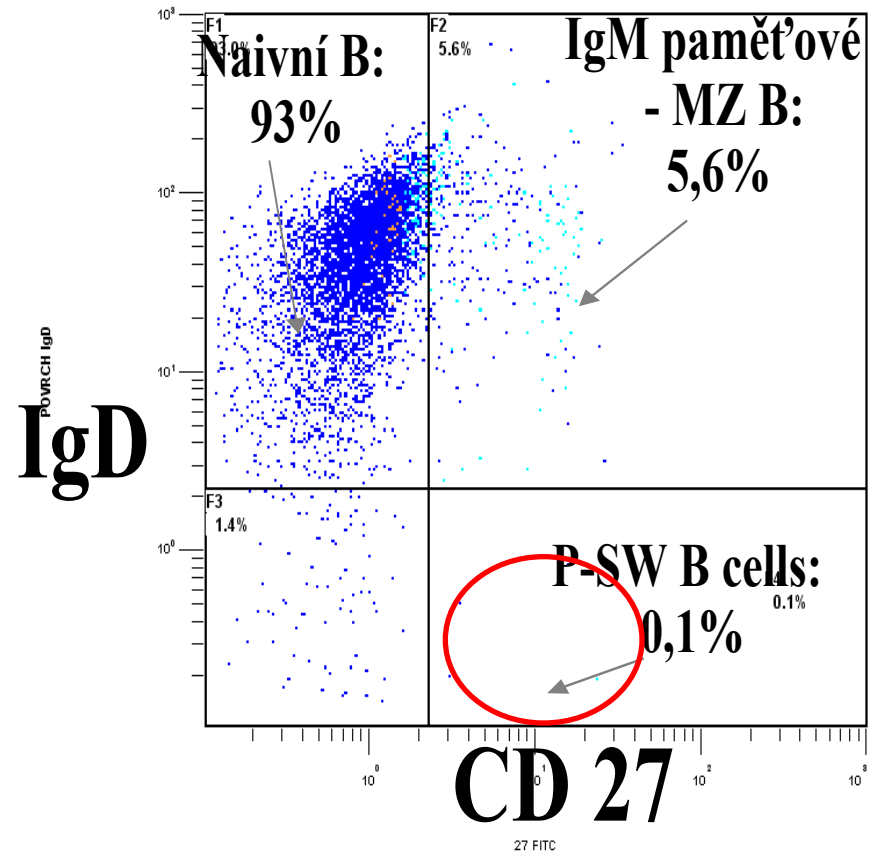
- Nízké hladiny IgG a IgA, hladina IgM je variabilní.
- Je porušena tvorba specifických protilátek.
- B-lymfocyty jsou obvykle přítomny, snížený výskyt paměťových B-lymfocytů a plazmatických buněk.
- Jako infekční agens dominují opouzdřené bakterie- Haemophily, pneumokoky, St aureus.

Subpopulace B lymfocytů u pacienta s CVID a zdravé kontroly

Kontrolní osoba



CVID pacient



Diagnostický postup při nálezu hypogamaglobulinémie

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

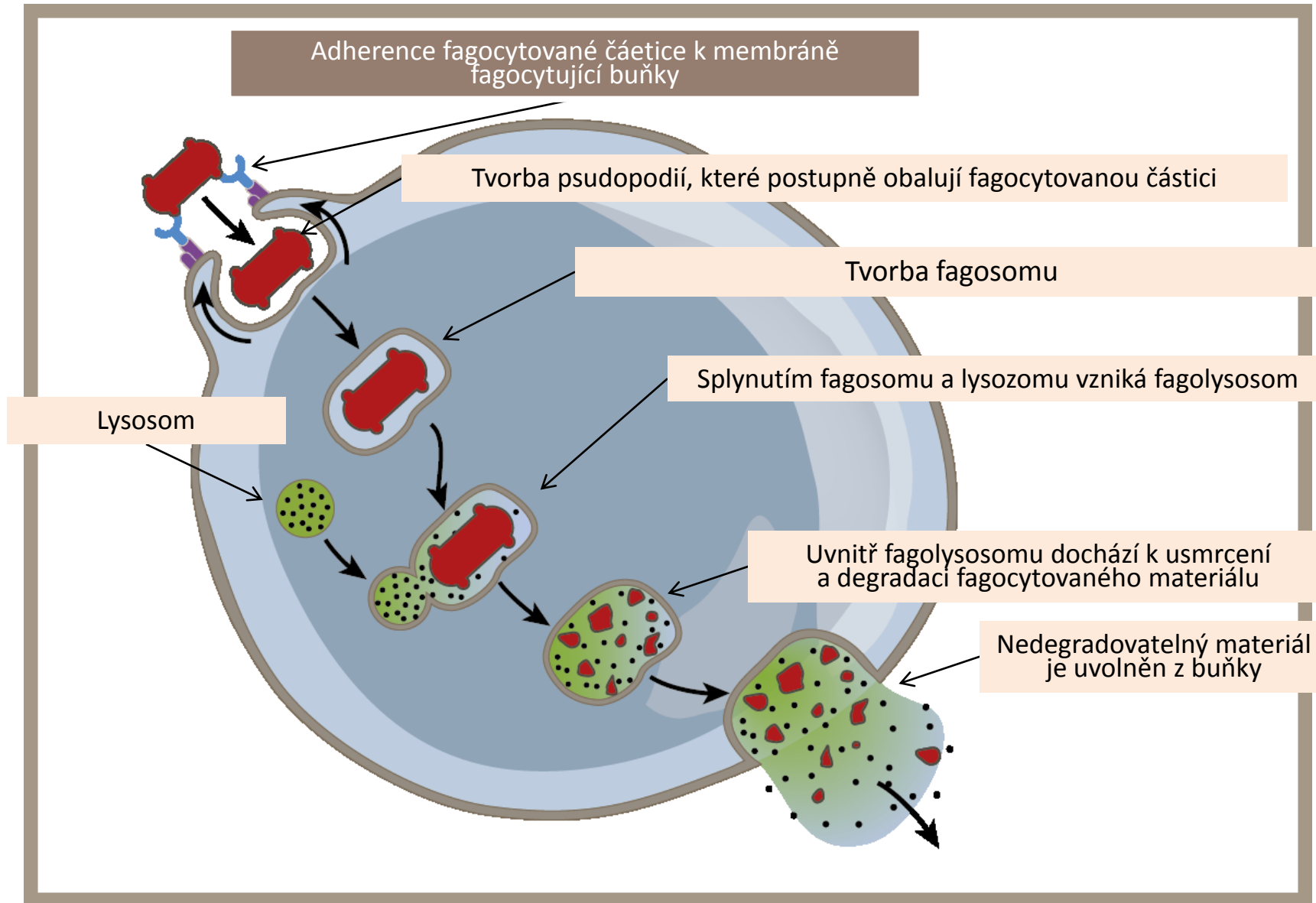
Ve věku cca od 2 let:

- Hladina IgG asi nejvíce vypovídá o tíži imunodeficitu pacienta
- Hladina IgA – bývá u primárních hypogamaglobulinémií obvykle výrazně snižená
- Hladina IgM může být u CVID normální, stejně jako u „hyper IgM syndromů“

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

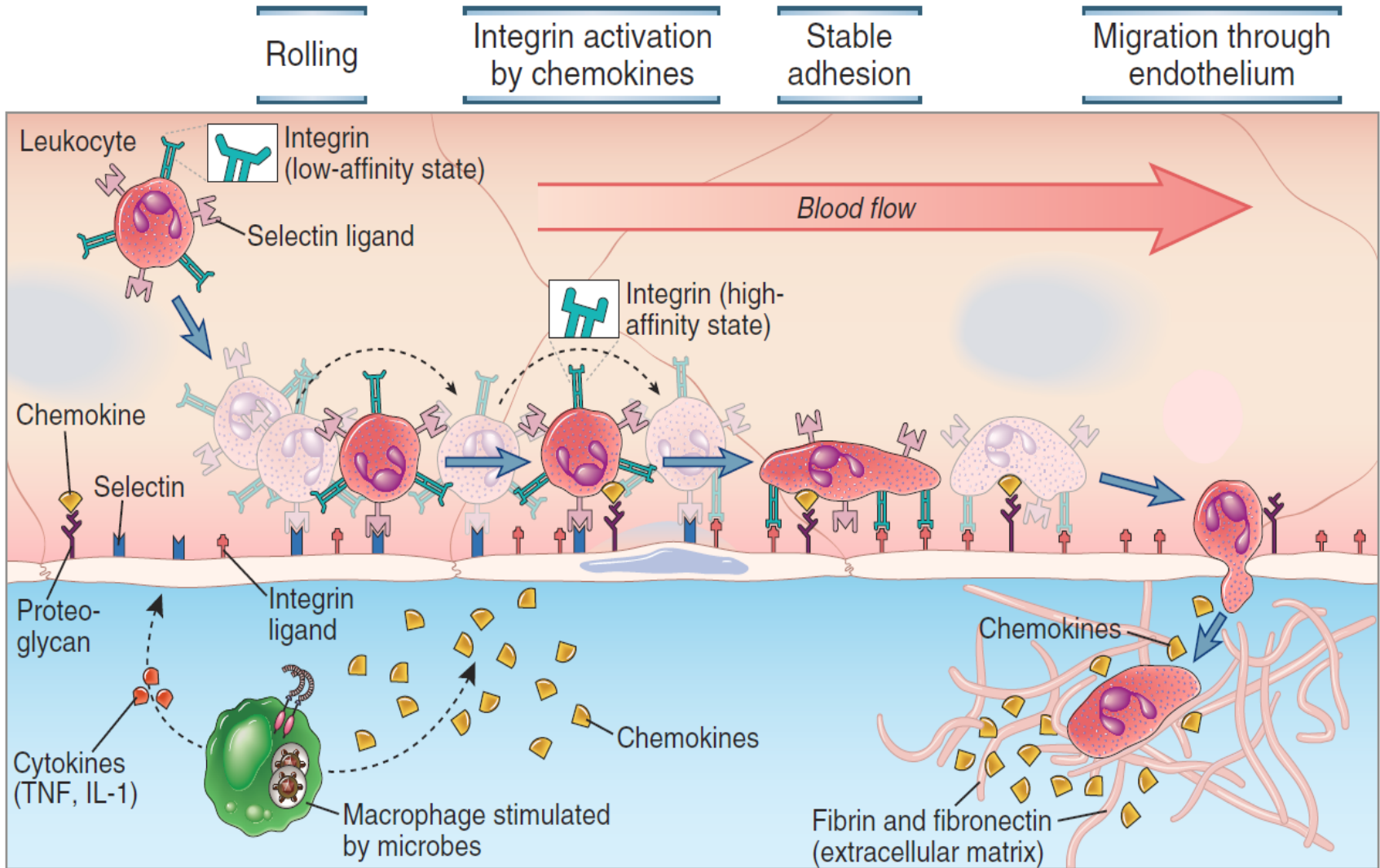
- Chronická granulomatóza
- LAD syndrom
- Deficit myeloperoxidázy

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)

- Příčinou syndromu je porucha syntézy CD18, nevytváří se komplex CD11/CD18 – integriny nutné k přechodu cév do místa zánětu.
- 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.

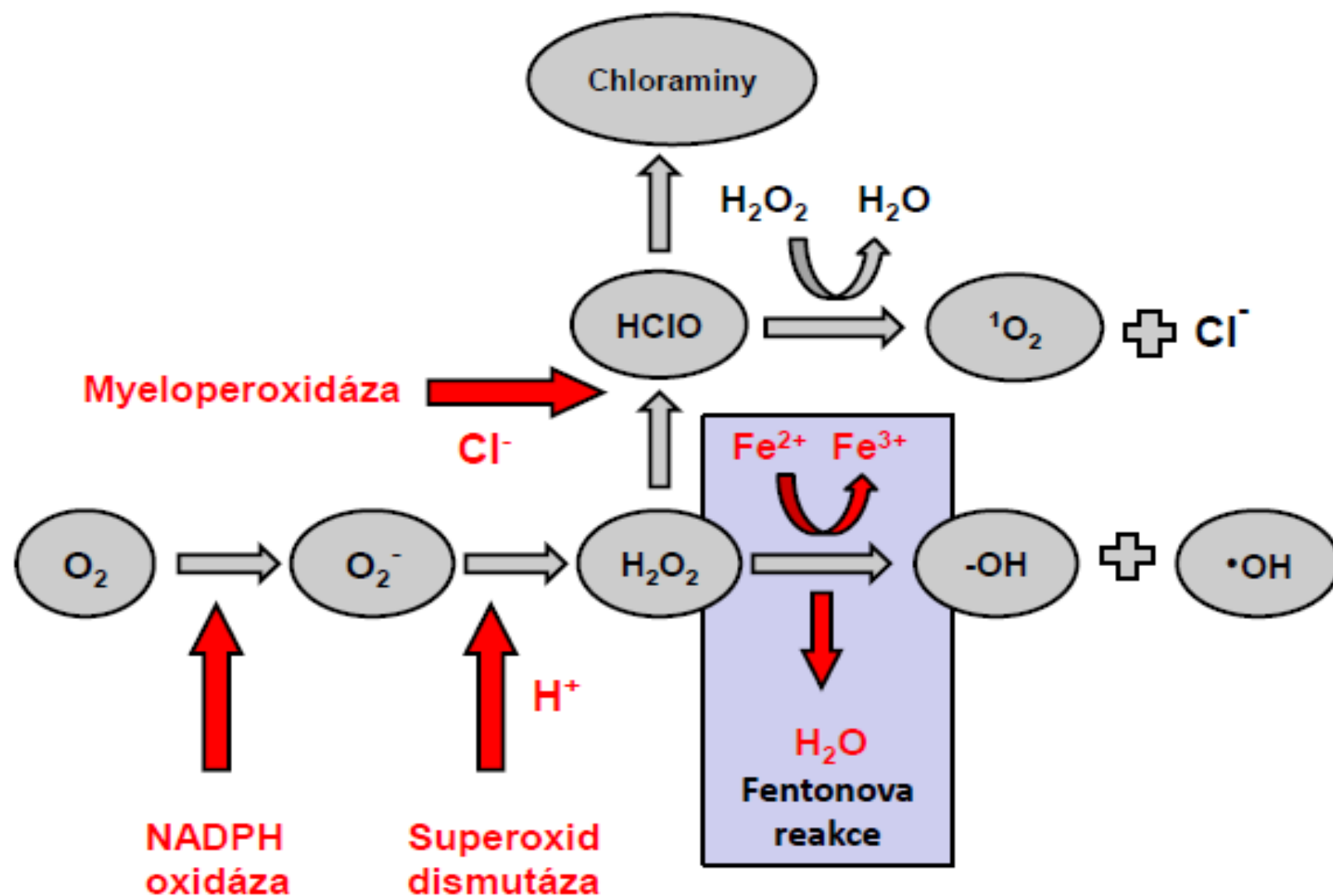
Chronická granulomatóza

- 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

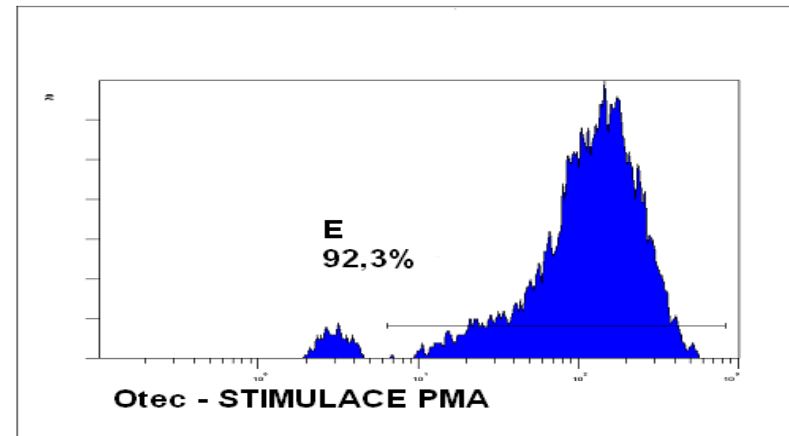
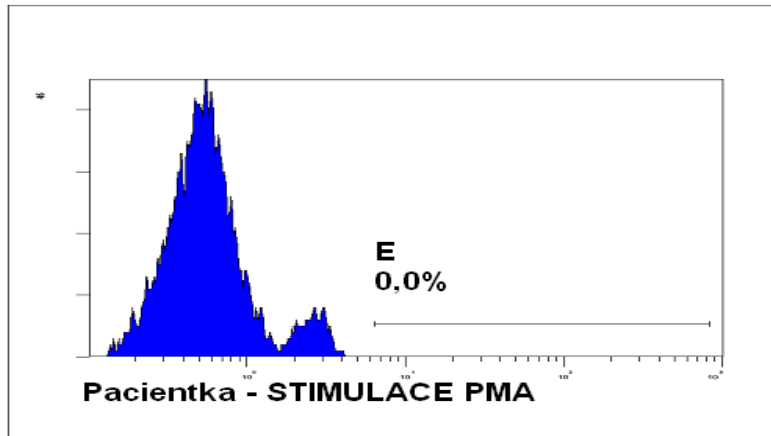
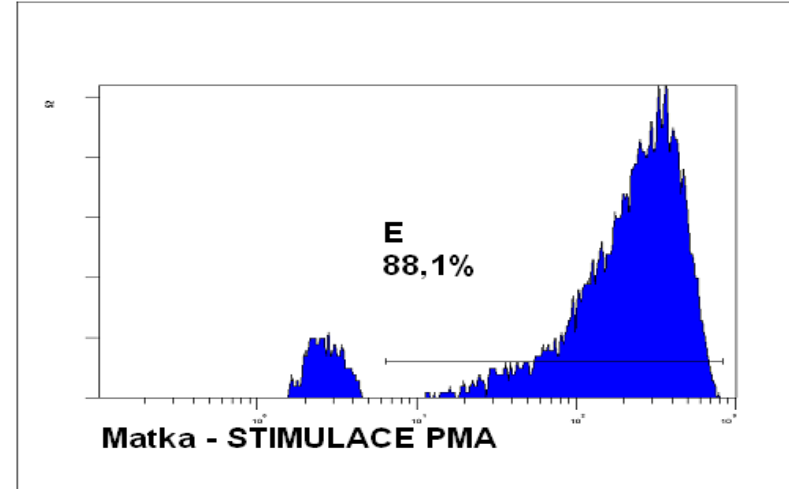
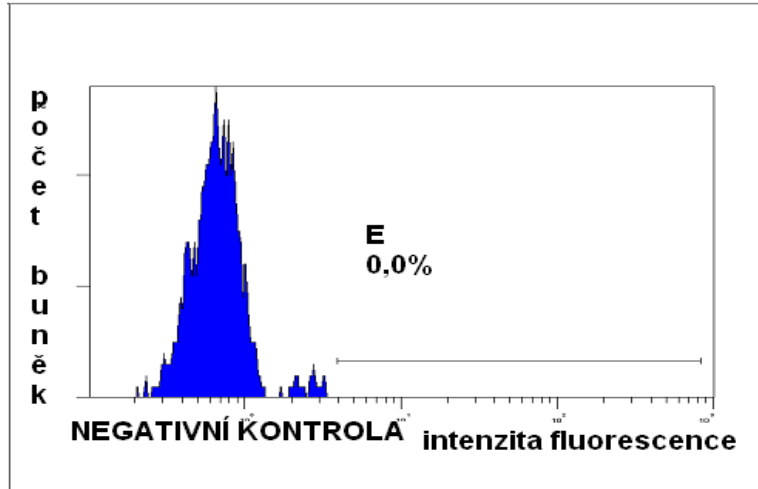
Chronická granulomatózní choroba

- Opakované abscesy nejčastěji postihující játra, periproktální oblast, plíce, objevují se hnisavé lymfadenitidy, osteomyelitidy.
- Vznikající granulomy jsou zodpovědné za neinfekční projevy - mohou působit útlak, například žlučovýchodů, 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.**

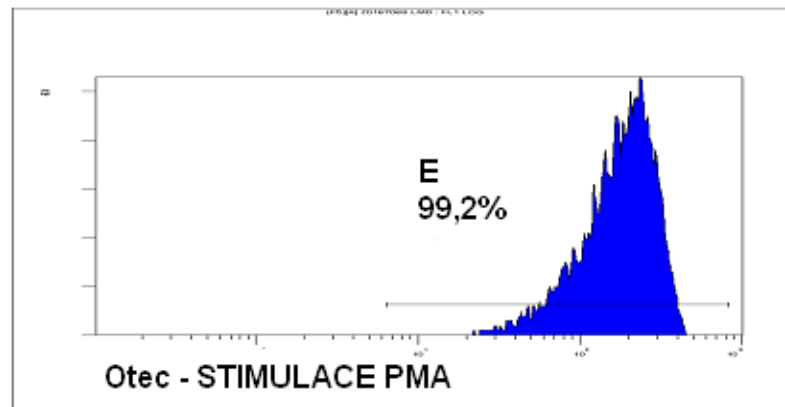
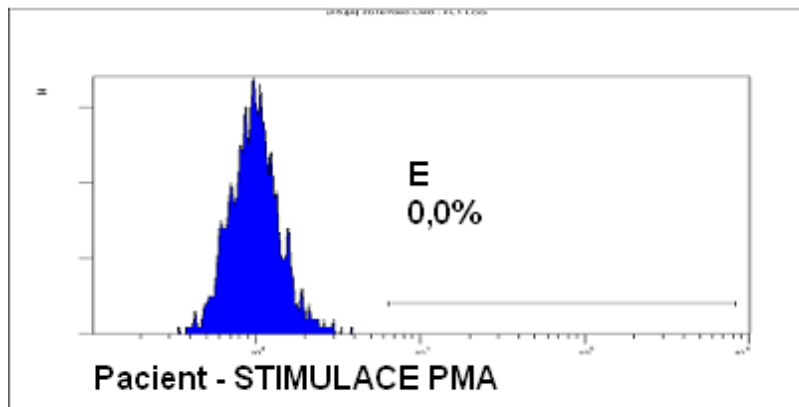
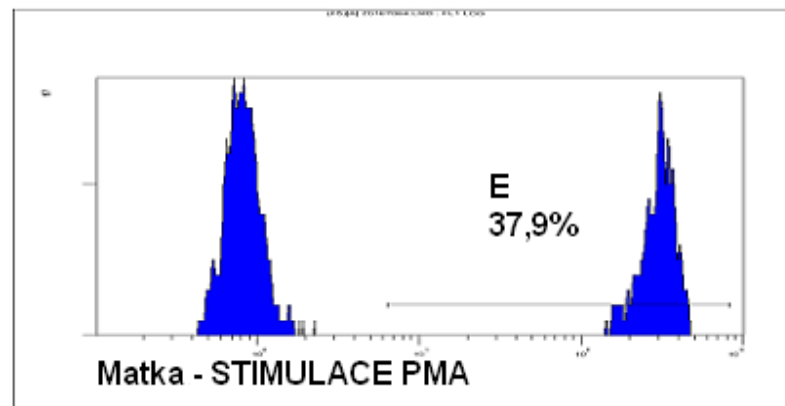
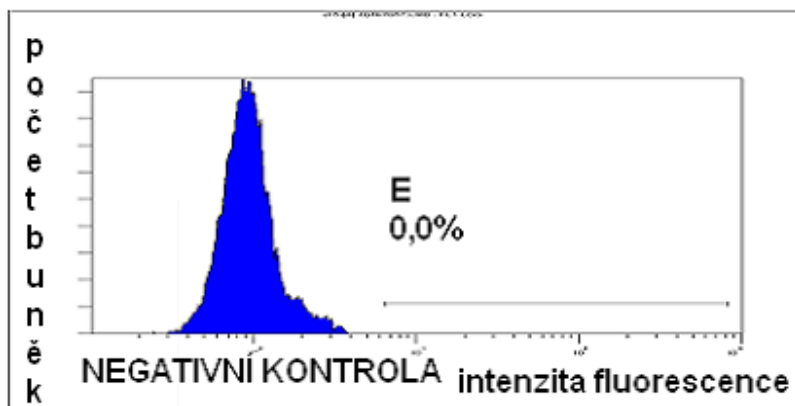
Mechanismy nitrobuněčného zabíjení závislé na kyslíku



Chronic Granulomatous Disease (autosomal recessive)



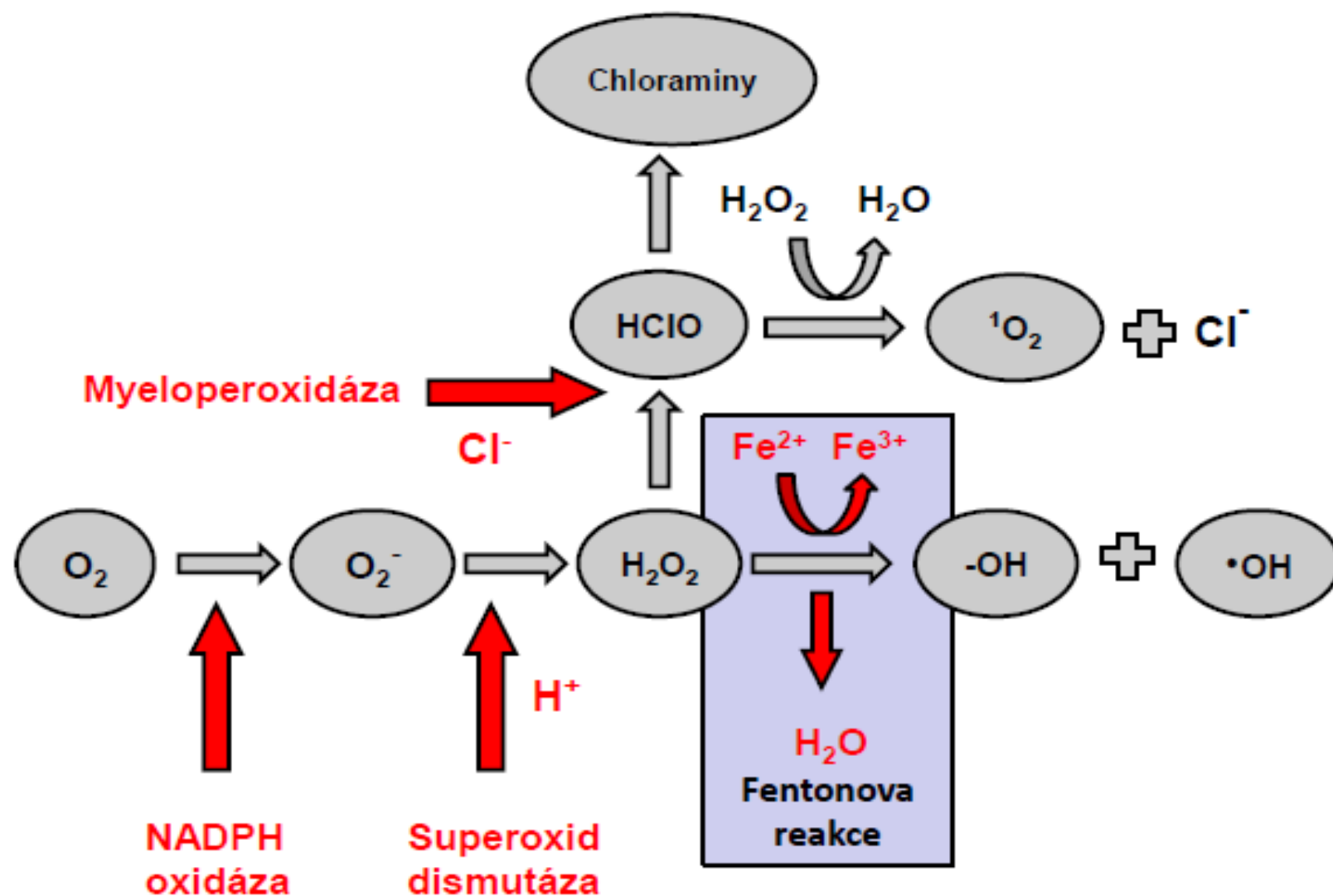
Chronic Granulomatous Disease (X-linked)



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.

Mechanismy nitrobuněčného zabíjení závislé na kyslíku



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

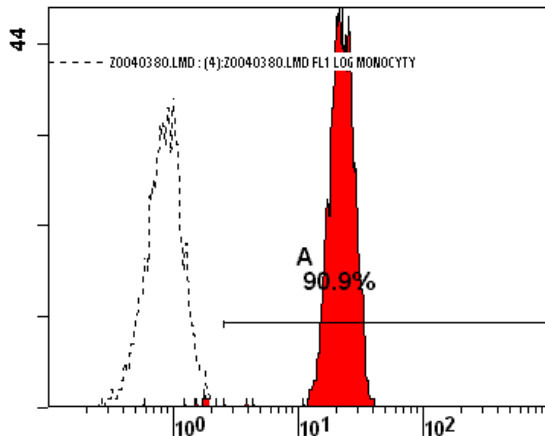
- Označení monocytů monoklonální protilátkou CD14PE
- Fixace vzorku
- Promytí
- Označení myeloperoxidázy monoklonální protilátkou proti myeloperoxidáze značenou FITC a obarvení izotypové kontroly - IZO FITC u kontrolní zkumavky
- Permeabilizace
- Promytí
- Lýza kyselinou mravenčí
- Analýza fixovaných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

Deficit MPO

Exprese MPO - monocyty

ZDRAVÁ
KONTROLA

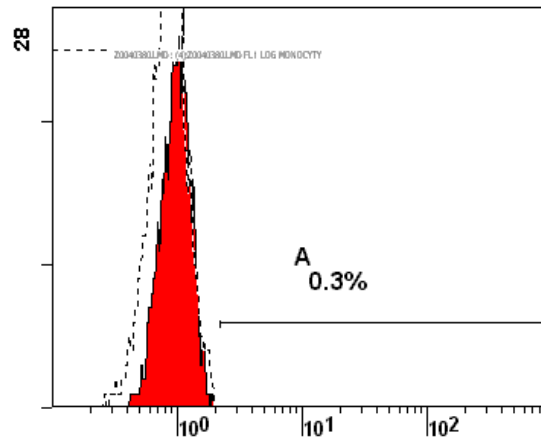
(6):Z0021369.LMD FL1 LOG MONOCYTY



MPO FITC

PACIENTKA

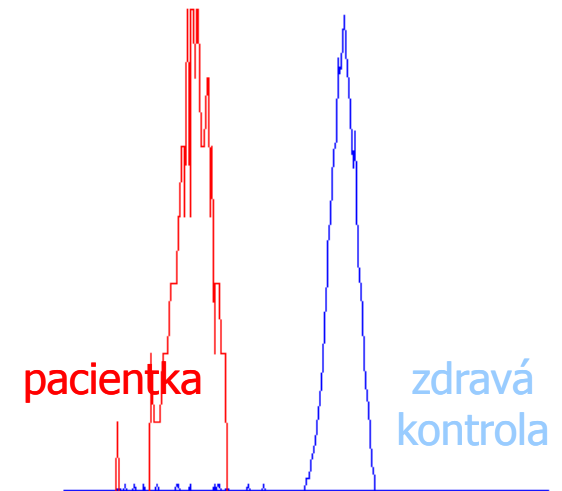
(5):Z0040381.LMD FL1 LOG MONOCYTY



MPO FITC

SROVNÁNÍ

■ MPO FITC
■ MPO FITC



pacientka

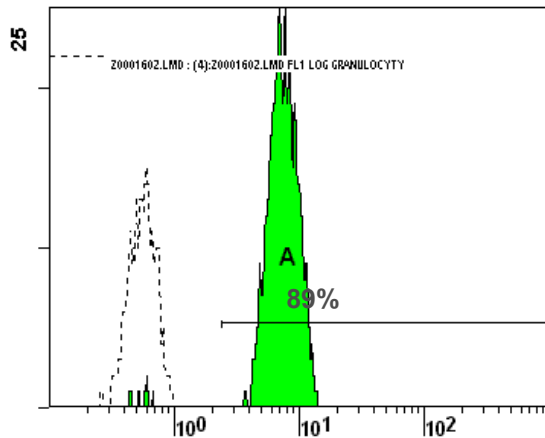
zdravá
kontrola

Deficit MPO

Exprese MPO - granulocyty

ZDRAVÁ
KONTROLA

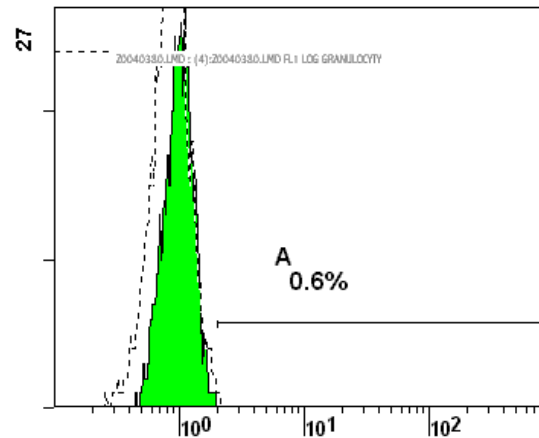
(2):Z0019678.LMD FL1 LOG GRANULOCYTY



MPO FITC

PACIENTKA

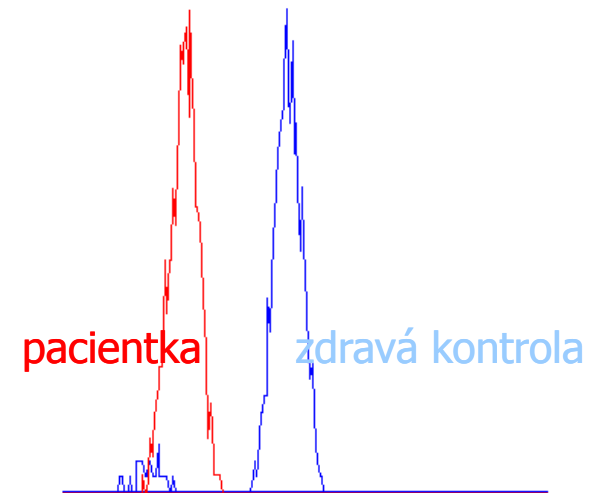
(6):Z0040381.LMD FL1 LOG GRANULOCYTY



MPO FITC

SROVNÁNÍ

■ MPO FITC
■ MPO FITC

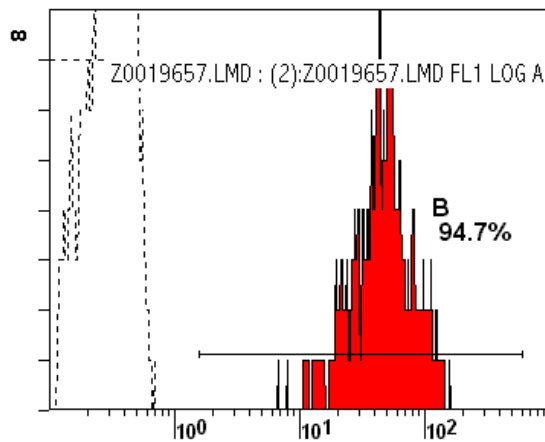


Deficit MPO

Burst test - stimulace E. coli

ZDRAVÁ
KONTROLA

(3):Z0019658.LMD FL1 LOG A



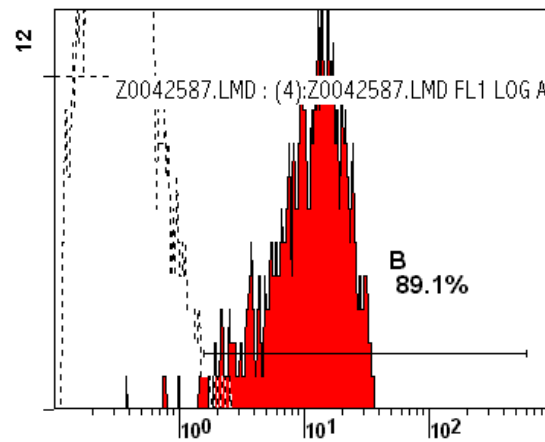
STIMULACE E.C.

Počet aktivovaných
buněk: 95%

Stimulační index: 163

PACIENTKA

(1):Z0040296.LMD FL1 LOG A



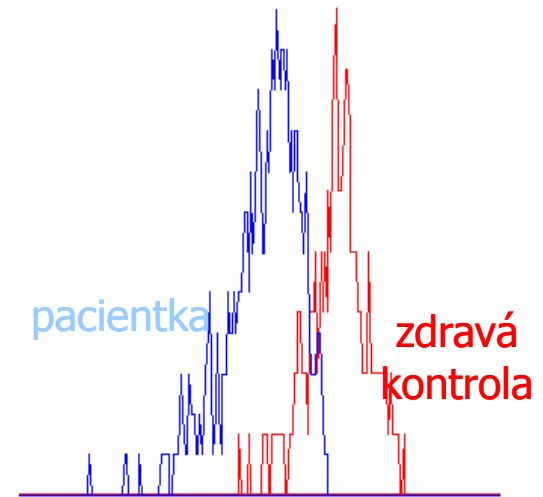
STIMULACE E.C.

Počet aktivovaných
buněk: 89%

Stimulační index: 22

SROVNÁNÍ

■ STIMULACE E.C.
■ STIMULACE E.C.



Deficit MPO

Burst test - stimulace PMA

ZDRAVÁ KONTROLA

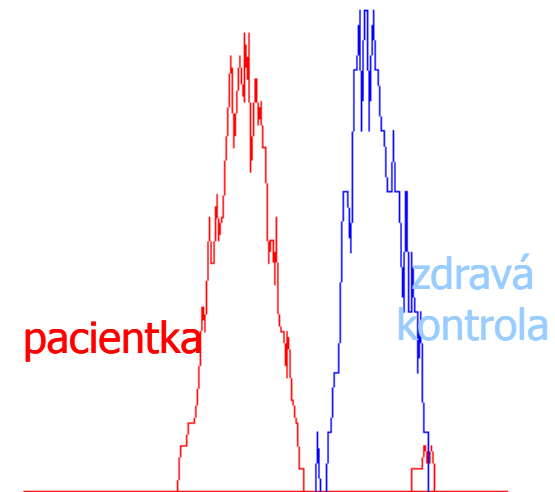
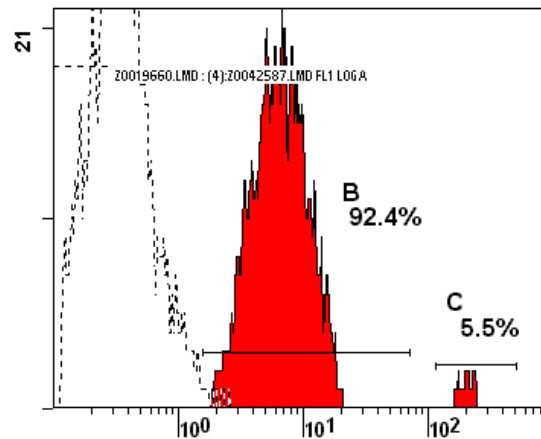
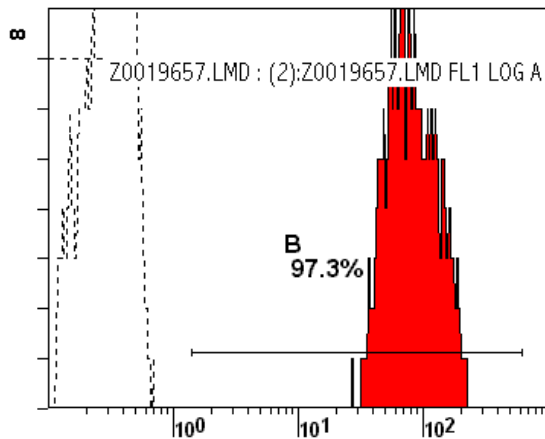
PACIENTKA

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 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
 - imunokomplexové 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
 - deficiencie MBL – (Mannan binding lectin)
- Deficiencie MBL – (Mannan binding lectin) – časté infekce u dětí

Hereditární angioedém (HAE)

- Angioedém

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 funkčnosti 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 imunodeficience

- Nejsou vrozené.
- Vznikají v průběhu života jedince.
- Onemocnění vzniká z mnoha příčin – životní prostředí, stav po nebo při léčbě, nebo jako sekundární onemocnění k primární chorobě.

Sekundární imunodeficience

- Neboli získané imunodeficience
 - 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 imunodeficience 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
- Autoprotilátky 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 aktivní hepatitidou, Gravesovou – Basedovou chorobou, Hashimotovou thyreoiditidou
- Příčiny: ovlivnění počtu nebo funkce zralých neutrofilů v periferní krvi přítomností extracelulárních faktorů: autoprotilátek, imunokomplexů, cytokinů, toxických metabolitů při metabolických chorobách

Imunodeficiencie po splenektomii

- Způsobena poruchou fagocytózy ve slezině i na periférii (deficit tuftsinu), snížená tvorba antipolysacharidových protilátek.
- Nejzávažnější komplikací je rozvoj hyperakutní pneumokové sepsy.
- 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

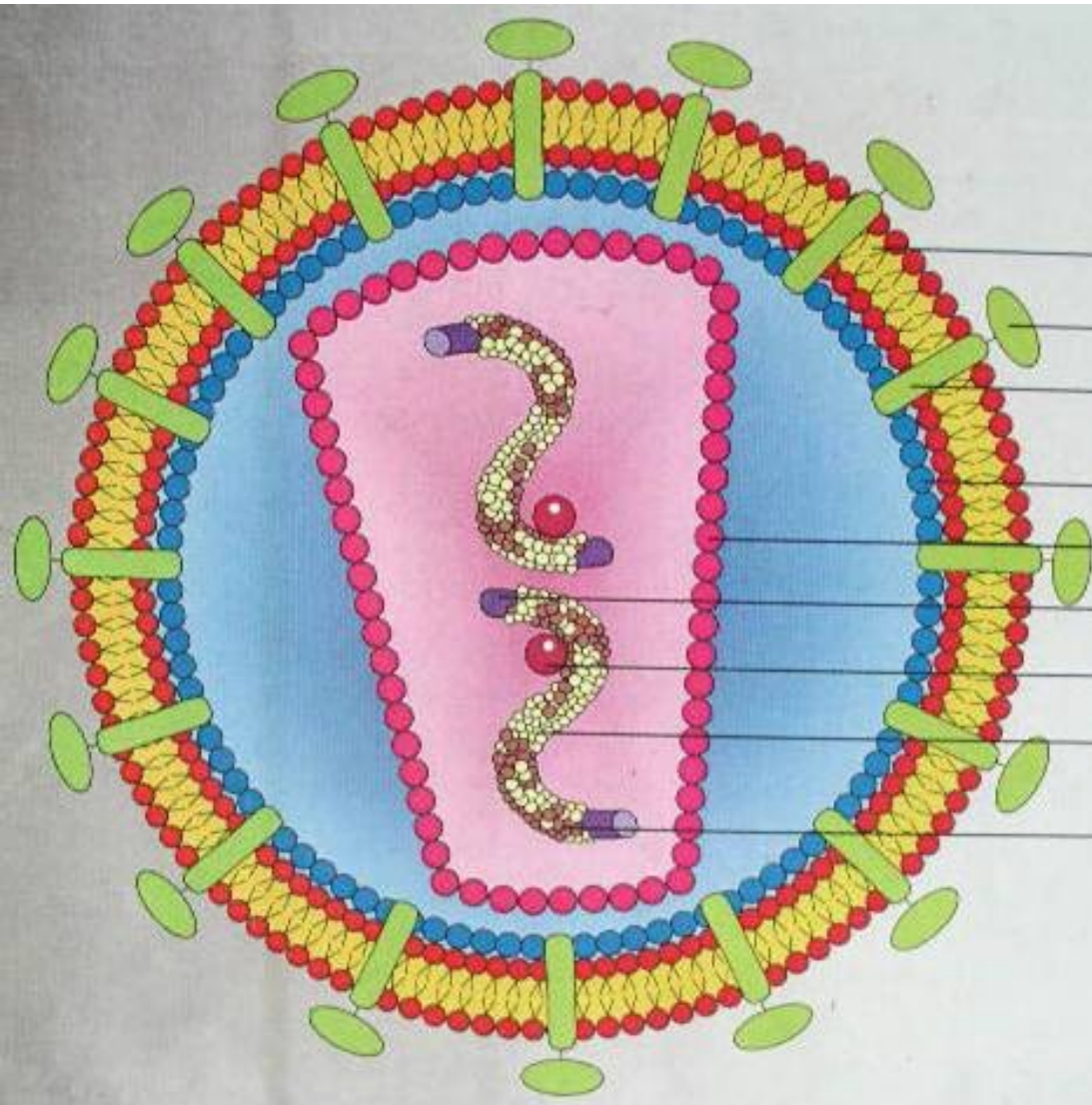
Sekundární hypogamaglobulinémie

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

Sekundární buněčné imunodeficience

- Syndrom získané imunodeficience – 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

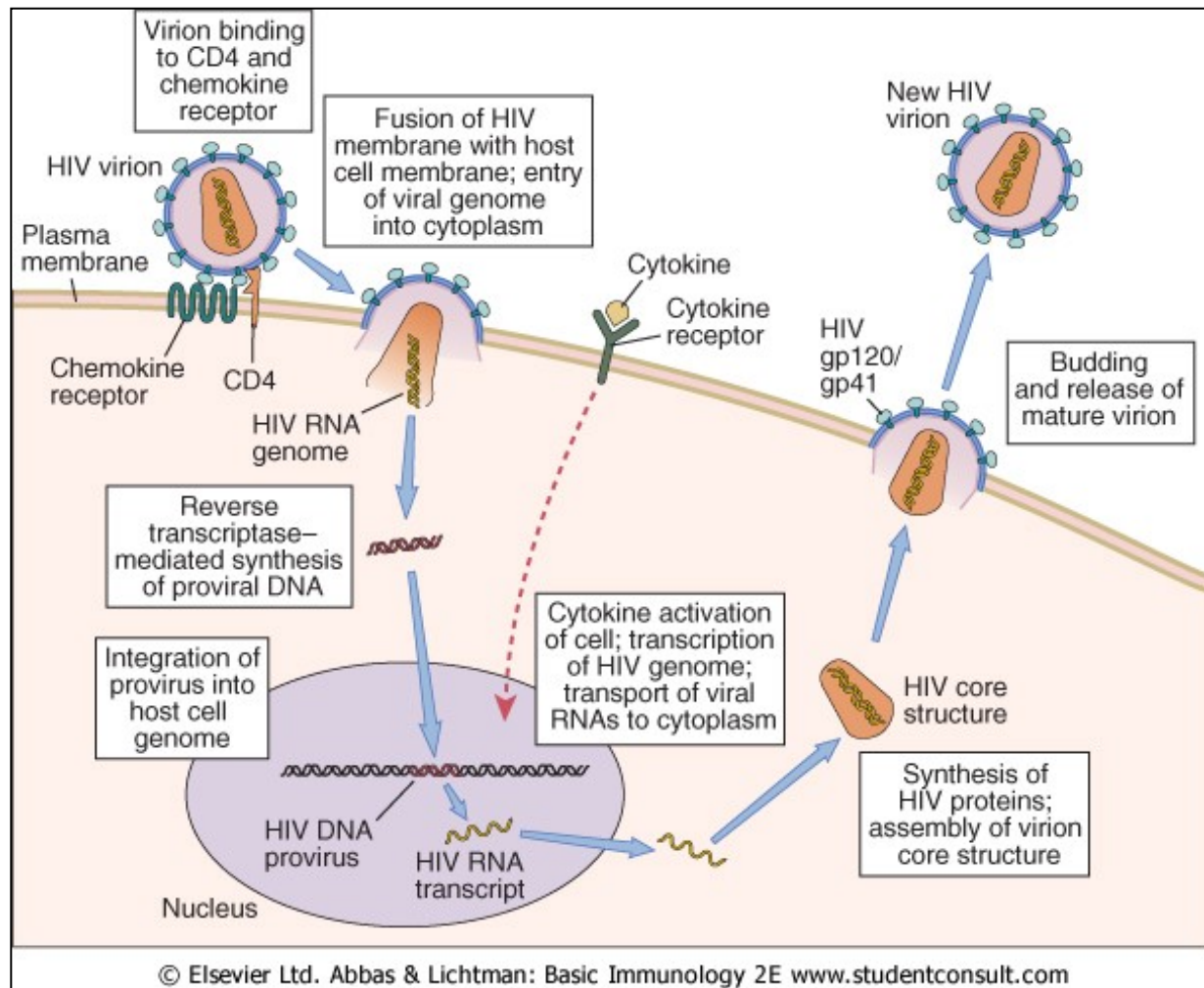
p24 protein tvořící kapsidu

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

Integráza umožňuje integraci takto vzniklé DNA do DNA hostitelské buňky

Faktory patogenity:

- vysoká reprodukční schopnost -10⁹ až 10¹² 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 (mutací) 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)

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

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

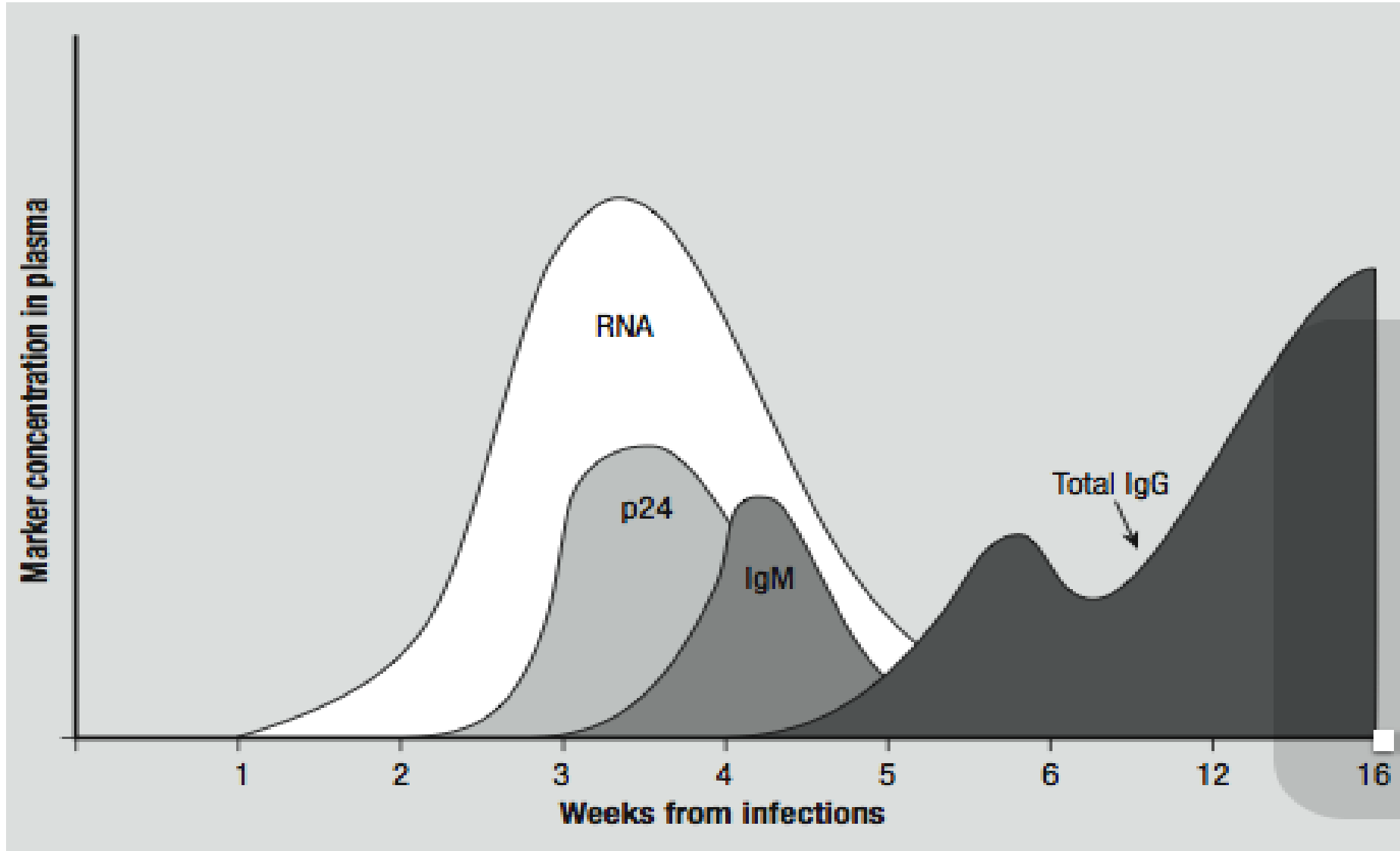
Metody nepřímé diagnostiky

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

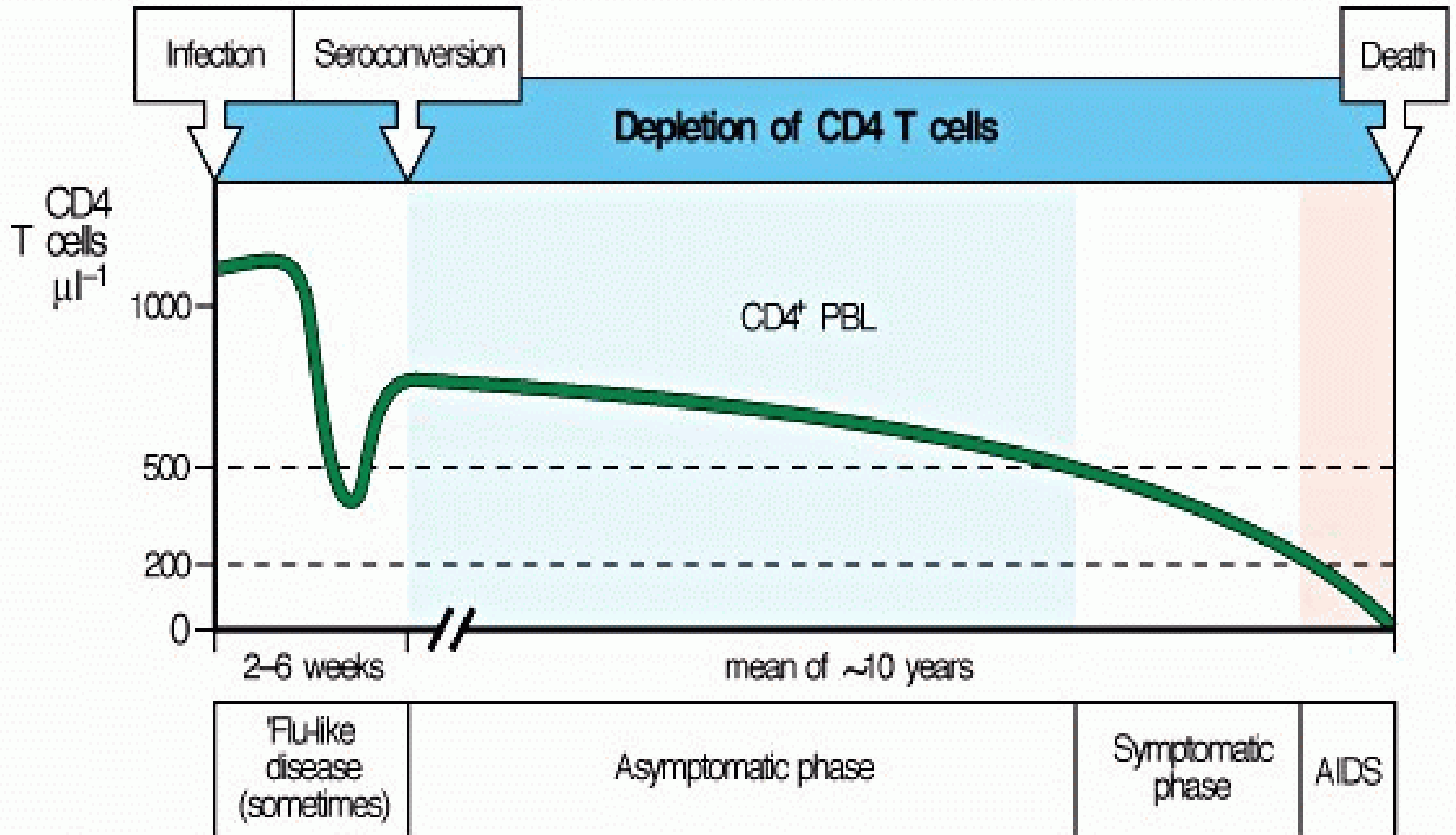
- ELISA
- Western blot (WB) – specifičtější,
méně senzitivní

anti-p24 - proti antigenu p24

Markery v plazmě



CD4+ lymphocyte T a symptomatologie HIV infekce



HIV/AIDS

Laboratorní kategorie

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