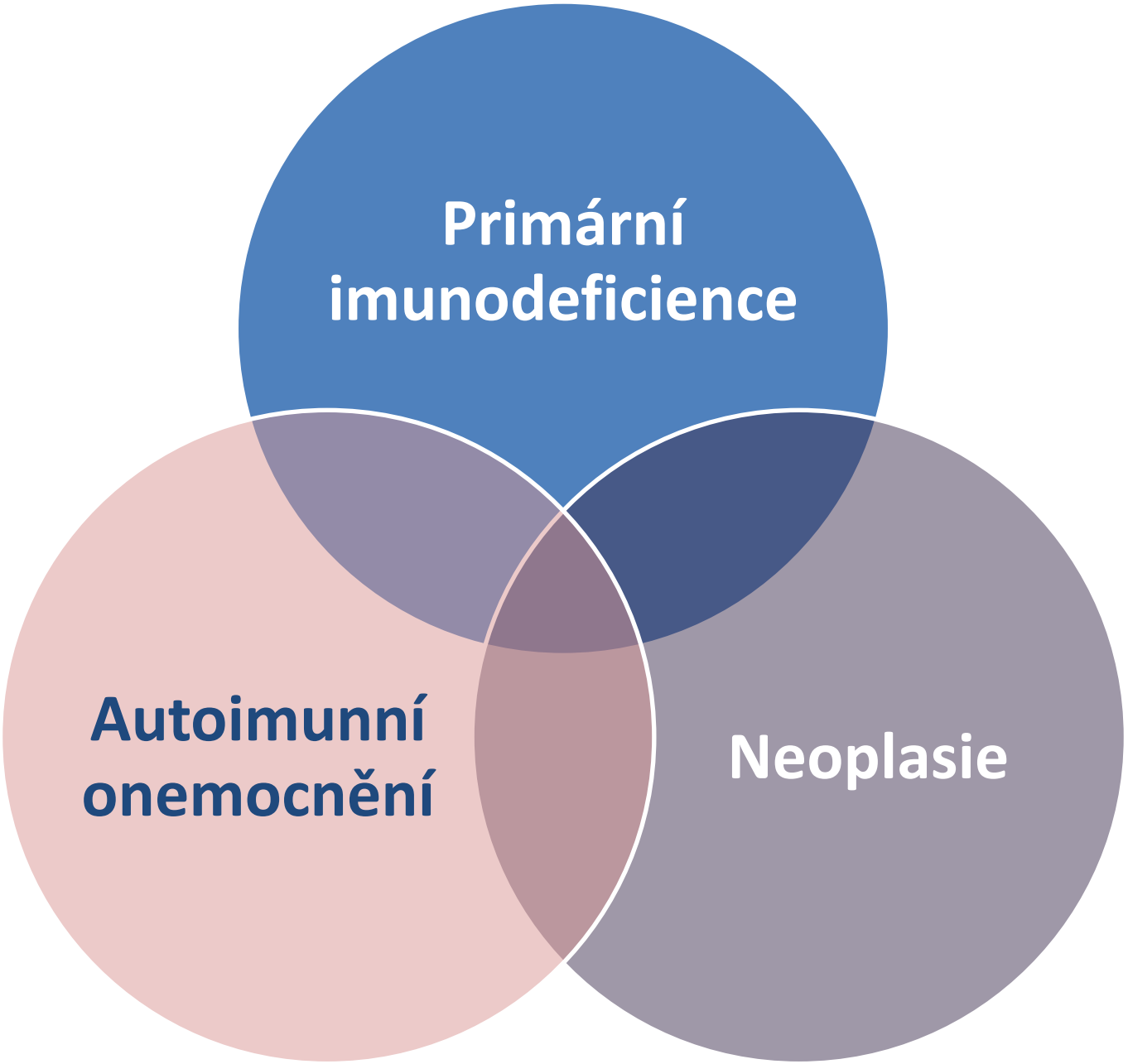
Zajímavé imunologické kazuistiky pohledem klinika a laboratoře

Marcela Vlková, Eva Hlaváčková

Ústav klinické imunologie a alergologie LF MU a FN u sv. Anny v Brně


Primární imunodeficience
Autoimunní onemocnění
Neoplasie

Imunologické vyšetření

10 Warning Signs of Primary Immunodeficiency

Primary Immunodeficiency (PI) causes children and adults to have infections that come back frequently or are unusually hard to cure. 1:500 persons are affected by one of the known Primary Immunodeficiencies. **If you or someone you know is affected by two or more of the following Warning Signs, speak to a physician about the possible presence of an underlying Primary Immunodeficiency.**

1. Four or more new ear infections within 1 year.
2. Two or more serious sinus infections within 1 year.
3. Two or more months on antibiotics with little effect.
4. Two or more pneumonias within 1 year.
5. Failure of an infant to gain weight or grow normally.
6. Recurrent, deep skin or organ abscesses.
7. Persistent thrush in mouth or fungal infection on skin.
8. Need for intravenous antibiotics to clear infections.
9. Two or more deep-seated infections including septicemia.
10. A family history of PI.

Presented as a public service by:

Jeffrey Modell Foundation | Curing PI. Worldwide.

CDC

Funding was made possible in part by grant 5H75DP229146-05 from the United States Centers for Disease Control and Prevention (CDC)

- Protilátkové deficience
- Celulární deficience
- Kombinované deficity
- Deficity fagocytosy
- Deficty komplementu

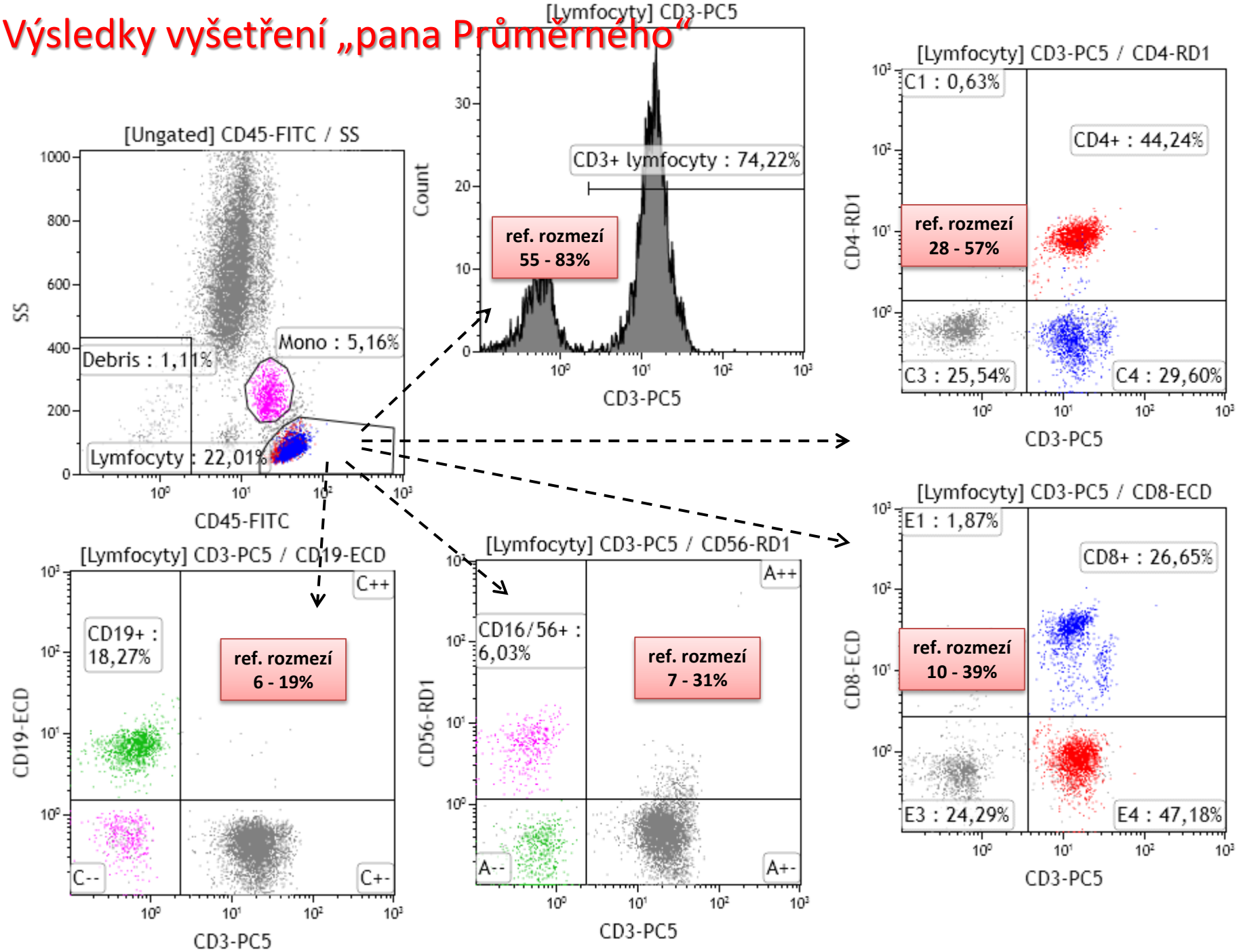
Vyšetřované parametry při podezření na primární imunodeficit

- Počet leukocytů. lymfocytů
- Přítomnost T-B- NK buněk
- Hladina sérových imunoglobulinů
- Komplement
- Fagocytóza
- Markery zánětu
- Subpopulace T- a B- lymfocytů
- Funkční testy T- a B- lymfocytů

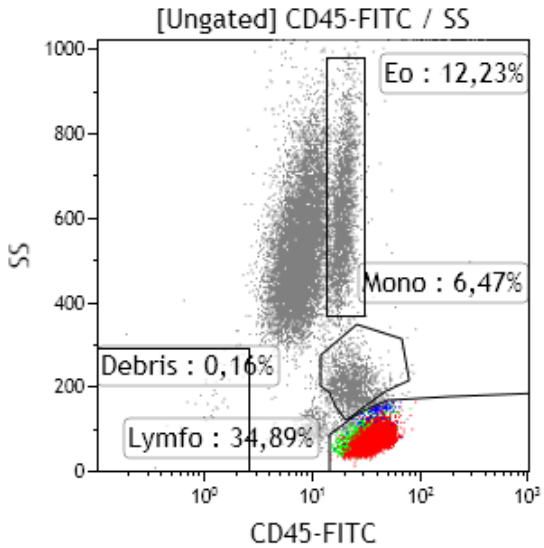
Funkční testy lymfocytů na průtokovém cytometru

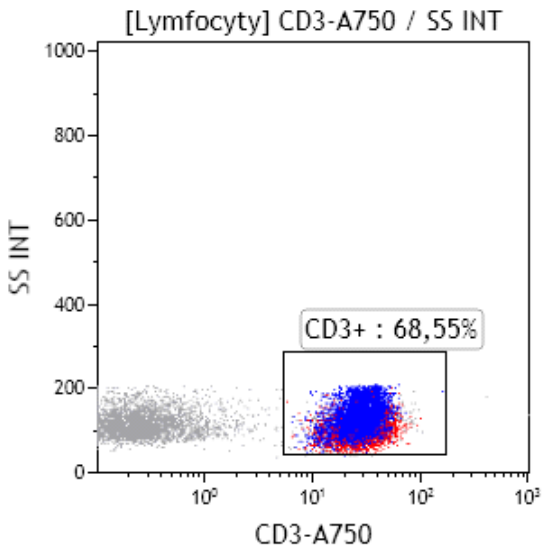
- Proliferace – stimulace PHA, CoN A., anti CD3+ CD28 – využití CFSE, Ki-67, BrDU
- Měření exprese CD40L a ICOS po stimulaci na T-lymfocytech
- Měření exprese CD80, CD86 na B-lymfocytech
- Sledování tvorby plasmablastů po očkování
- Sledování tvorby cytokinů

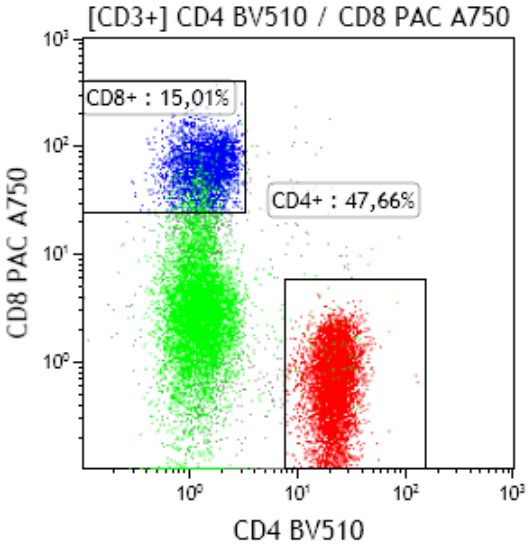
Výsledky vyšetření „pana Průměrného“

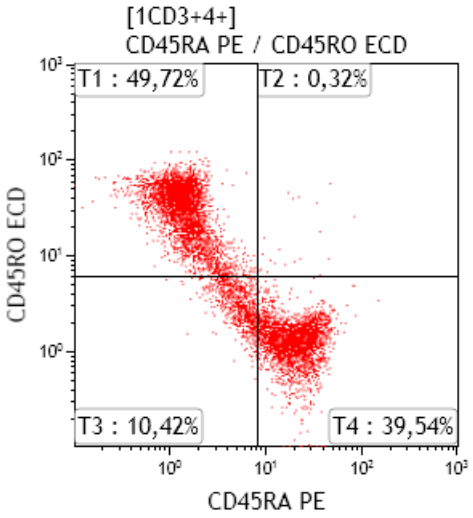


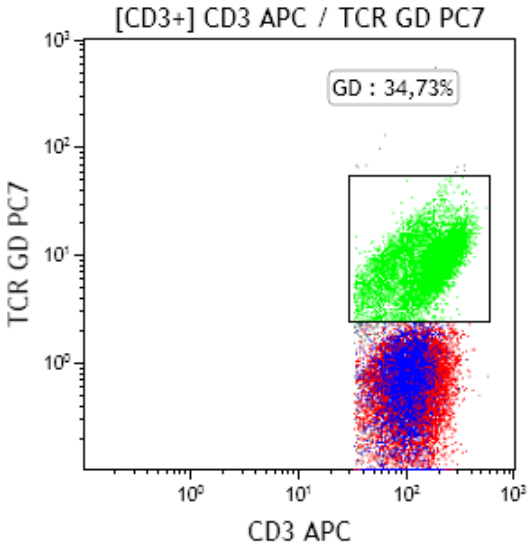
T-lymfocytární subpopulace

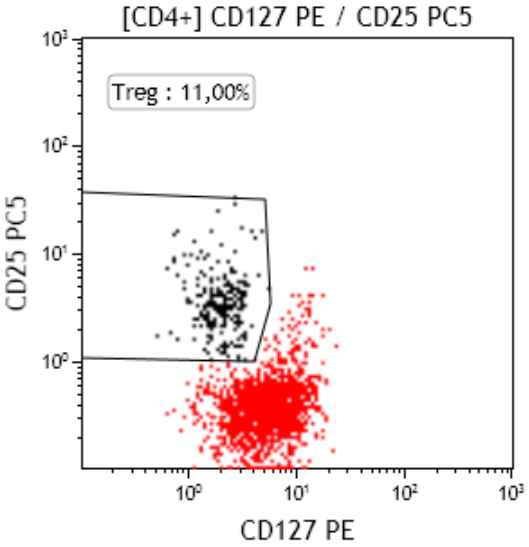












Pacient A r.2016

RA: neg.
OA: I. dítě I. grav. 40TG perinatálně bpn.
Vakcinace bez komplikací dle kalendáře
Zdráv. prospíval

NO: hospitalizace 10. měsíc věku
BPN IMC sepse Klebsiela pneum sp.
dvojkombinace ATB

Persistující elevace CRP
Transitorní lymfocytopenie

Konzultace imunologa
Indikace imunologického vyšetření

Pacient A - vstupní vyšetření

Gamaglobuliny:

- IgG N, IgM N, IgA ↑

Specifické protilátky

- anti PCP N, anti TET N, anti HIB N

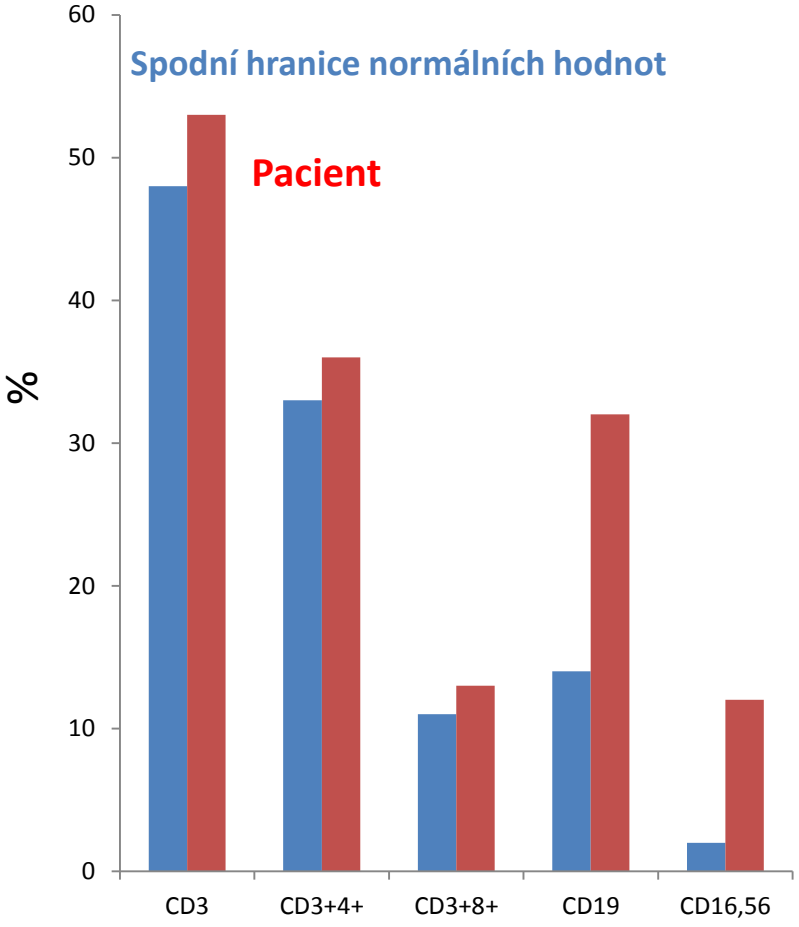
Komplement:

C3 ↑

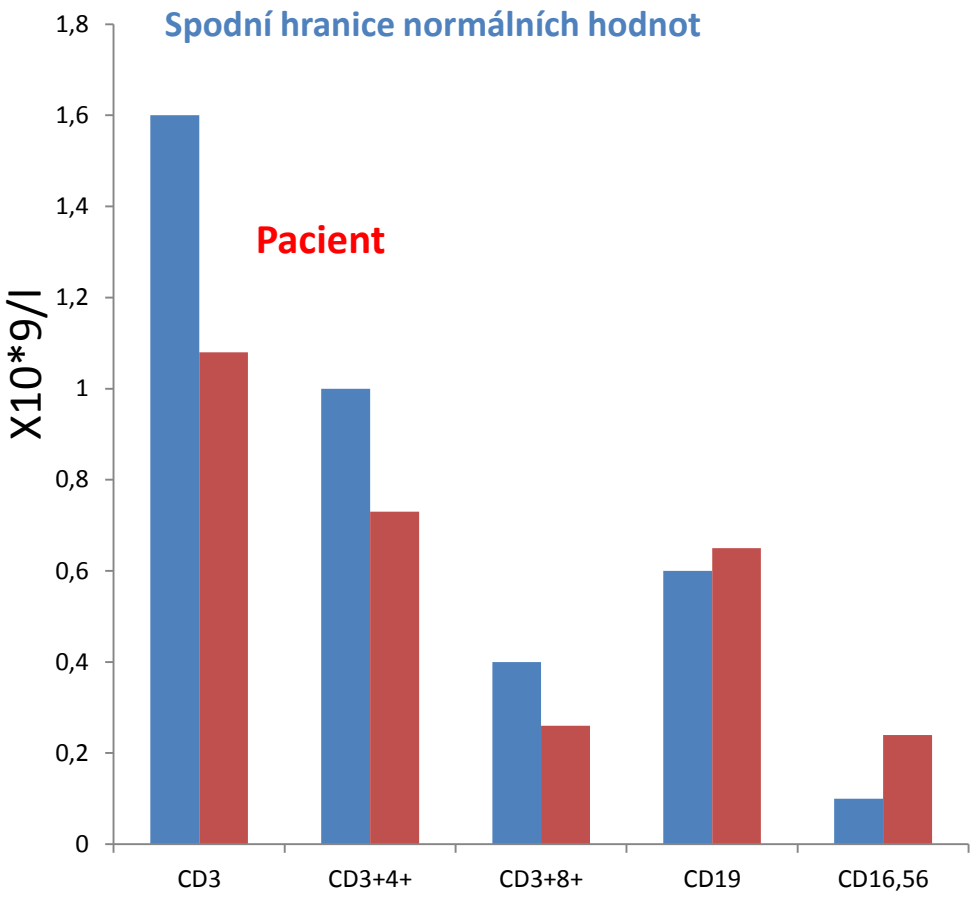
C4 N, CH 50 N, AH 50 N

Pacient A - 10měsíců

Graf procentuálního zastoupení lymfocytárních subpopulací



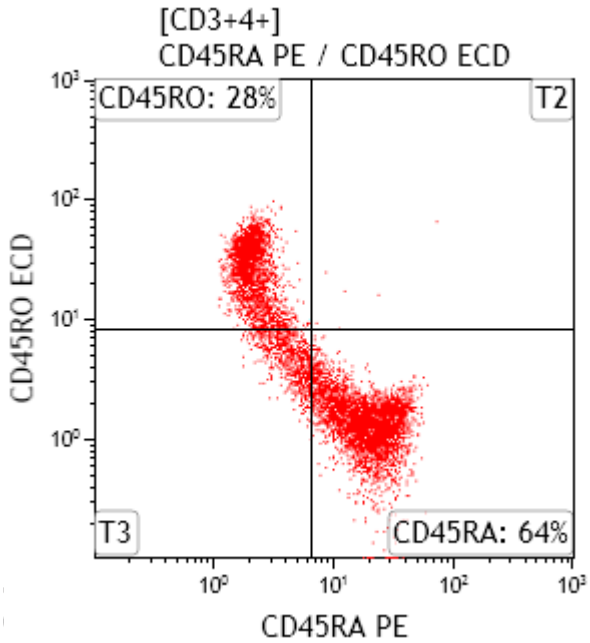
Graf absolutních hodnot zastoupení lymfocytárních subpopulací

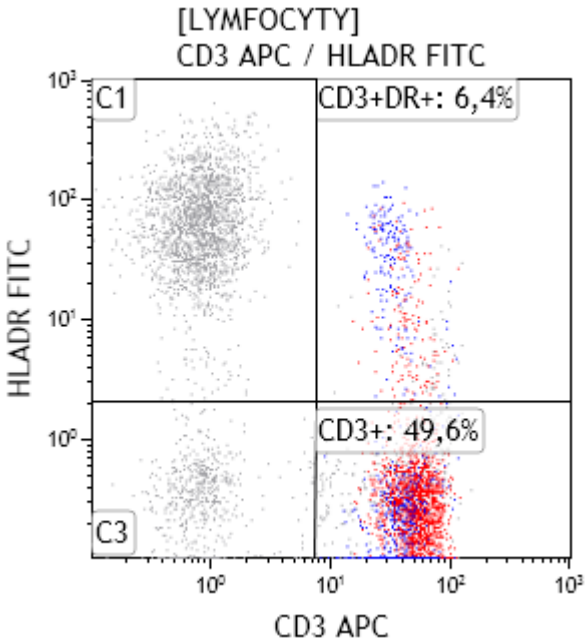


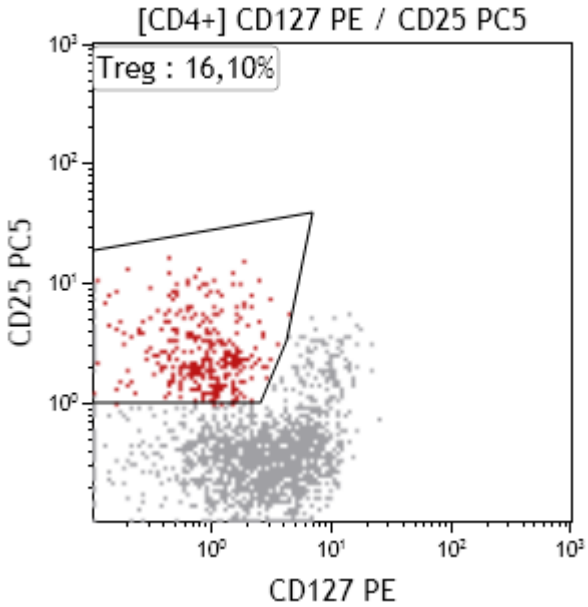
Pacient A - 10měsíců

- ⬇ CD45RA
- ⬆ T-reg

vzhledem k celkovému počtu T lymfocytů (55%)

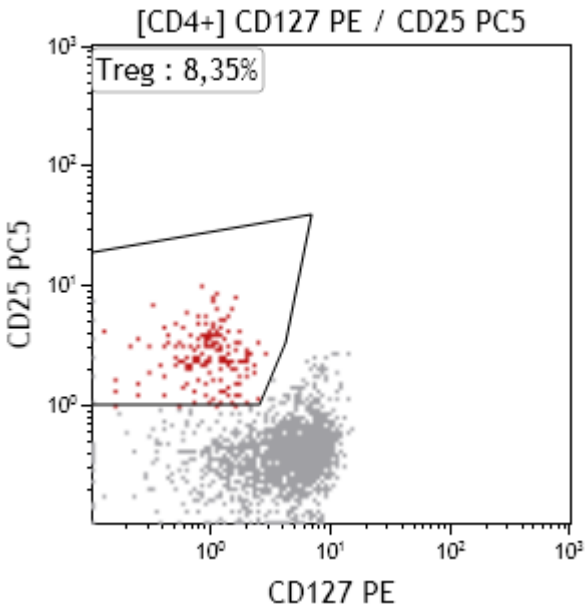




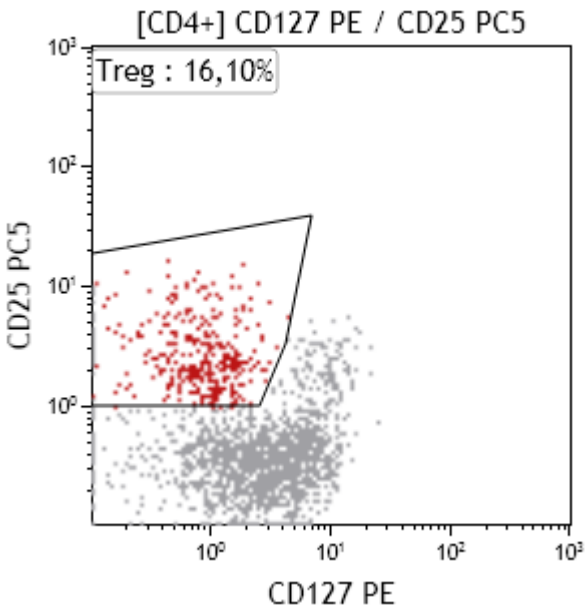


Pacient A 10měsíců T-reg

Zdravá kontrola

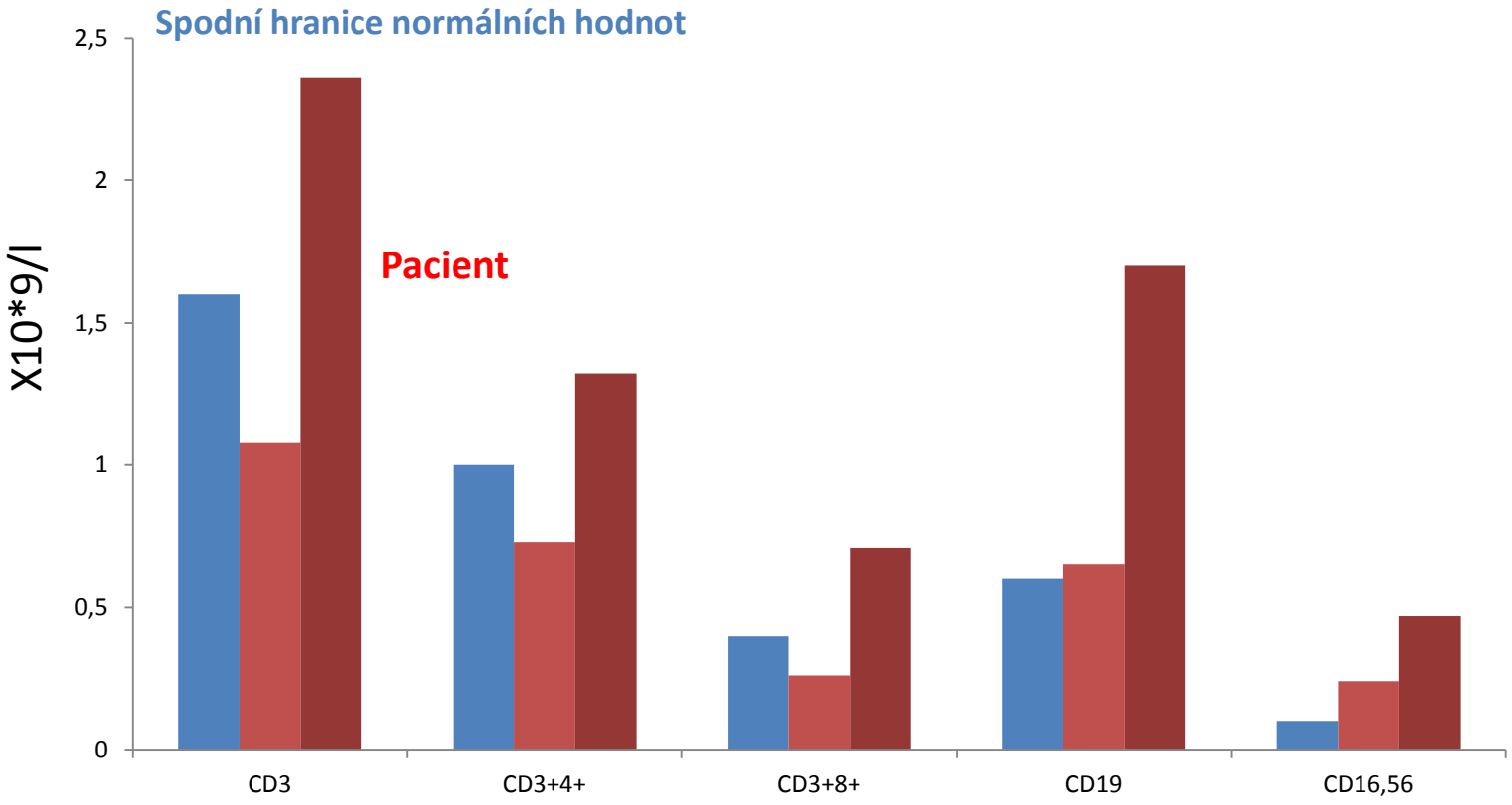


Pacient .A.



Pacient A

Graf absolutních hodnot
zastoupení lymfocytárních subpopulací



Pacient A

Septický stav

- IgG, IgM norma
- IgA Elevace
- Anti PCP antiTET antiHiB norma

- Elevace C3
- Lymfocytopenie
- Elevace T reg
- TREC redukce

1M po propuštění:

- IgG IgM N
- IgA N
- Anti PCP antiTET anti HiB N

- C3 N
- Lymf N
- T reg N
- T lymf proliferace (PHA, ConA, CD3) N

Pacient A – 1 rok závěr

Negativní OA a RA
NO: **Epizoda sepse a BPN Kl. pneumoniae**
Protrahovaná odpověď na terapii v septickém stavu

Laboratorní nález:
Leukopenie Trans.lymfocytopenie Elevace Treg

Po odléčení sepse:
Normalizace laboratorního nálezu, normalizace T reg

- Fyziologický psychomotorický vývoj
- Absence závažných infekcí
- Absence oportunních infekcí

- Imunologická dispenzarizace
- **DD porucha nespecifické humorální imunity …**

Sepse jako imunosupresivní onemocnění

- Mění imunologický profil pacienta
- Známky: lymfopenie. granulocytopenie
- Zvýšení T-reg
- 3-7 den redukce thymocytů x vzestup progenitorových buněk
- V progenitorových buňkách regulovány geny pro vývoj lymfocytů, upřednostnění genů pro myeloidní buňky
- Postižena i reakce B-lymfocytů – mohou se produkovat plasmablasty, ale vzniklé Ig jsou málo specifické

Pacient D r.2013

RA: Matka malý vzrůst, lehká PMR

OA: rekurentní infekty dýchacích cest od narození
Růst pod 3 percentilem
Hypotonie, opožděný vývoj motoriky

NO: **7 měsíc věku**
BPN s atelactasami
Dvojkombinace ATB
Protrahovaný průběh

Indikace imunologického vyšetření: **Imunodeficit k vyloučení**

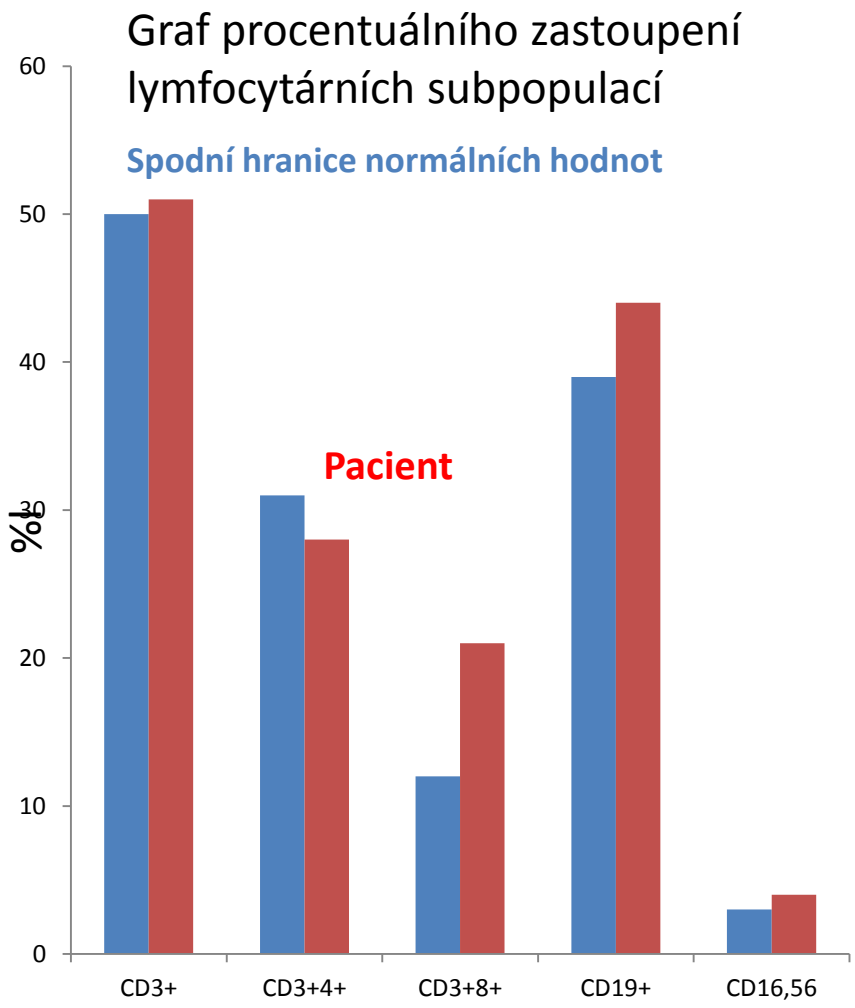
Pacient D r. 2013

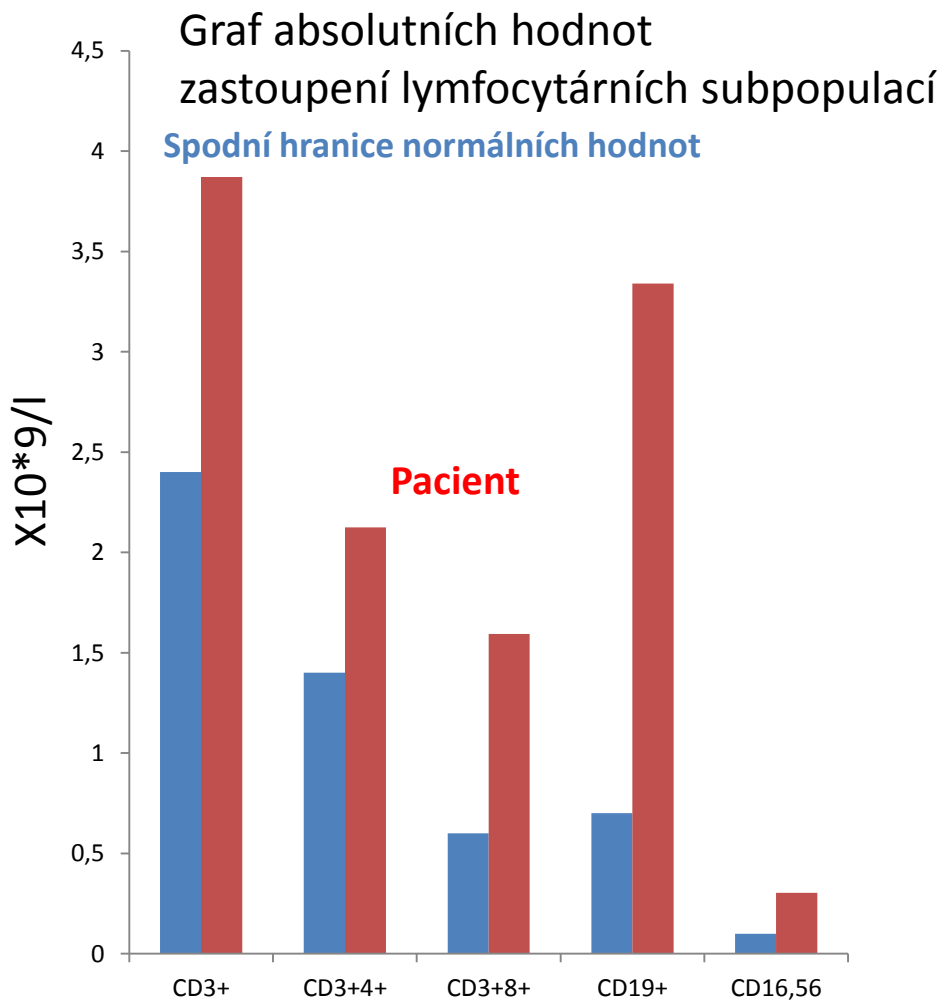
- Snížené hladiny IgA (kolísání od 0,182 po 0,657g/l)
- Normální hladiny IgG i IgM, zvýšení IgE
- MBL v normě
- Autoprotilátky: Při prvním vyšetření negativní; 03/2017 ANA, typ Nu, titr 1:80
- Při prvním vyšetření nízké hladiny protilátek proti pneumokoku, normalizace 09/2015
- Pl. proti Haemophilus influenzae , tetanus v normě

Pacient D r.2013

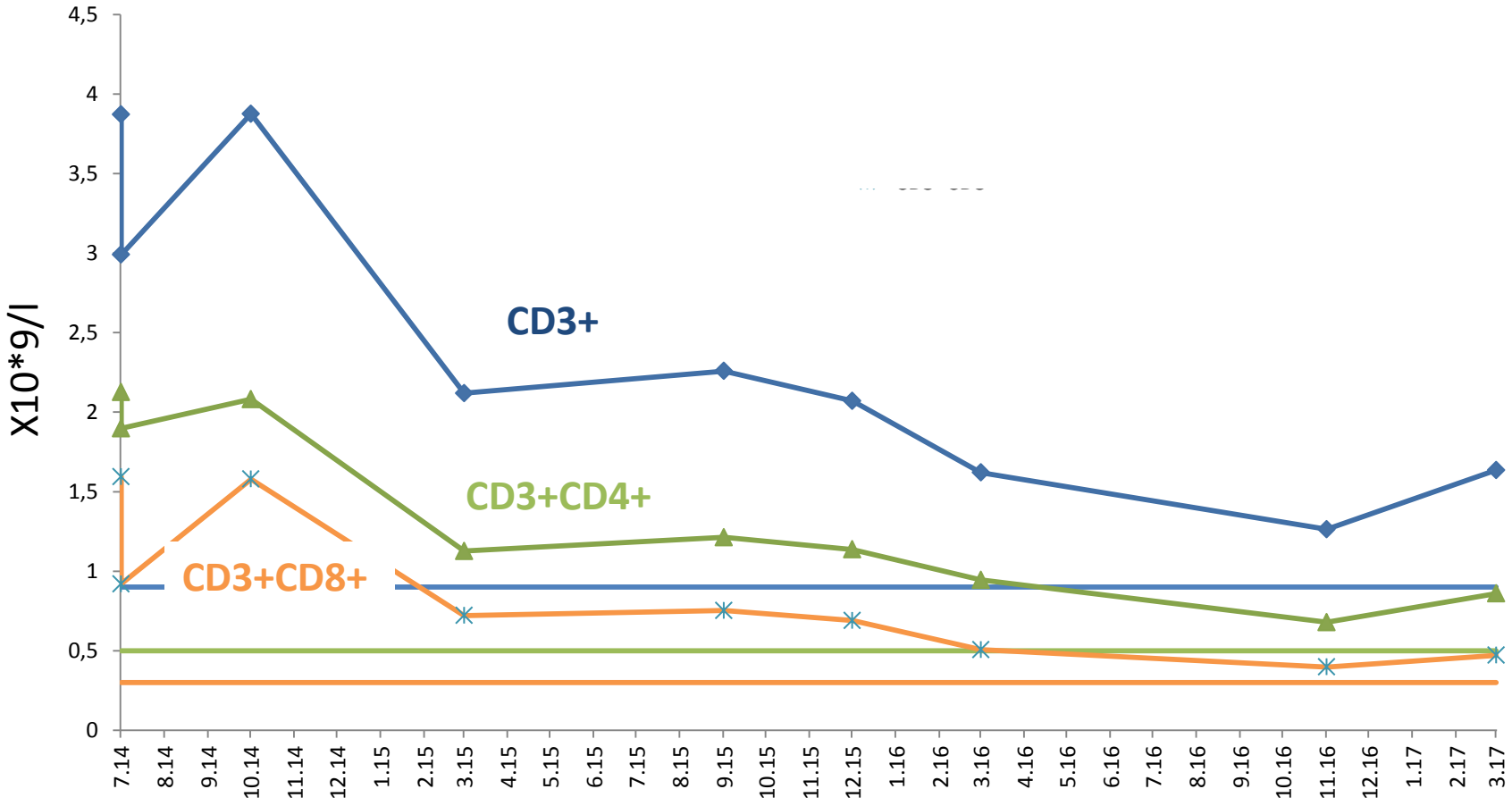
- Mírně zvýšená hladina leukocytů
  - kolísají mezi 11.5-18.4x10*9/l ;
  - poslední vyšetření v normě
- Není přítomna aktivace T- lymfocytů
- Normální hladiny CD3+HLA-DR+
- Hladiny CD38+ na CD3+CD8+ přiměřené věku dítěte
- Hladiny CD57+ na CD3+CD8+ přiměřené věku dítěte
- Proliferační odpověď v normě

Pacient D - 7 měsíců věku

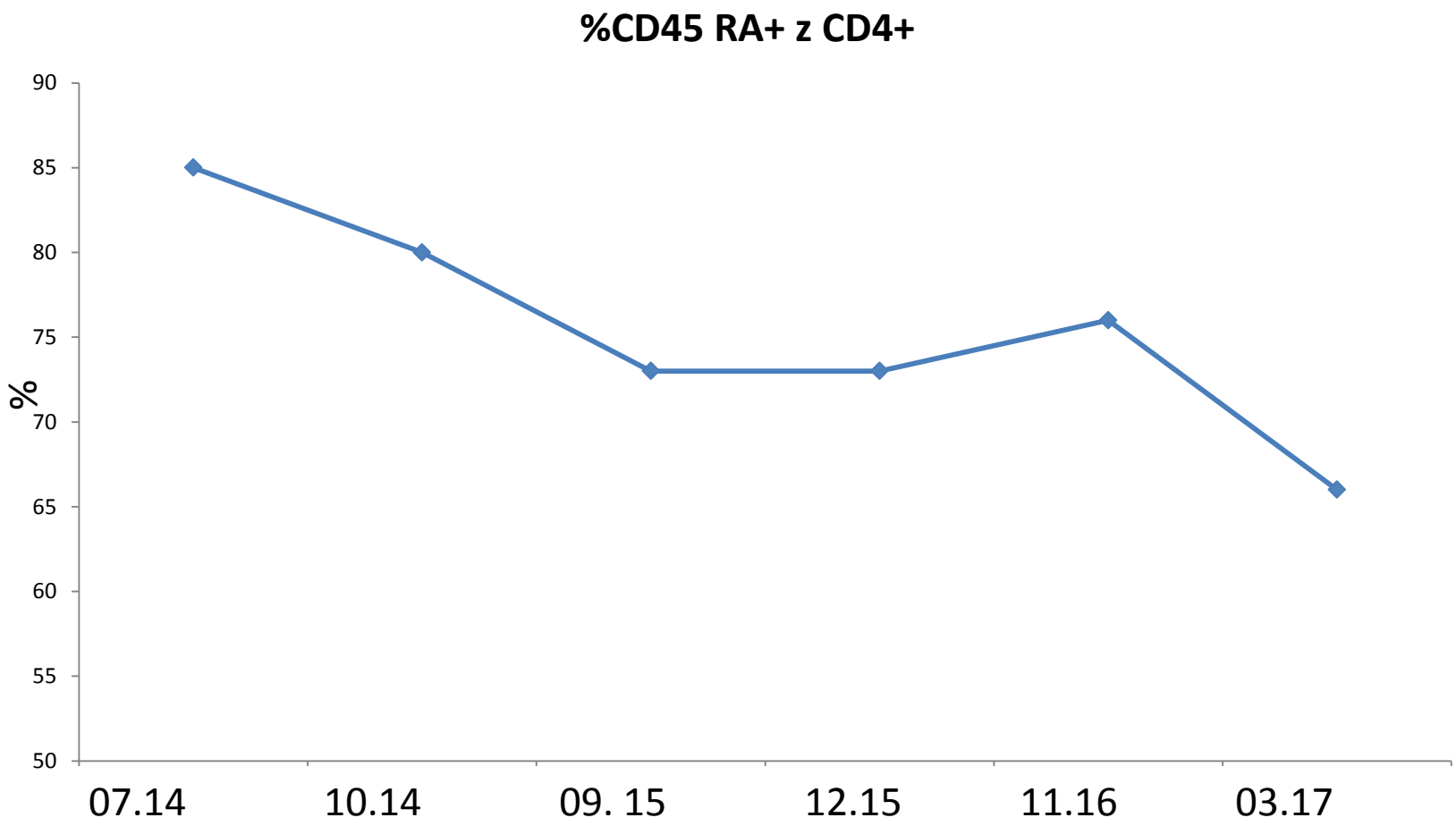




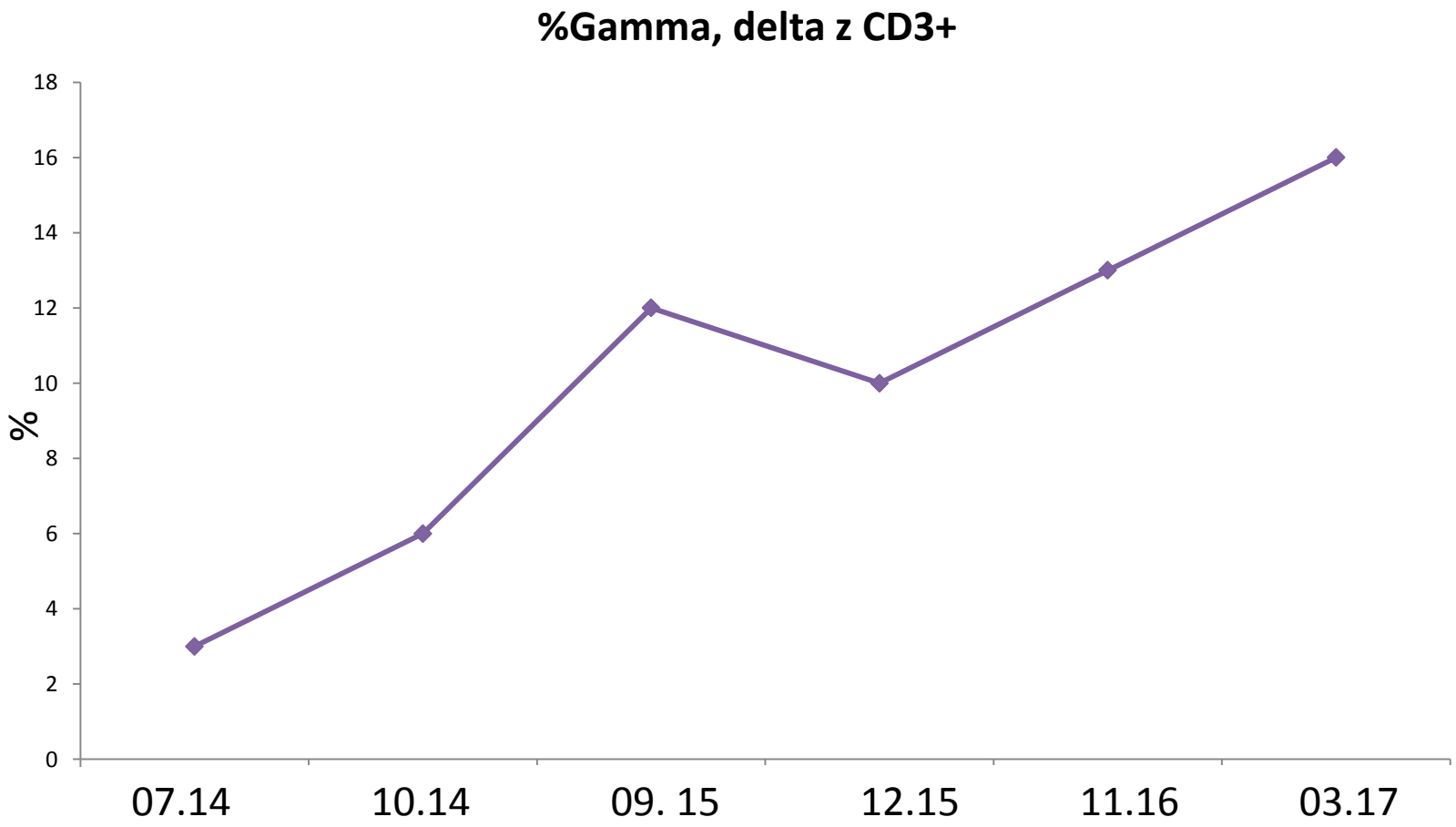
Pacient D r. 2013



Pacient D r. 2013



Pacient D r.2013



Pacient D - 3 roky

Pos RA:

OA: **Protrahované infekty DCD a HCD v 1. roce věku**

- **BPN s atelektasami neodpovídající adekvátně na terapii v 7. měsících věku**

Status praesens:

- Faciální dysmorfismus
- Růst pod 3 percentilem
- Opožděný motorický vývoj, hypotonie

Stávající stav:

ATB profylaxe do 3 let

- Absence infekčních komplikací
- Somatická a psychomotorická retardace
- Autismus
- Faciální dysmorfismus

- **Progredující syndromologické rysy**
- **Absence klinických známek imunodeficience**

Imunodeficitní rysy s imunodeficiencí

Recidivující respirační infekty
Recidivující infekty v ORL oblasti

Hypotonie
- zhoršená čistící schopnost dýchacích cest

GER
- mikroaspirace

Neurologické postižení
- poruchy polykacího reflexu – mikroaspirace

Somatické vady
- Vrozené malformace dýchacích cest

Primární imunodeficence
Di George sy, Down sy….

Pacientka B r.1972

RA: bpn.
OA: rekurentní respirační infekty v dětství
st.p. boreliosis
NO: Herpes zoster brachii et toracis l.dx 8/15
Hypacusis l.dx perceptiva mesocochlearis l.dx cum tinnitu 8/15
Monohočetná hypoechogenní ložiska břišní stěny 8/15

Histologie: **Nekrotizující granulomatózní panikulitida reaktivní nodulární lymfoidní hyperplázií. 9/15**

Vyloučeno maligní onemocnění 9/15
Vyloučena vaskulitis 10/15

HLA B 27 positivní spondyloartritis 11/15

Imunologické vyšetření: v rámci DD

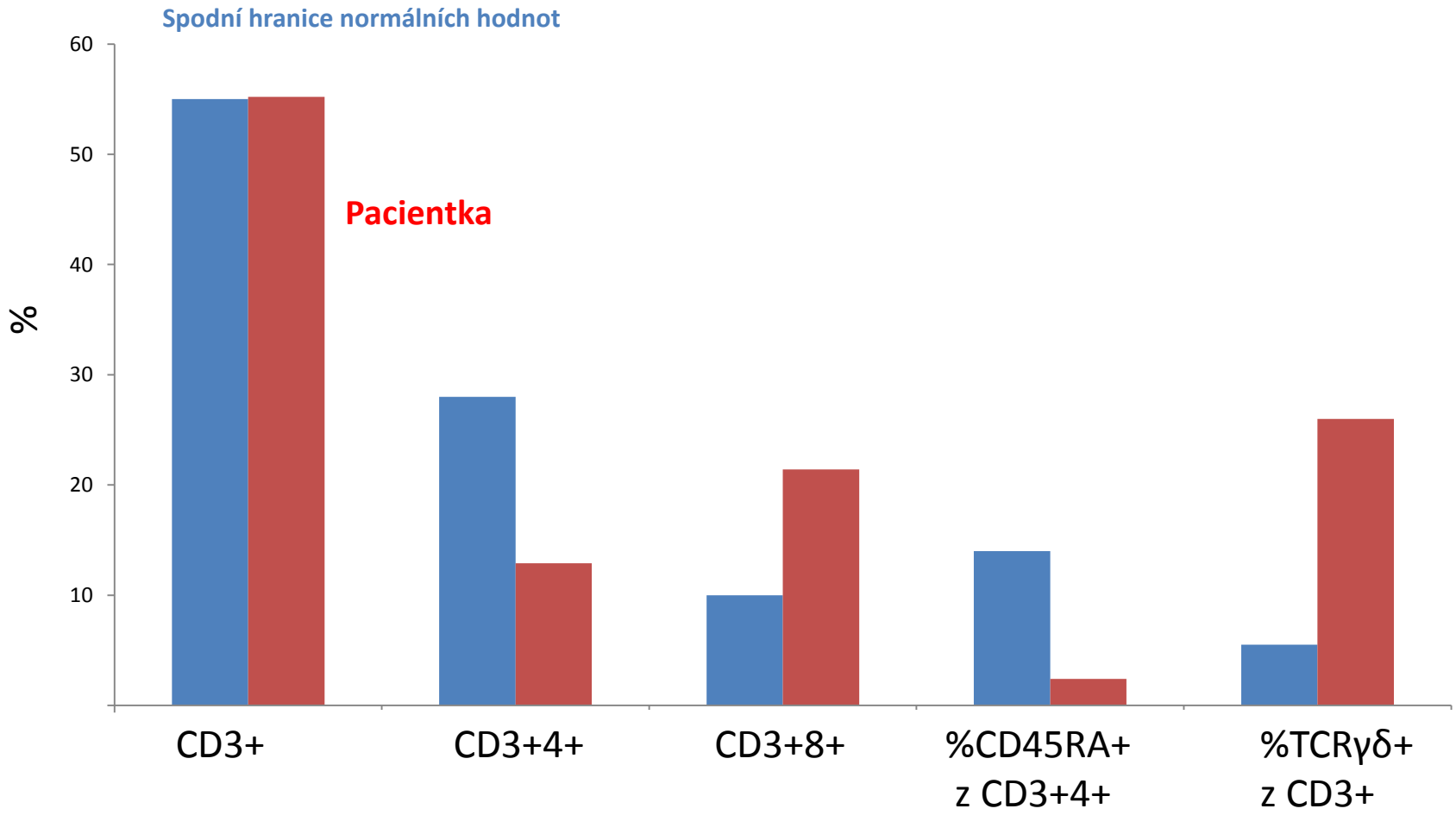
Pacientka B. r.1972

Laboratoř

- Normální hladiny IgG, IgA i IgM.
- IgG anti TET, anti PCP, anti HIB norma
- MBL v normě
- Autoprotilátky: ANA, typ homogenní, titr kolísá mezi 1:80-1:320
- Leukocyty a lymfocyty se pohybují na dolní hranici normy

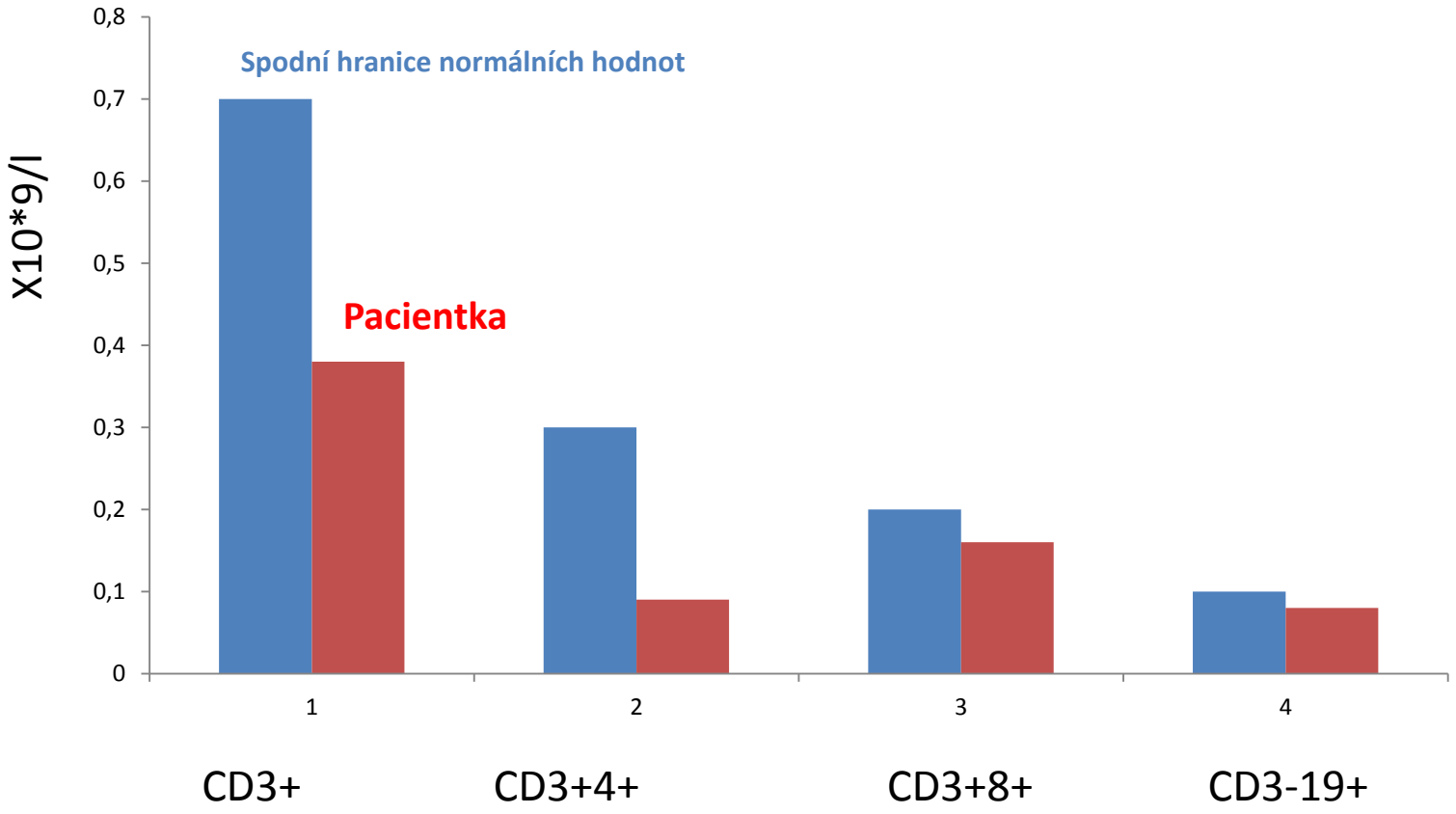
Pacientka B

Výsledky vyšetření procentuálního zastoupení T-lymfocytárních subpopulací



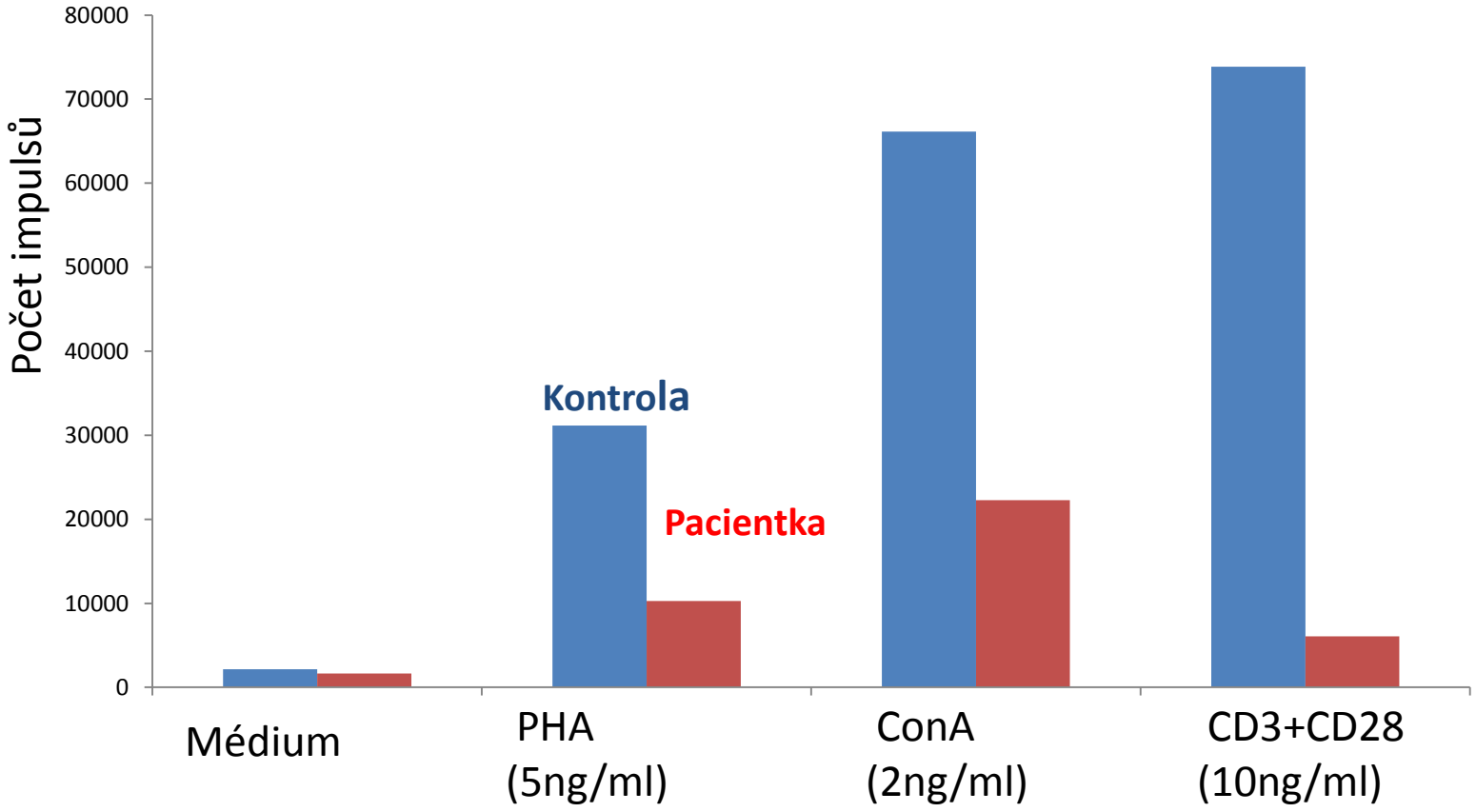
Pacientka B

graf absolutních hodnot zastoupení T lymfocytárních subpop.



Pacientka B
Proliferační vyšetření

-



Pacientka B – 45 let

OA: Rec. Infekty HCD a DCD v dětsví a adolescenci

NO: Herpes zoster brachii et toracis l.dx 8/15

- Hypacusis l.dx perceptiva mesocochlearis l.dx cum tinnitu 8/15
- Nekrotizující granulomatózní panikulitida reaktivní nodulární lymfoidní hyperplázií – vyloučena neoplasie a vaskulitis
- **HLA B 27 positivní spondyloartritis 11/15**

Laboratorní nálezy:

- **Progredující leukopenie, lymfocytopenie**
- **CD3+CD4+ T lymfocytopeni- HIV1 a HIV 2 neg**
- **CD3+CD8+ a CD19+ lymfocytopenie v abs. Počtu.**
- **Elevace TCR gamma delta**
- **Nízké TREC**
- **Snížení T lymfoproliferativních testů.**

Nynější stav:

- **ICL**
- **Progerdující laboratorní nález**
- **HLA B 27 positivní spondyloartritis 11/15**
- **Absence manifestace infektů**

Pacient P r.2010

RA: neg.

NO: perinatální sepse, anemie, leukopenie

6M absces bradavky

18M susp. leukoklastická vaskulitis

- Nález CD4+T lymfocytopenie v rámci DD vyšetření

Indikace imunologického vyšetření v centru

- Vyloučena HIV1 a HIV2

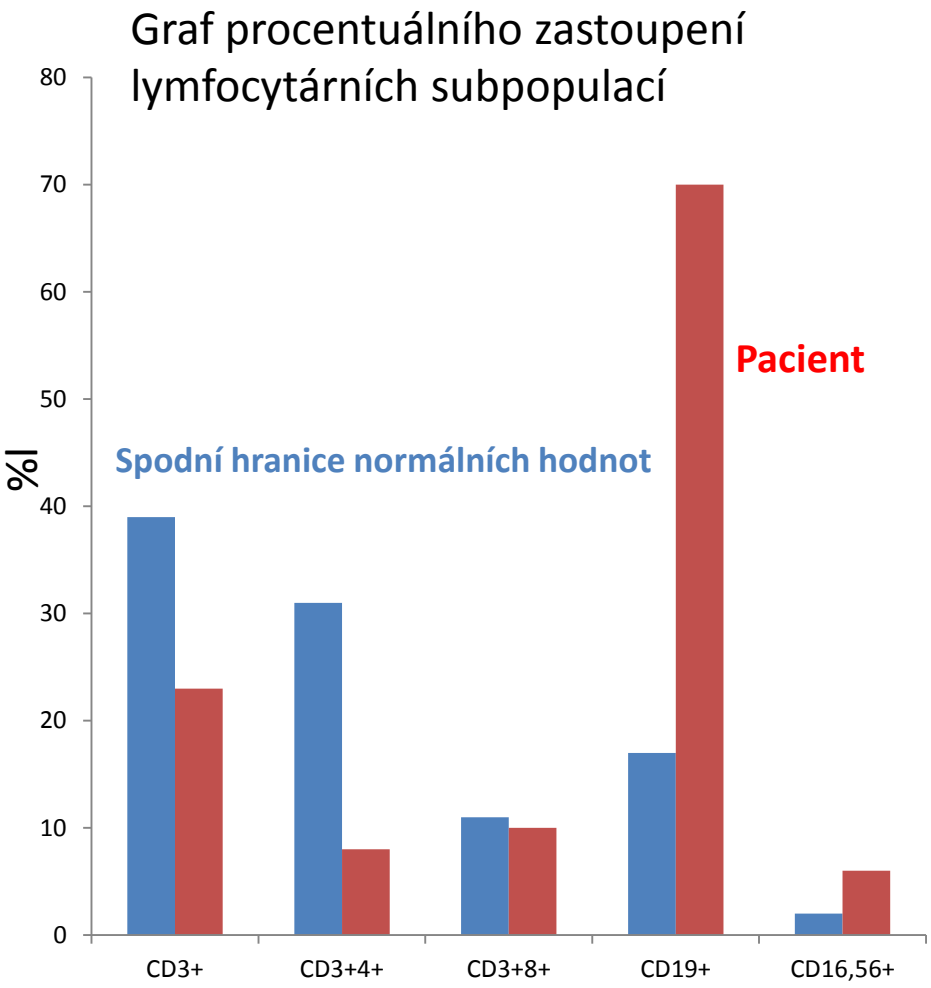
Pacient P stáří 2 roky 3/12

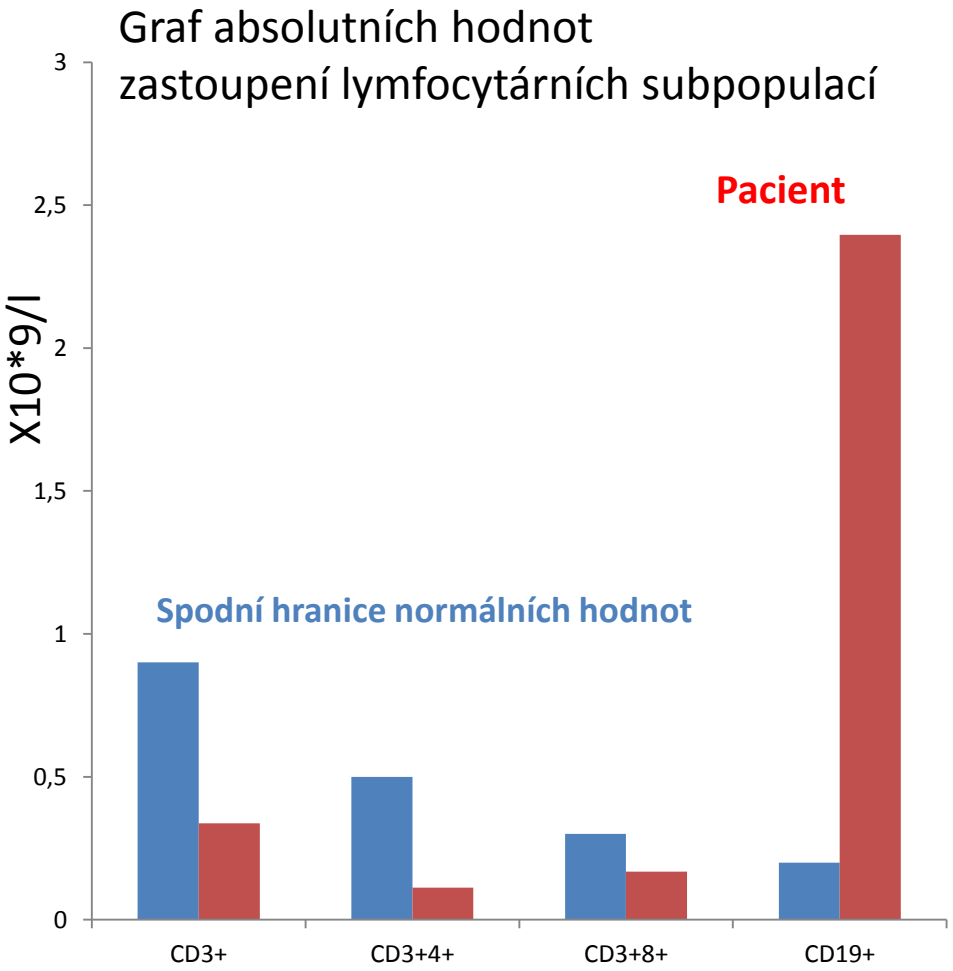
- Normální hladiny IgG, pokles IgA a IgM (kolísání od 4,0 po 7,2g/l)
- MBL v normě
- Autoprotilátky negativní
- Mírný pokles protilátek proti pneumokoku. později i proti HIB, tetanus v normě
- Snižující se hladiny leukocytů a lymfocytů
  - kolísají mezi 3,7-5,8 x 10*9/l

Pacient P stáří 2 roky 3/12

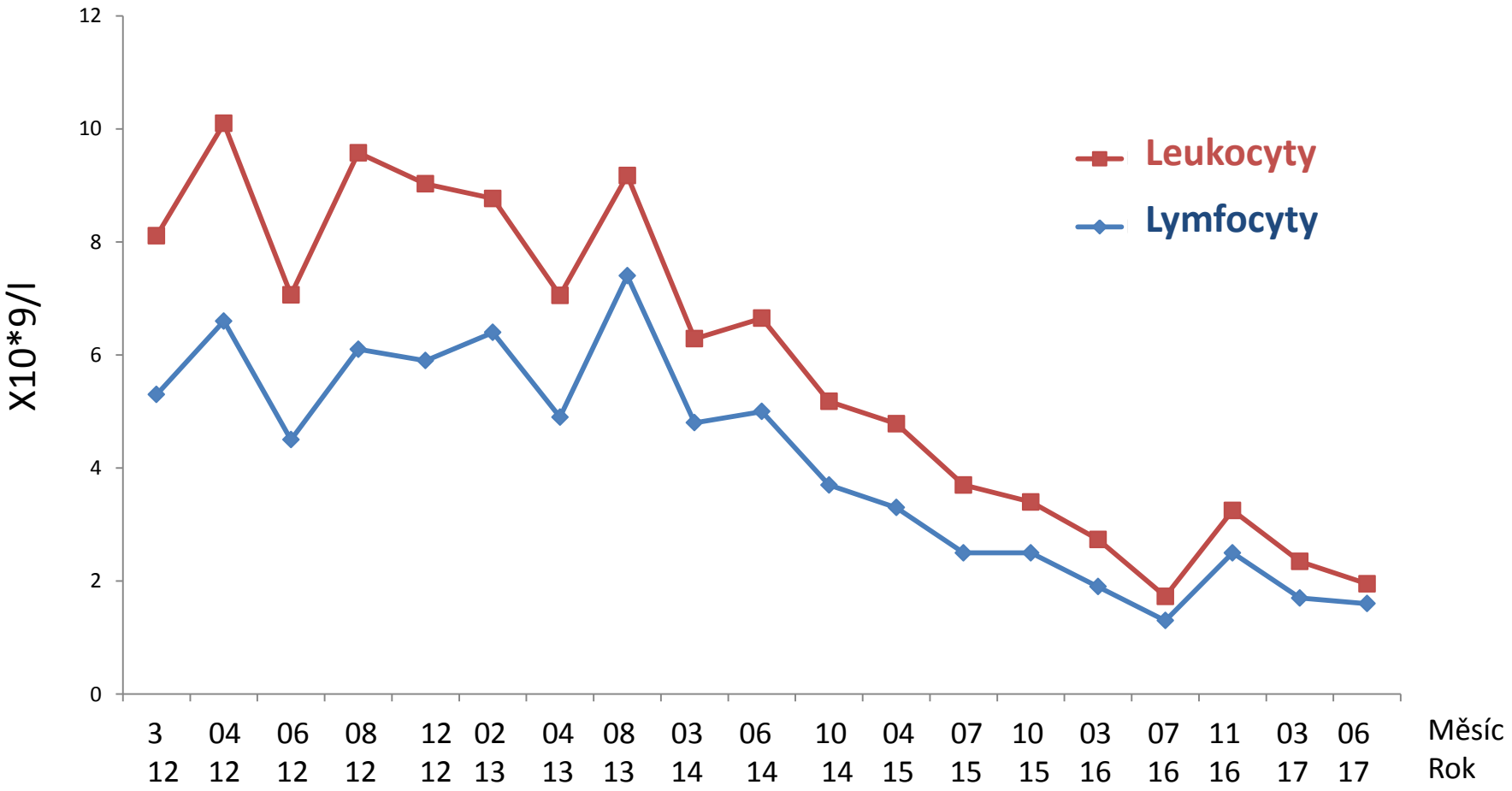
- Není přítomna aktivace T- lymfocytů
- Normální hladiny CD3+HLA-DR+
- Hladiny CD38+ na CD3+CD8+ přiměřené věku dítěte
- Hladiny CD57+ na CD3+CD8+ přiměřené věku dítěte
- Proliferační odpověď v normě

Pacient P stáří 2 roky 3/12

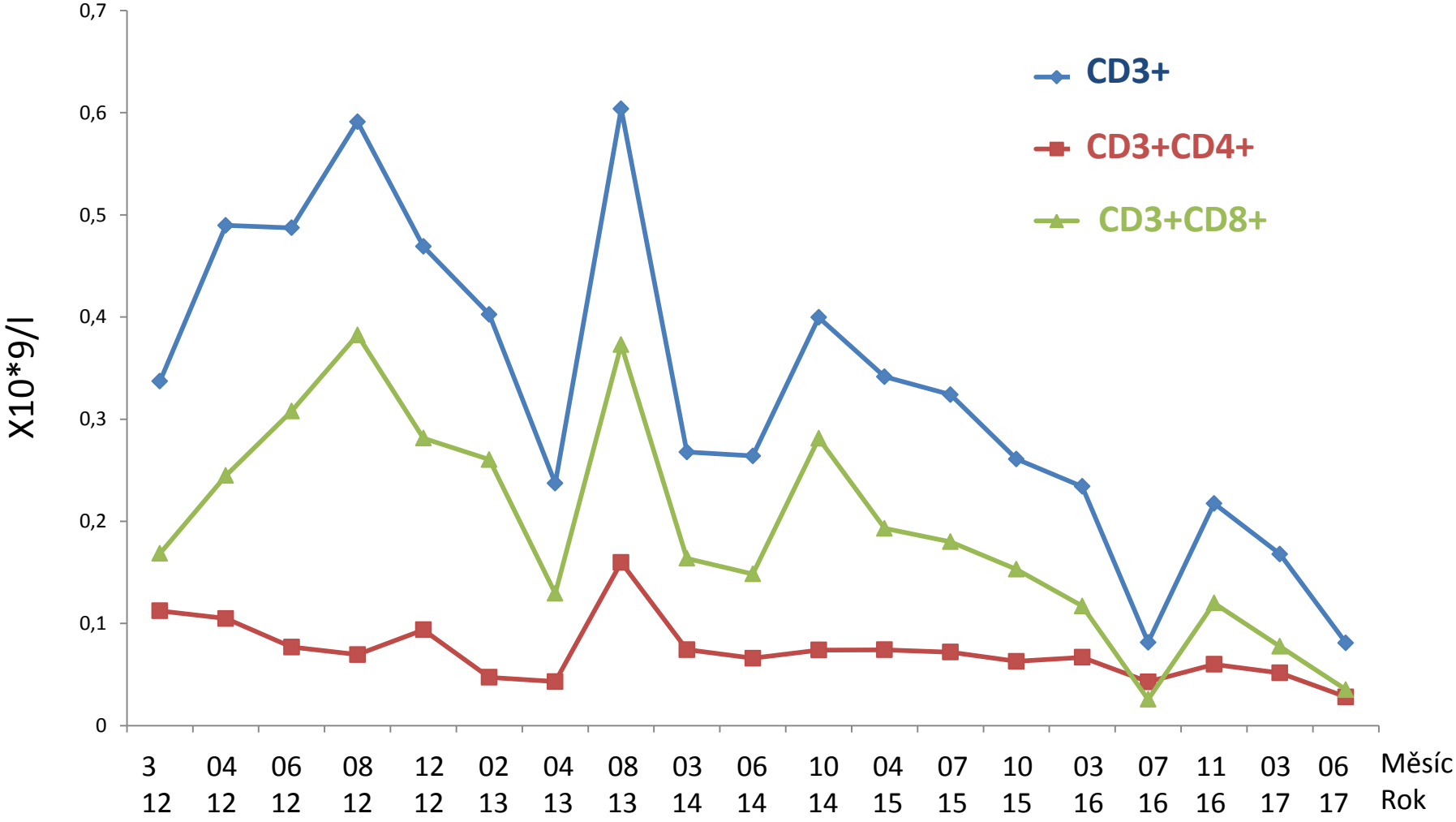




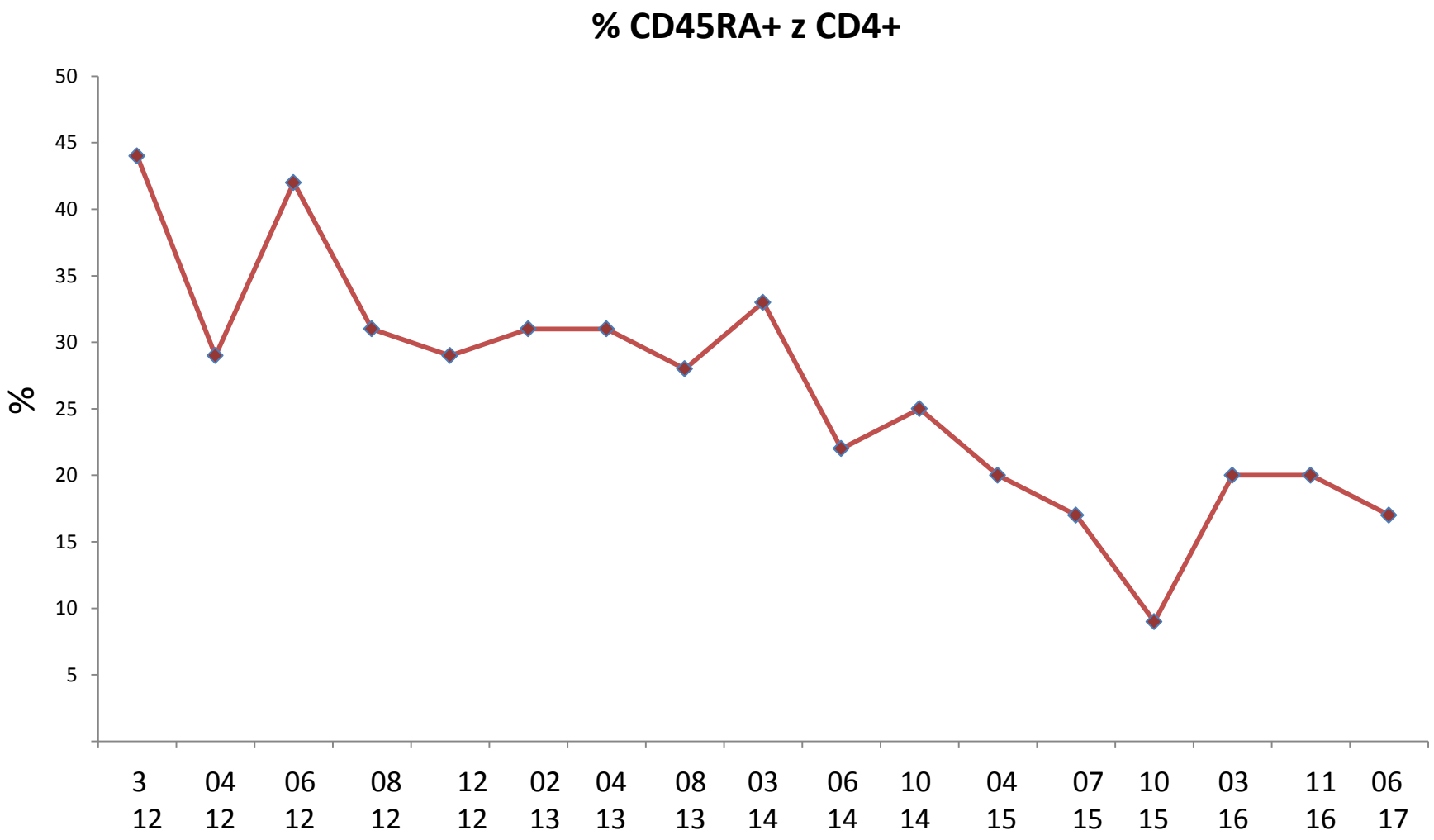
Pacient P


X10*9/l
12
10
8
6
4
2
0
Leukocyty
Lymfocyty
3 12
04 12
06 12
08 12
12 12
02 13
04 13
08 13
03 14
06 14
10 14
04 15
07 15
10 15
03 16
07 16
11 16
03 17
06 17
Měsíc
Rok

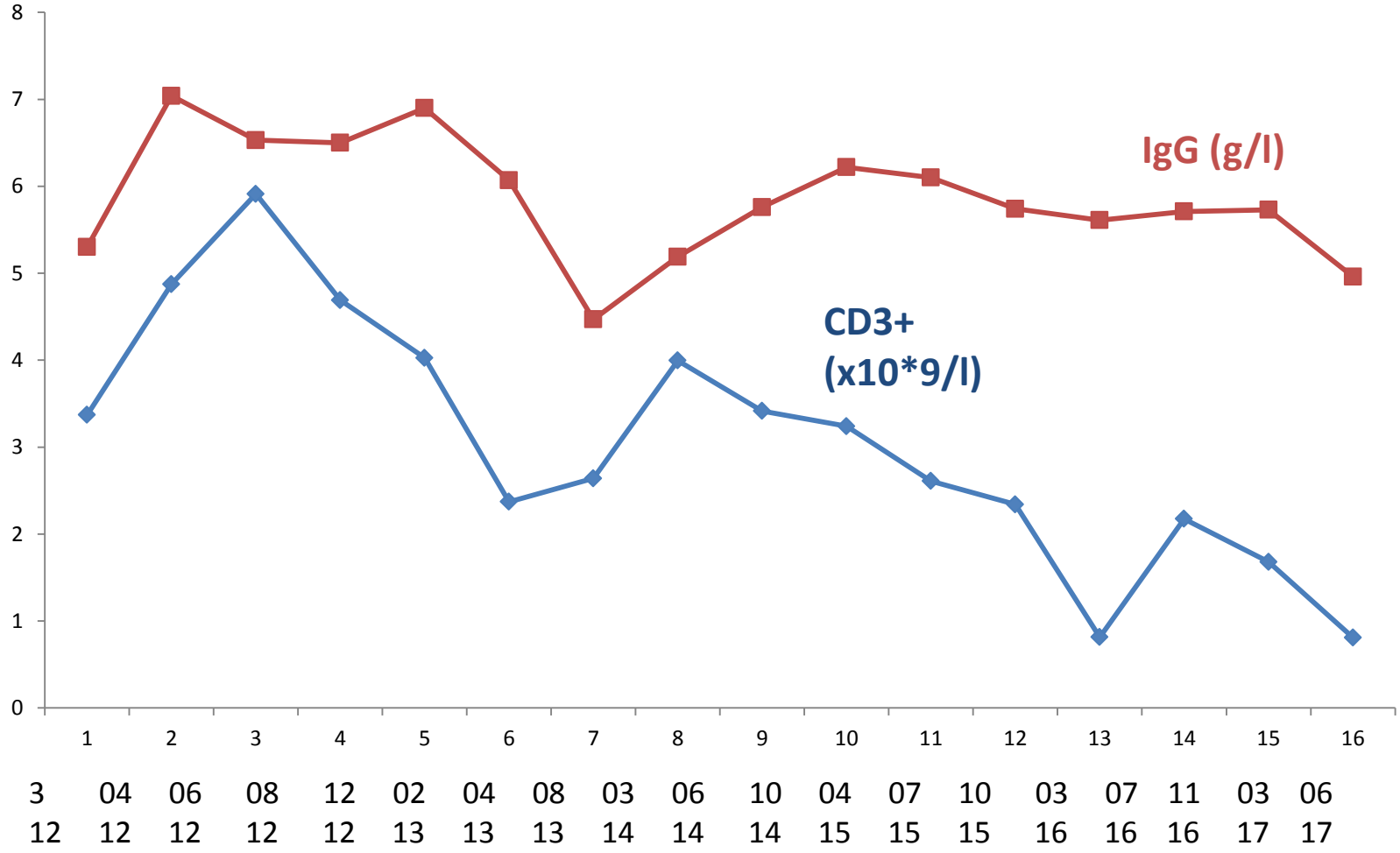
Pacient P


0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0
X10*9/l
CD3+
CD3+CD4+
CD3+CD8+
3 12
04 12
06 12
08 12
12 12
02 13
04 13
08 13
03 14
06 14
10 14
04 15
07 15
10 15
03 16
07 16
11 16
03 17
06 17
Měsíc
Rok

Pacient P


% CD45RA+ z CD4+
%
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
3 12
04 12
06 12
08 12
12 12
02 13
04 13
08 13
03 14
06 14
10 14
04 15
07 15
10 15
03 16
11 16
06 17

Pacient P


8
7
6
5
4
3
2
1
0
IgG (g/l)
CD3+
(x10*9/l)
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16
3 12
04 12
06 12
08 12
12 12
02 13
04 13
08 13
03 14
06 14
10 14
04 15
07 15
10 15
03 16
07 16
11 16
03 17
06 17

Pacient P

- Snižující se hladiny leukocytů a lymfocytů

  → snižující se počty T-lymfocytů

  - Klesá počet CD45RA+ CD4+ T lymfocytů
  - Pokles IgG

Pacient P – 7 let

RA: neg.
NO: perinatální sepse, anemie, leukopenie
6M absces bradavky **42. měsíc nekrotizující ulcerativní stomatitida**
18M susp.leukoklastická vaskulitis **32. měsíc vyloučena suspektní**
26M **bilaterální otitis media.41. měsíc nekrotizující aftosní stomatitis**

Laboratoř:

- **Undulující cytopenie trom, neu**
- **Progredující leukopenie a lymfocytopenie**
- **Těžká CD3+, CD4+, CD8+ T a CD16/56+ NK lymfocytopenie**
- **HIV1 a HIV 2 neg.**
- **Absence TREC KREC nízké**

Genetické vyšetření: **WASP, XIAP/BIRC4, IL2RG, gene GATA2, RAG ½ neg.**
NGS neg

Závěr: ICL
Absence závažných a nebo oportunních infektů
Růst na 25 percentilu
HLA typizace

Idiopatická CD4+ lymfocytopenie (ILC)

- Heterogenní syndrom (1992)
- Spojena s CD3+ CD8 + CD19+ nebo CD16/56+ lymfocytopenií

Diagnostiká kriteria

- **CD4+ <300 mm 3 nebo <20 % z celkového počtu T buněk prokázáno minimálně dvakrát v odstupu dvou týdnů**

- **HIV-1 HIV-2 HTLV** seronegativita

Absence

- **jiné primární imunodeficience**
- **terapie** vedoucí ke snížení CD4+
- **onemocnění spojeného s depresí CD4+**

Příčina ILC

Snížená produkce CD4+

- LCT – gen Unc, IKT
- XMEN- gen MGT1

Zvýšená destrukce CD4+

- Fas FasL

Porucha migrace CD4+

- „traficking“ (WHIM - CXCL12/CXCR4)

Poruchy vývoje CD4+

- RAG , JAK3, MHCII (CIITA, RFXANK,RFX5 nebo RFXAP)

ICL klinická manifestace

- **Oportunní infekce**
  cryptokoková etiololgie, atypické mykobakteriosy,
  JC progesivní multifokální leukoencefalopatie

- **Malignity** – EBV, HPV

- **Autoimunní onemocnění**

- **Asymptomatický průběh**

- **Kombinace příznaků**

Diagnostika

vyšetření

- Imunologické - DD prim a sek. imunodeficit
- Hematologické x onkologické
- Revmatologické - DD: SS,SLE, sarkoidosa
- Genetické - známé mutace, NGS

Prognosa – predikční hodnoty ICL

Opportunní infekce - Autoimunity - Malignity - Asympto matické

Infekce

- Nízký počet NK buněk

Autoimunita

- Zvýšený počet CD8+ buněk

Prediktor fatální komplikace

T CD4 +< 150 mm3 NK
CD16+/56+ <100mm3

Idiopatická CD4+ T lymfocytopenie ICL

ICL dg kriteria

- CD4+ <300 cells/ul nebo <20 % z celkového počtu T lymfocytů prokázané min 2x za 6 týdnů
- Absence terapie vedoucí k CD4+ T lymfocytopenii
- HIV-1 HIV-2 HTVL seronegativit
- Vyloučení definovaného imunodeficitu

ICL manifestace

- asymptomatické
- oportunní infekce
- malignity
- autoimunní onemocnění

mutace

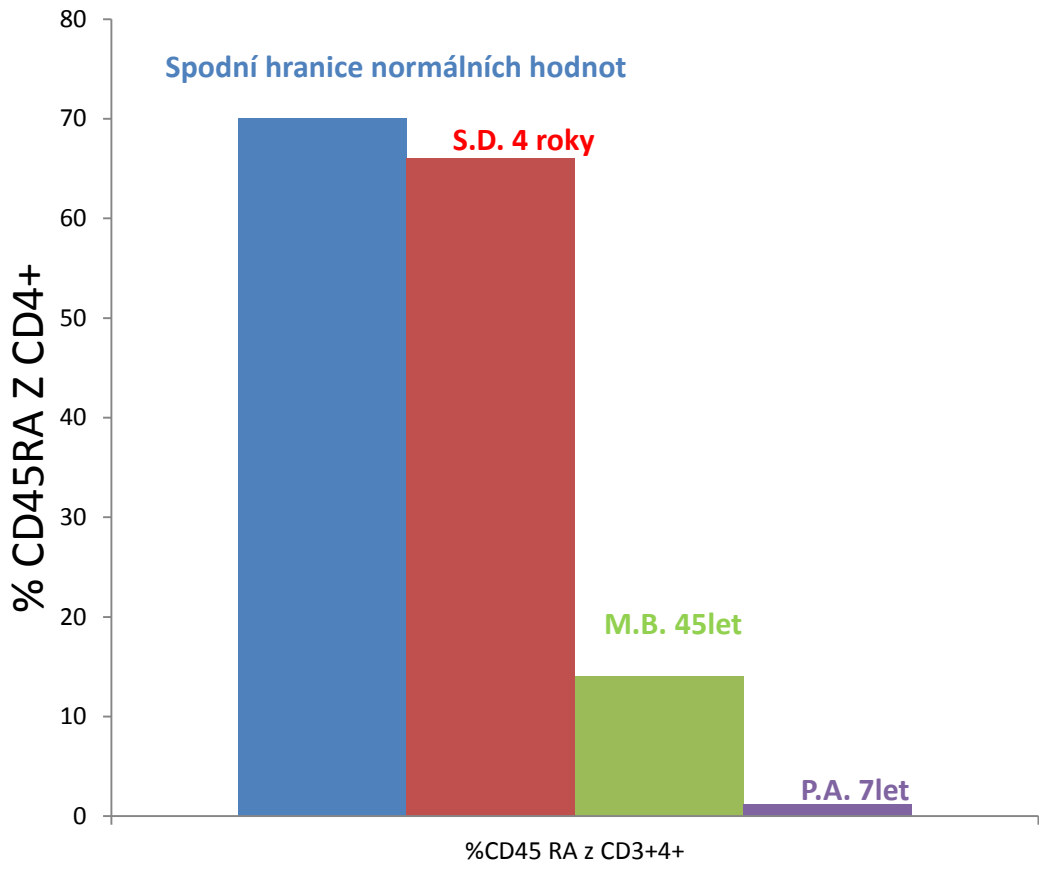
- UNC, LCK MGT1 (XMEN sy)
- CXCL12/CXCR4 (WHIM sy)
- MHCII – CIITA RFXANK RFX5 RFXAP
- RAG, JAK3

Závěr

Absence kliniky při positivním laboratoním nálezu
X
Absence lab. nálezu při přítomné klinice :

- Komunikace mezi klinikou a laboratoří
- Komplexní DD
- Observace vývoje
kliniky a lab.nálezu v čase
- Dispenzarizace pacienta

Snížené hladiny CD4+ mají své důsledky…..



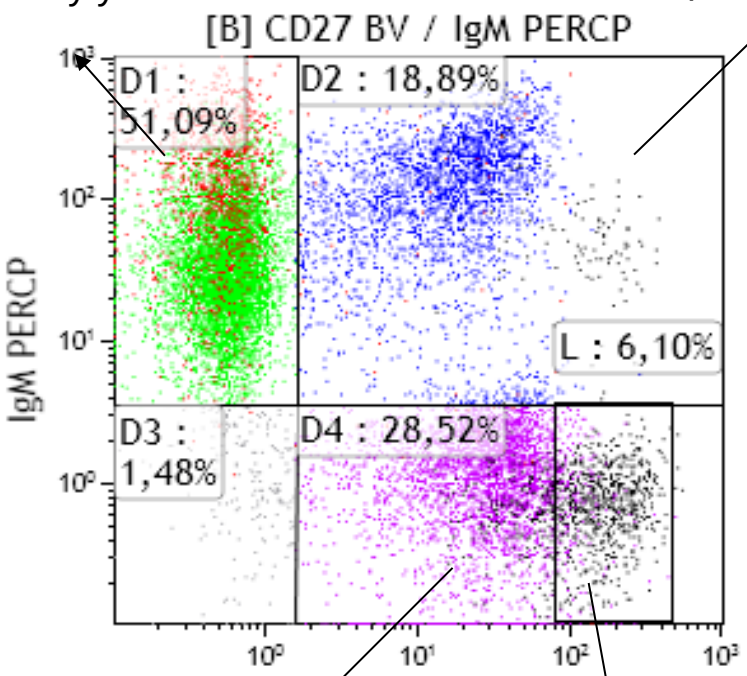
- U všech prezentovaných pacientů zjištěny nízké hladiny %CD45RA+ z CD3+CD4+ T-lymfocytů. které neodpovídají klinickému stavu pacienta….

B-lymfocytární subpopulace

Zdravá kontrola

Naivní folikulární B-lymfocyty

IgM paměťové/marginální zóna



Izotypově přepnuté paměť. B-lymfocyty

Plasmablasty

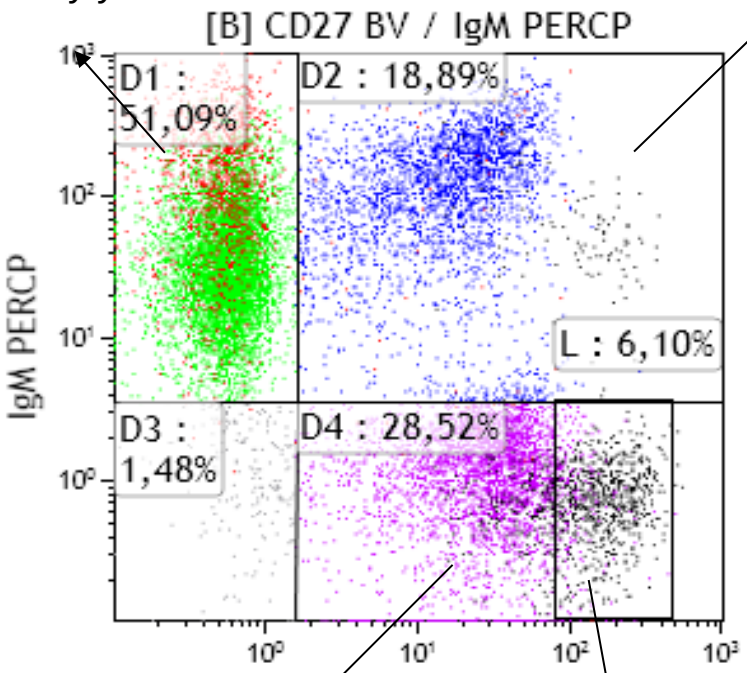
Vývoj B-lymfocytárních subpopulací odráží případné změny v diferenciaci či aktivaci CD4+ T-lymfocytů.

Pacient A. nar. 09.2016. výsledky cytometrického měření B-lym. sub.

Zdravá kontrola

Naivní folikulární B-lymfocyty

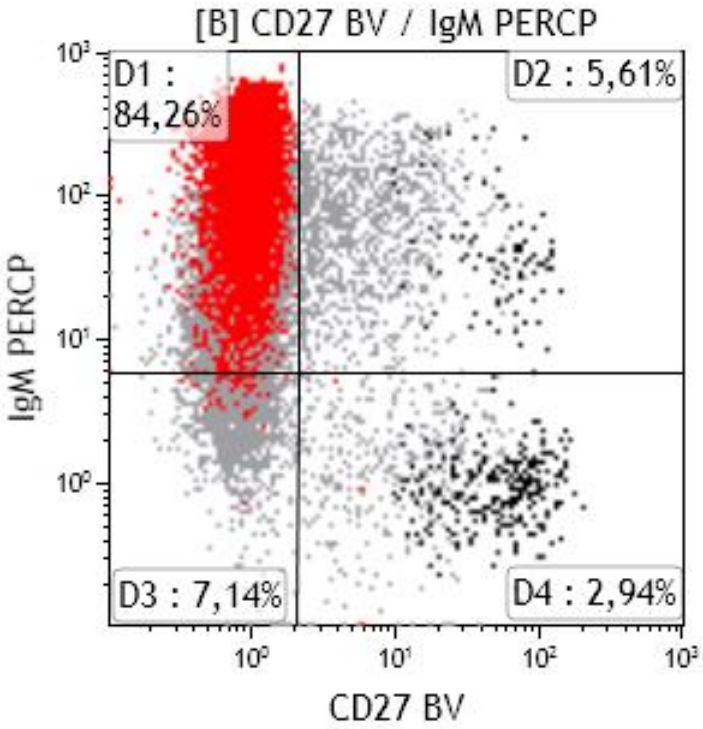
IgM paměťové/marginální zóna



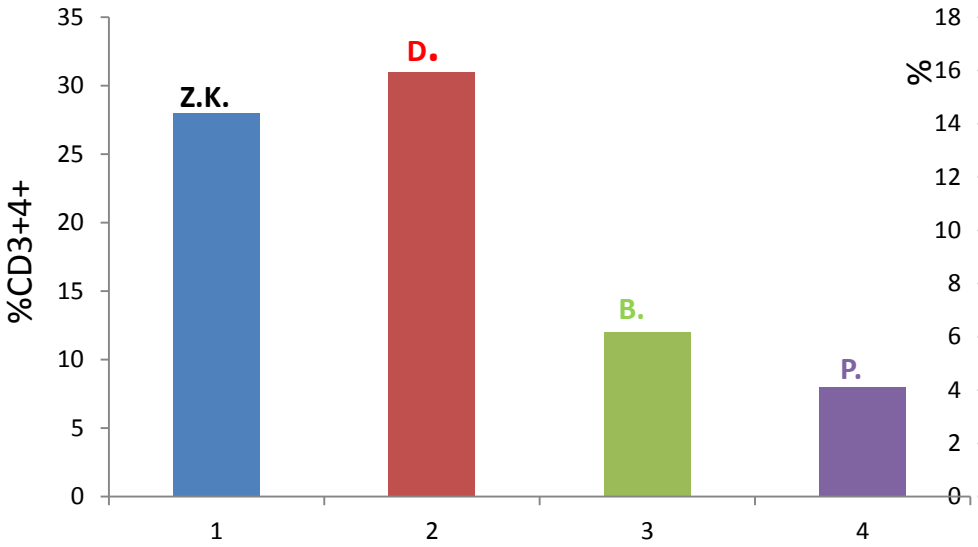
Izotypově přepnuté paměť. B-lymfocyty

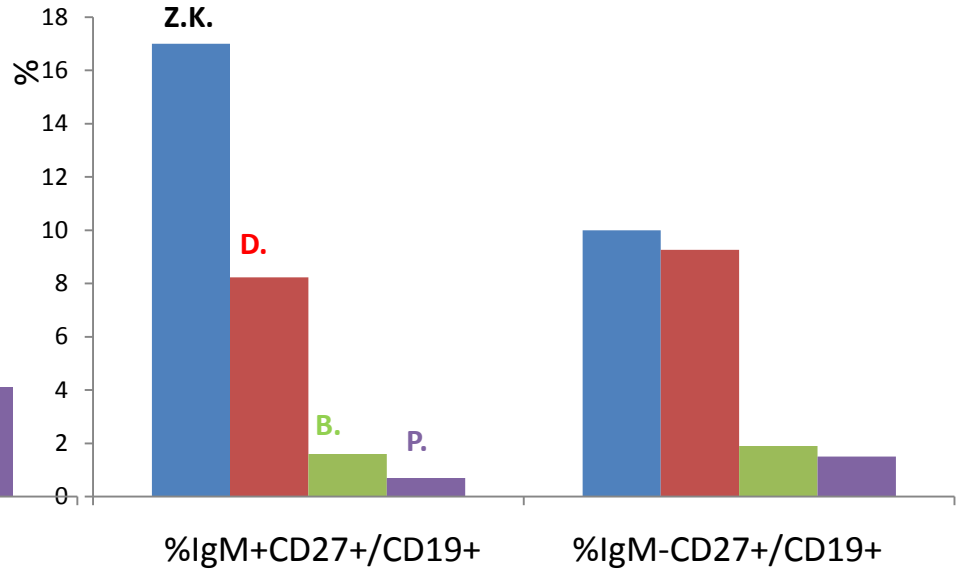
Plasmablasty

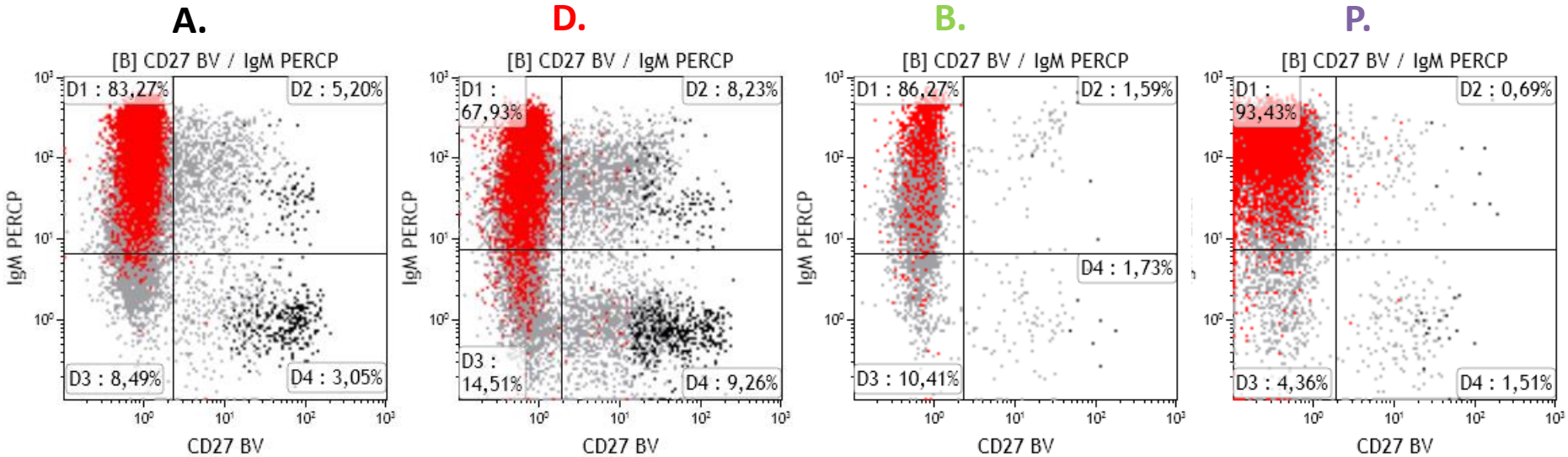
Patient A.



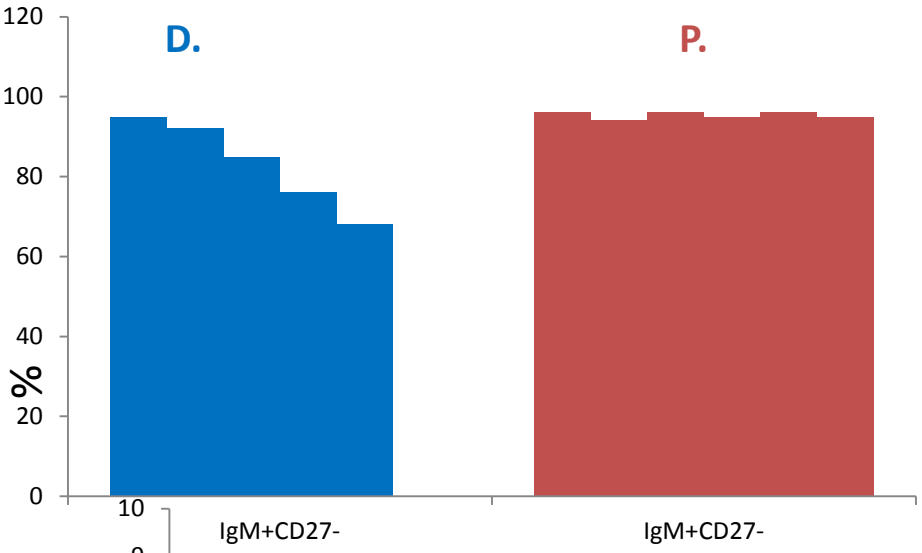
Možné důsledky chybění CD4+ T-lymfocytů

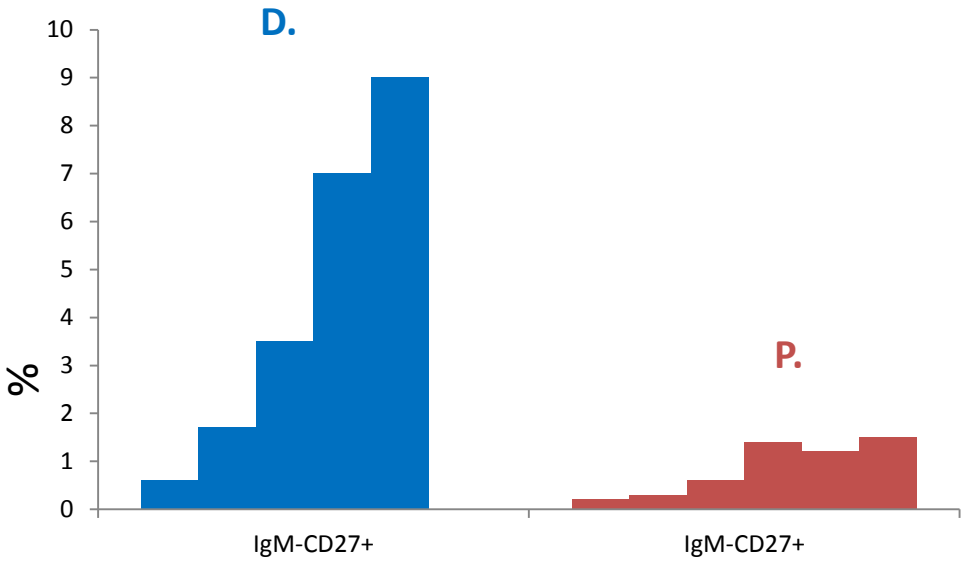


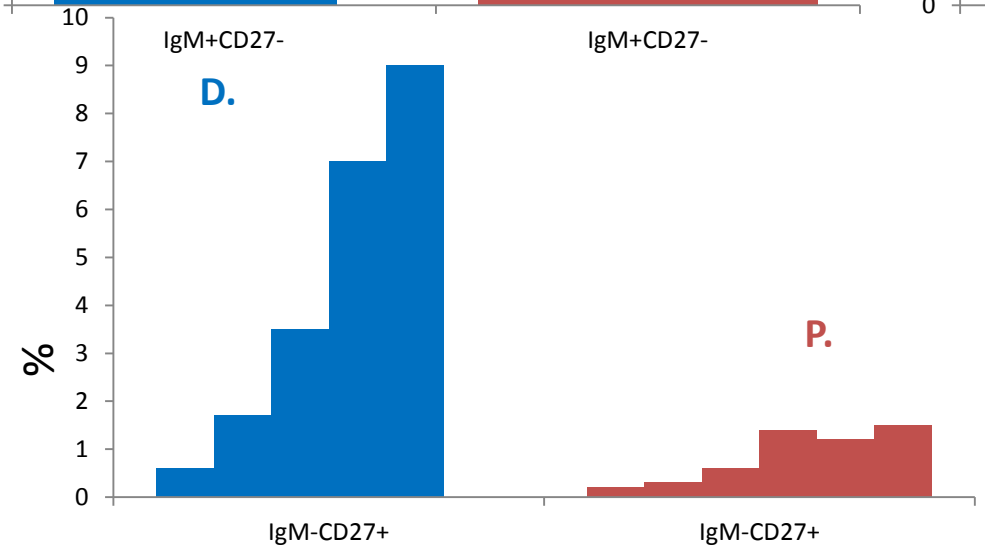




Srovnání vývoje B-lymfocytů v čase. pacienti D a P



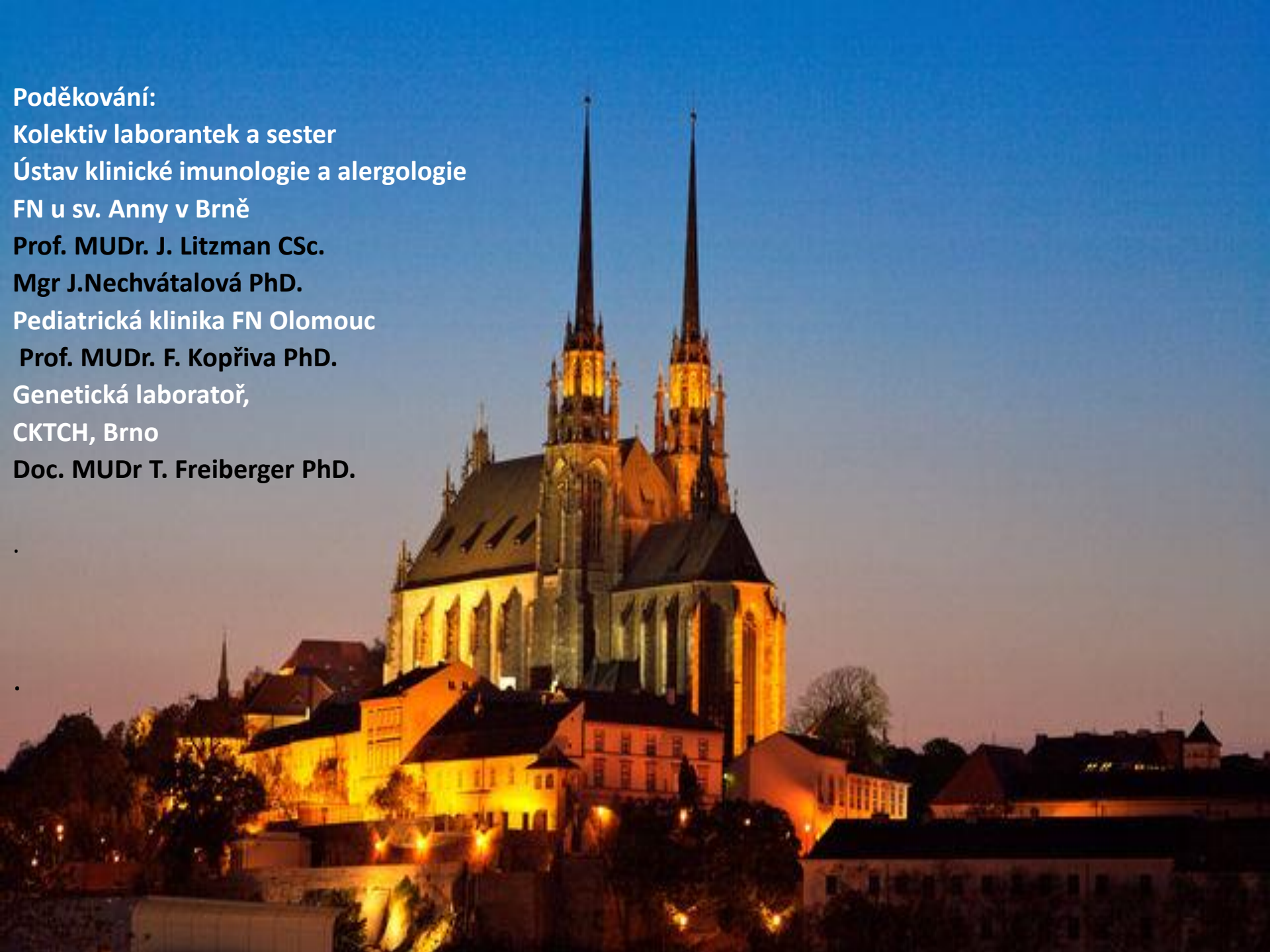




Závěr

- Vývoj B-lymfocytárních subpopulací odráží případné změny v diferenciaci či aktivaci CD4+ T-lymfocytů.
- Vývoj CD4+T-lymfocytárních subpopulací odráží případné změny v diferenciaci či aktivaci B-lymfocytů.

Poděkování:
Kolektiv laborantek a sester
Ústav klinické imunologie a alergologie
FN u sv. Anny v Brně
Prof. MUDr. J. Litzman CSc.
Mgr J.Nechvátalová PhD.
Pediatrická klinika FN Olomouc
Prof. MUDr. F. Kopřiva PhD.
Genetická laboratoř,
CKTCH, Brno
Doc. MUDr T. Freiberger PhD.

.

.