

Význam fenotypizace B lymfocytů u pacientů s protilátkovými imunodeficity

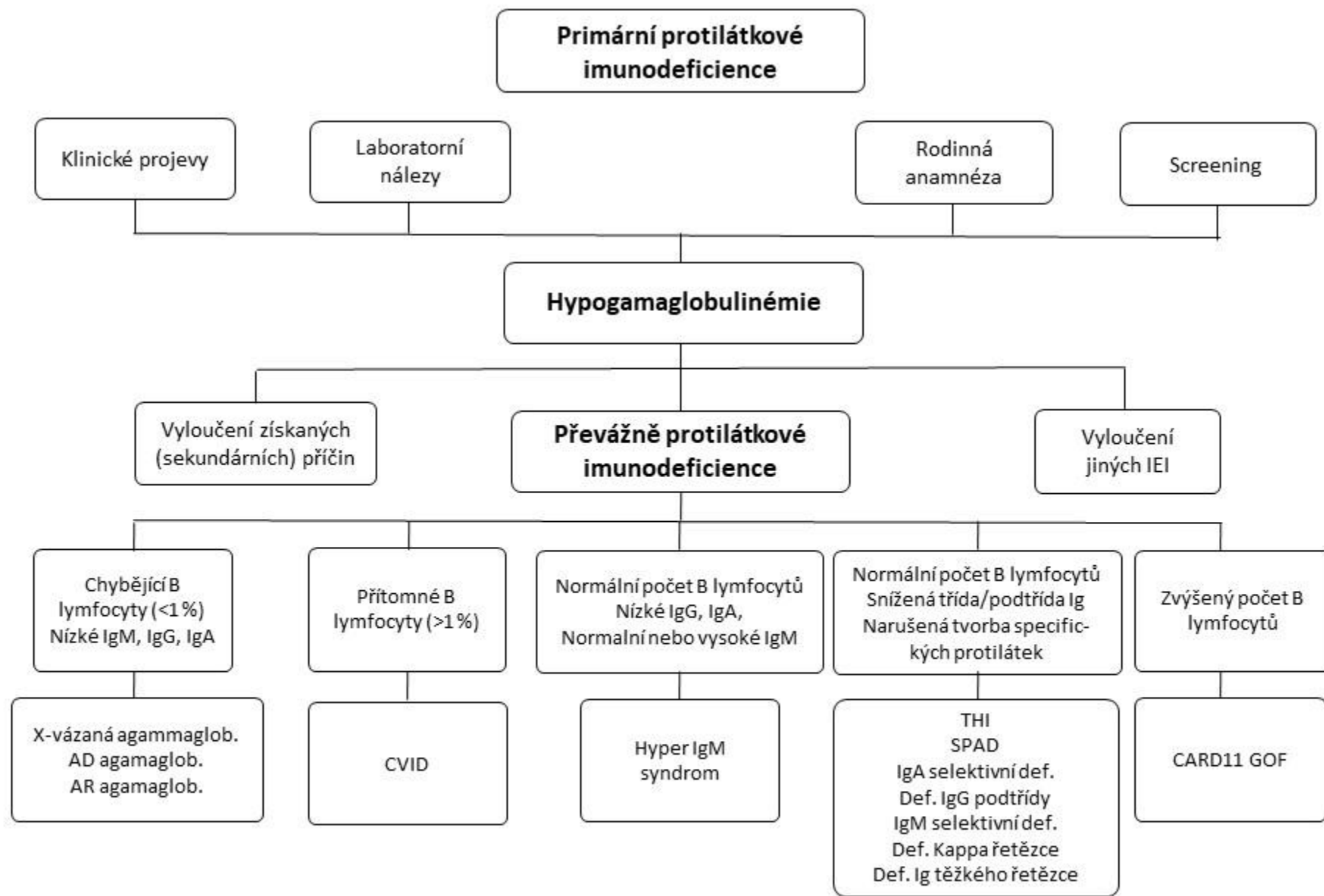


Doc. MUDr. Tomáš Milota, Ph.D.

**Ústav imunologie,
2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy
a Fakultní nemocnice v Motole**



Databáze	ESID registr	Databáze PID ČR	Registr ÚI 2.LF UK a FNM
Celkový počet center	126	19	1
Celkový počet pacientů	19355	1036	513
1) Deficience s převahou poruchy tvorby protilátek	56,7% (10966 pacientů)	51,7% (536)	34,1% (175)
2) Deficience s převahou poruchy T lymfocytů	7,5% (1445 pacientů)	3,4% (36)	9,6% (49)
3) Poruchy fagocytózy a mechanismů vrozené imunity	9,7% (1882 pacientů)	2,6% (27)	6,2% (32)
4) Poruchy komplementu	4,9% (946 pacientů)	18,4% (191)	13,6% (70)
5) Ostatní dobře definované syndromy	13,9% (2693 pacientů)	17,9% (185)	28,7% (147)
6) Syndromy spojené s dysregulací imunity	3,9% (753 pacientů)	1,1% (11)	3,5% (18)
7) Autoinflamatorní syndromy	2,1% (398 pacientů)	2,0% (21)	4,3% (22)



Primární imunodeficeience s převahou poruchy tvorby protilátek

- stanovení sérových koncentrací IgM, IgG, IgA
- vyloučení sekundární příčiny (polékové, ztráty ledvinami/GIT/kůží, malignity – CLL, myelom
- stanovení počtu B lymfocytů (CD19+ buněk)

A) Hypogammaglobulinémie

Absence B lymfocytů

- **X vázaná:** X vázaná agammaglobulinémie (*BTK*)
- **AR:** Deficience řetězce μ (*IGHM*), CD79A/B, BLNK, IGLL1 deficience
- **AD:** TCF3 deficience

B lymfocytů > 1%

- Běžný variabilní imunodeficit
- APDS1 (*PIK3CD GOF*)
- APDS2 (*PIK3R1 LOF*)
- CD19, CD20, CD21, CD81 deficience
- NFkB1/NFkB2 deficience
- TWEAK, TACI, BAFF-R deficience
- Ikaros deficience

B) Ostatní poruchy tvorby protilátek

- **Hyper IgM syndromy (atypické):** AID, UNG, MSH6 deficience
- **Izotypové:** selektivní IgA/IgM/IgG podtříd deficience
- **Funkční:** deficit specifických protilátek s normální hladinou IgG
- **Deficit s vysokým počtem B lymfocytů:** BENTA syndrom (*CARD11 GOF*)

Primární imunodeficiences postihující buněčnou i humorální imunitu

A) Těžké kombinované imunodeficiency (SCID)

T-B- SCID

■ **T-B-NK-:**

ADA deficiency

Retikulární dysgeneze (AK2)

■ **T-B- NK+:**

RAG1/2, DCLRE1C (*Artemis*), DNA LIG4,
CERNUNNOS (*NHEJ1*), DNA PKcs (*PRKDC*)
deficiency

T-B+ SCID

■ **T-B+NK-:**

γ chain deficiency (*IL2RG*),

JAK-3 deficiency

■ **T-B+ NK+:**

IL7R α deficiency (*IL7R*), CD3d, CD3e, CD247,
CD45 (*PTPRC*), Coronin-1A (*CORO1A*), FOXP1
deficiency

B) Kombinované imunodeficiency (CID) méně závažné než SCID

■ **Nízké CD4+ T lymfocyty:**

MHC II deficiency (*RFXANK*, *CIITA*, *RFX5*, *RFXAP*),
MAGT1, LCK, UNC119 deficiency

■ **Nízké CD8+ T lymfocyty:**

CD8A, ZAP-70 deficiency

MHC I deficiency (*TAP1*, *TAP2*, *TABP*, *B-2-M*)

■ **Nízké B lymfocyty:**

DOCK8, MST1 (*STK4*), IL-21, NIK (*MAP3K14*),
Moesin (*MSN*) deficiency

■ **Nízké hladiny Ig:**

DOCK2, CARD 11 (*CARD11 LOF*), BCL-10, IKBKB,
ICOS, TFRC, RELB, CD40/CD40L (*CD154*)
deficiency

■ **Normální hladiny Ig:**

CD3g, TCR α (TRAC), BCL11B, OX40, LAT
deficiency

■ **Porucha tvorby specifických protilátek**

IL-21R, MALT1 deficiency

Agammaglobulinemie (absence B lymfocytů)

*BTK, IGHM, IGLL1, CD79A,
CD79B, BLNK, PIK3CD,
PIK3R1, TCF3 SLC39A7,
TOP2B, FNIP1, SPI1, PAX5*

CVID fenotyp (nízké nebo normální B lymfocyty)

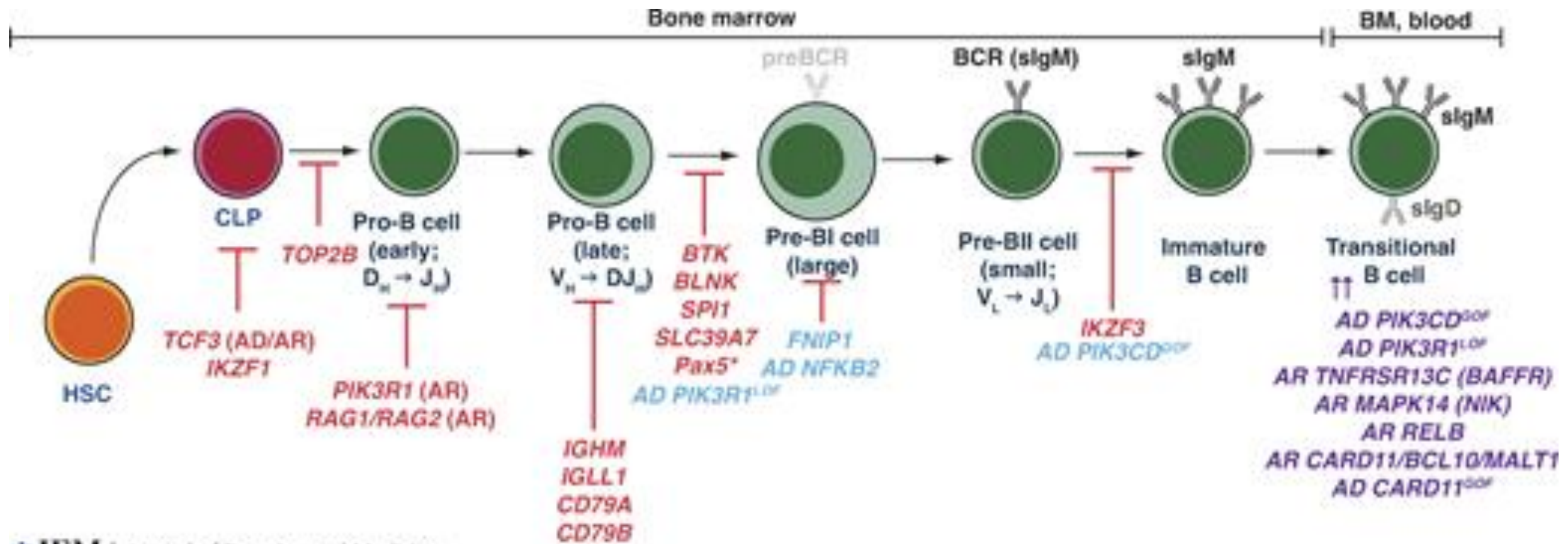
*PIK3CD, PIK3R1, PTEN,
CD19, CD81,
MS4A1(CD20), CR2
(CD21), TNFRSF13B,
TNFRSF13C,
TNFSF12, TRNT1,
NFKB1, NFKB2, IKZF1,
IRF2BP2, ATP6AP1,
ARHGEF1, SH3KBP1,
SEC61A1, RAC2, MOGS,
PIK3CG, POU2AF1,
KARS, unknown defect*

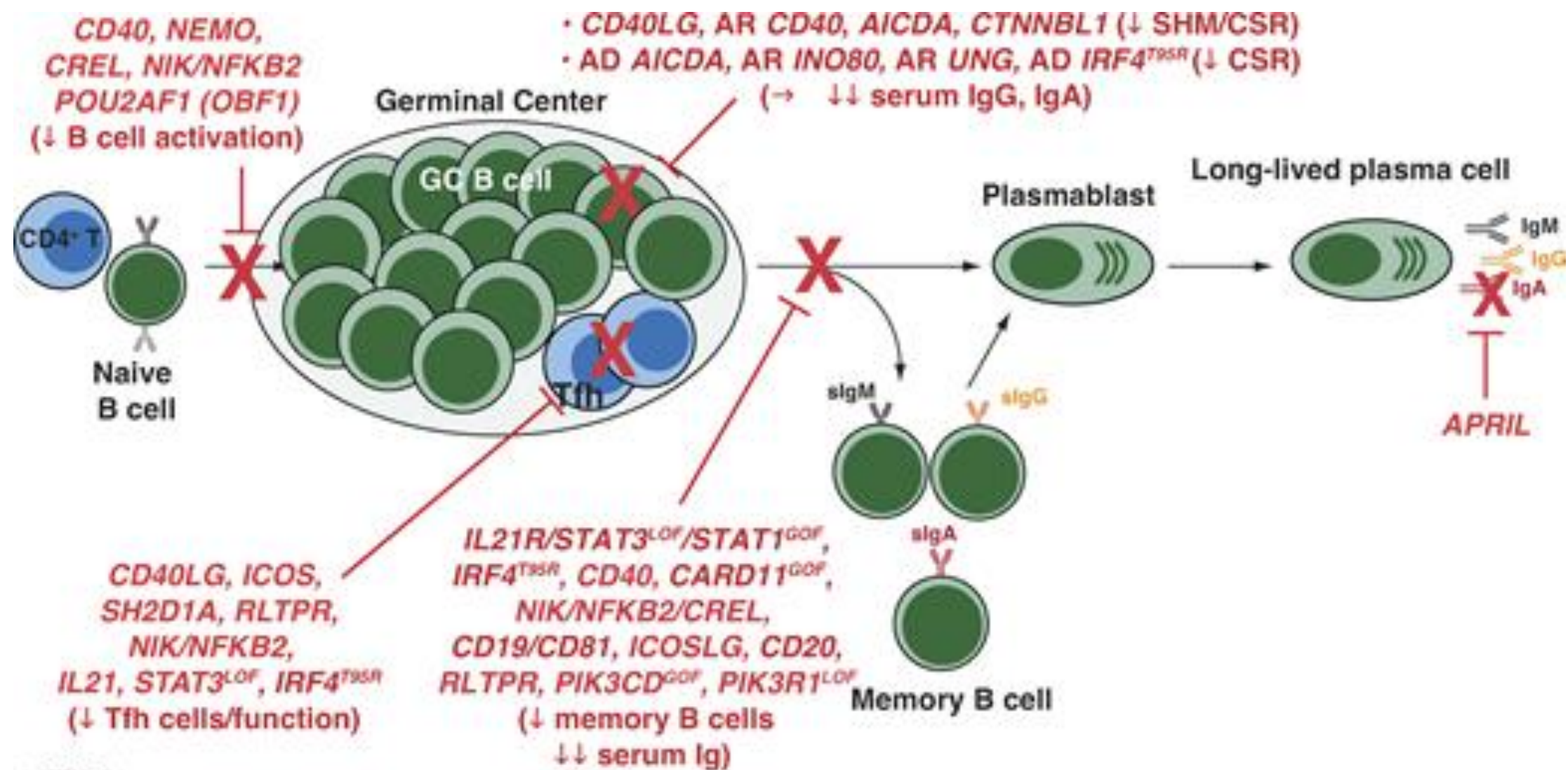
Hyper IgM fenotyp (normální B lymfocyty)

*AICDA, UNG, INO80,
MSH6, CTNNBL1,
TNFSF13*

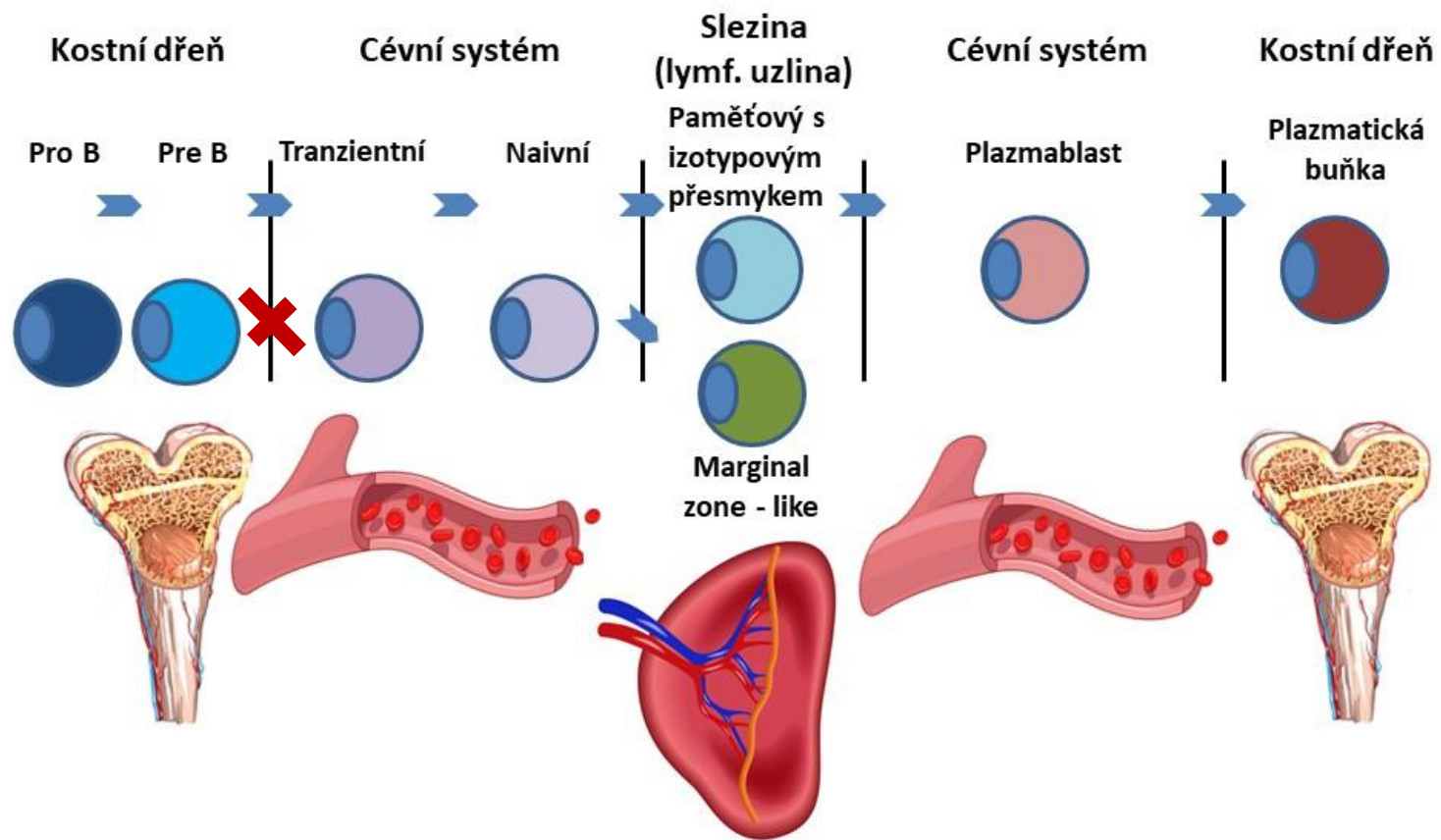
Selektivní deficit / funkční porucha (normální B lymfocyty)

*IGKC, CARD11,
unknown defect*

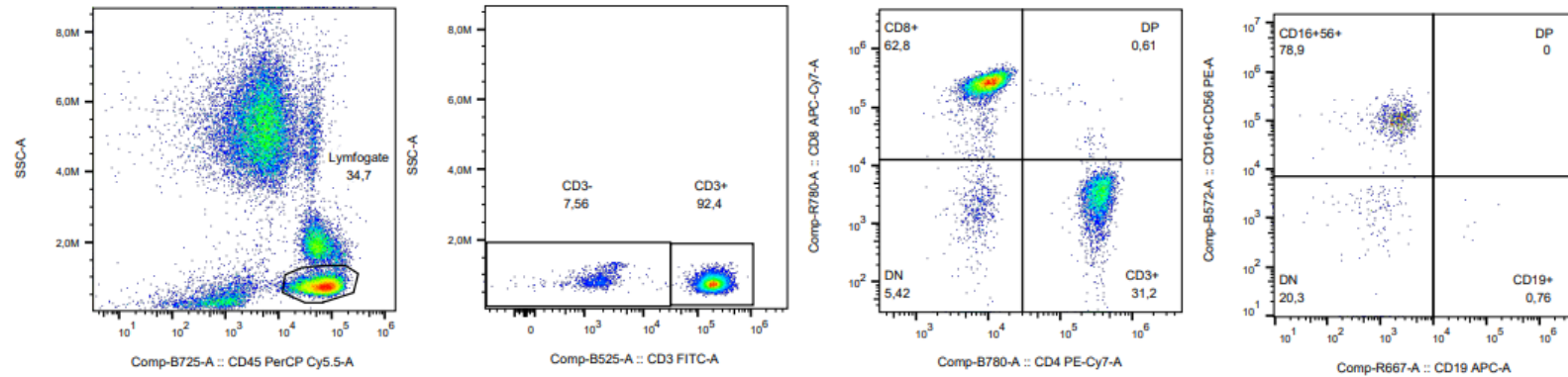




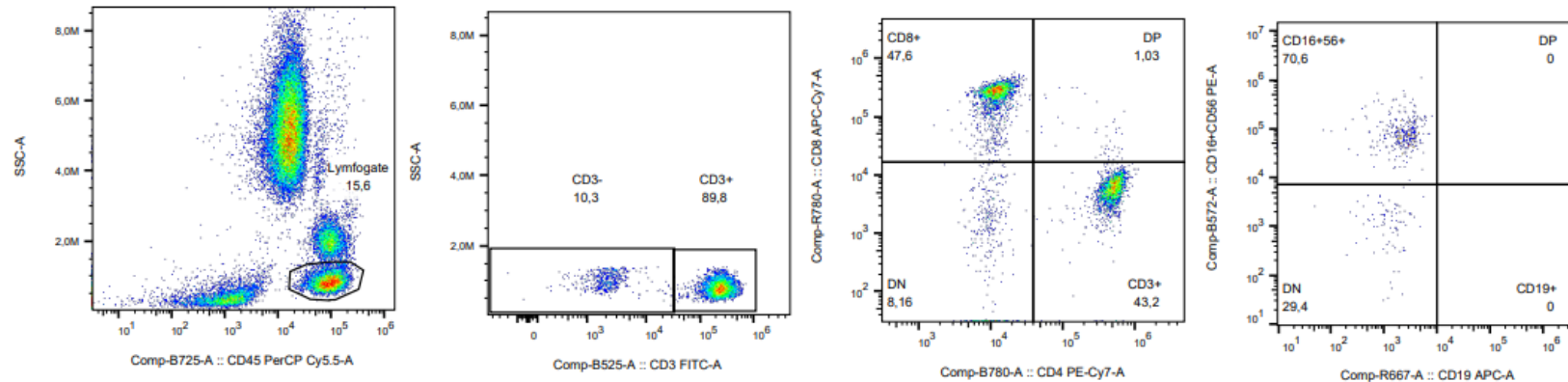
Subpopulace B lymfocytů	Charakteristika	Rel. počet (%)	Abs. počet (E9/L)
B lymfocyty (celkové)	CD19+	6 – 22	0,1 – 0,53
Naivní	CD19+ IgD+ CD27-	48,4 – 79,7	0,06 – 0,47
Tranzientní	CD19+ IgD+ IgM+ CD24+ CD38+ CD27-	0,9 – 5,7	0 – 0,03
Paměťové s izotypovým přesmykem	CD19+ CD27+ IgD-	8,3 – 27,8	0,02 – 0,09
Plazmablasty	CD19+ CD27+ CD38+ IgM- CD24-	0,4 – 2,4	0 – 0,01
Marginal zone – like	CD19+ IgD+ CD27+	7 – 23,8	0,01 – 0,08
CD21low	CD19+ CD21low CD38-	1,6 – 10	0,01 – 0,02



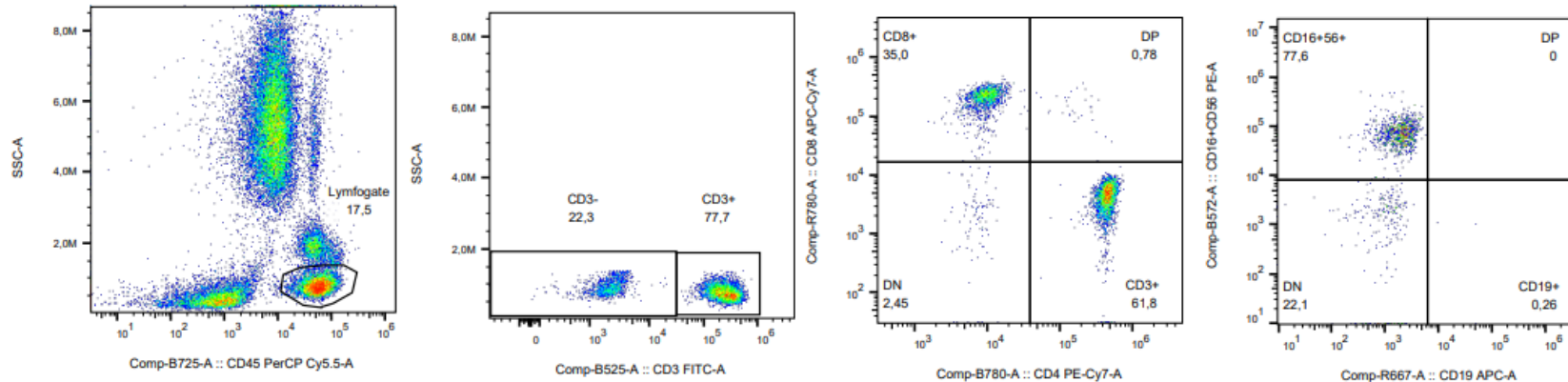
Agammaglobulinemie



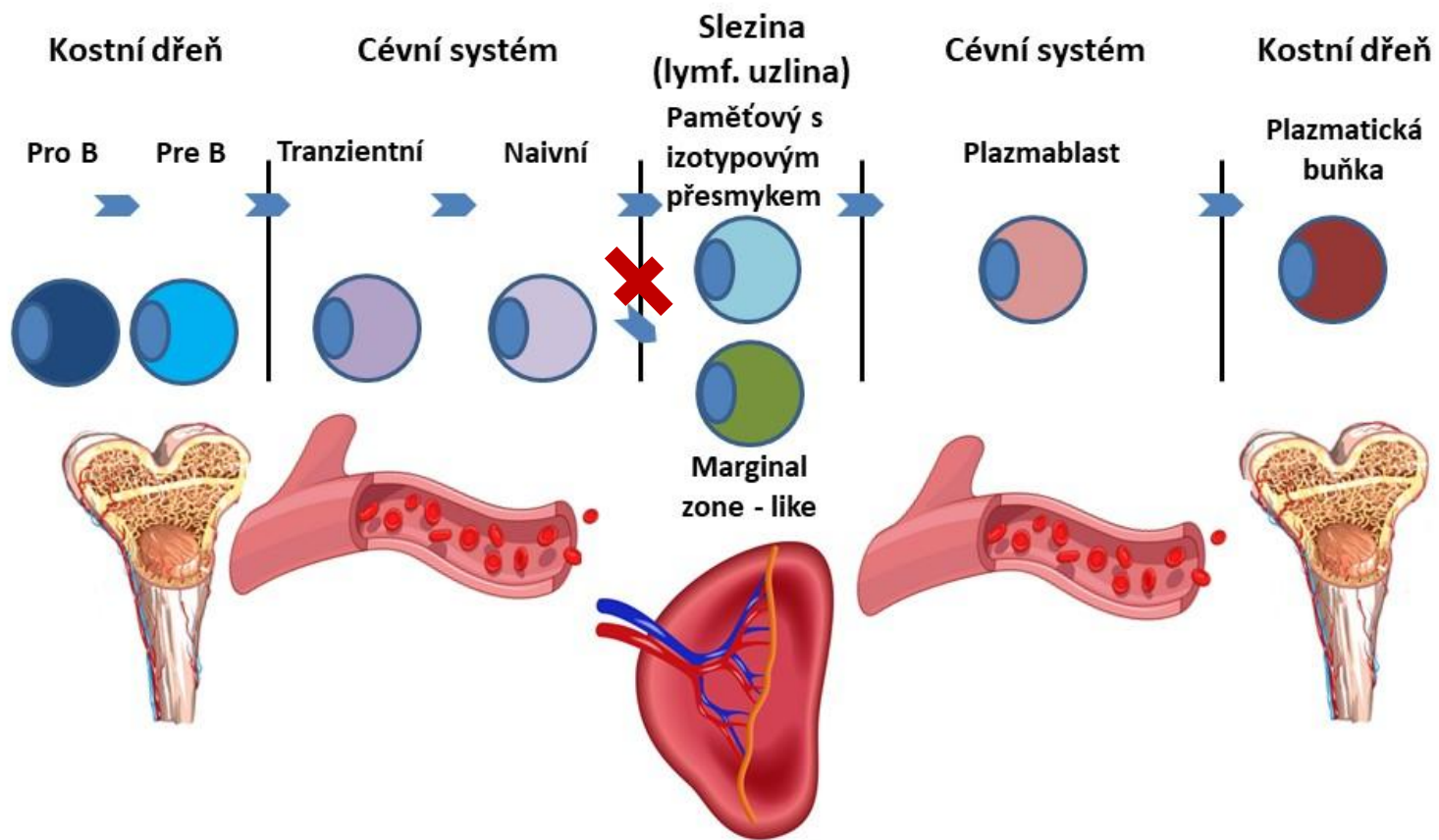
**Anti-CD20
B-depleční
terapie**



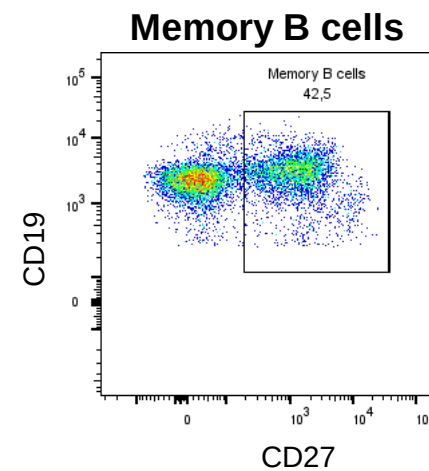
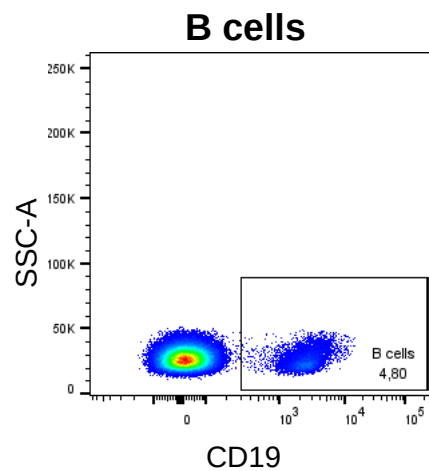
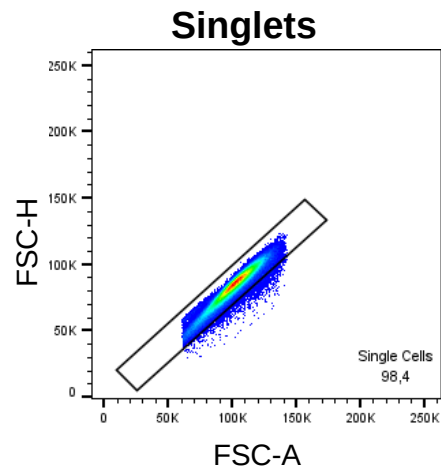
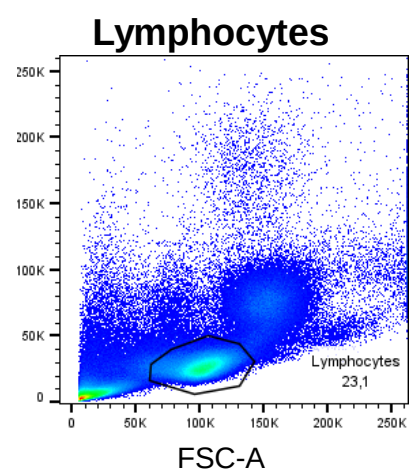
**Goodův
syndrom**



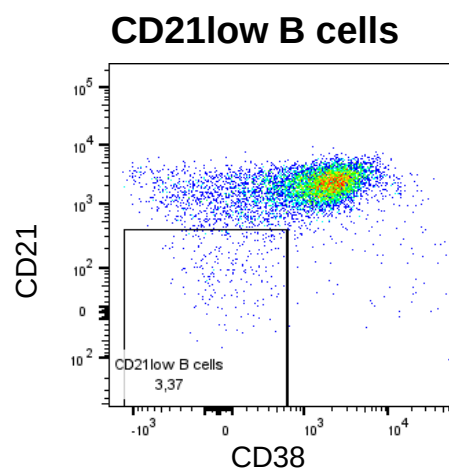
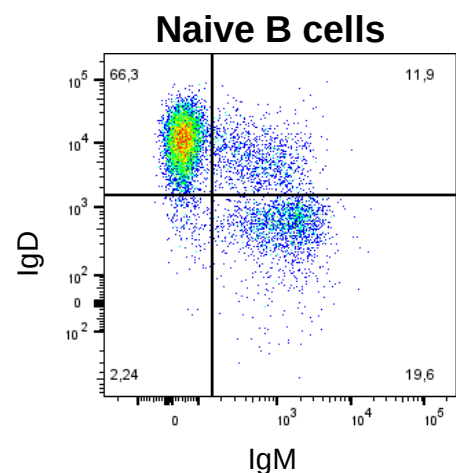
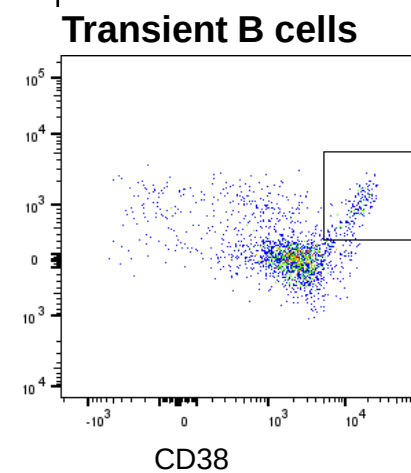
**X-vazaná
(Brutonova)
hypogammaglobulinémie**



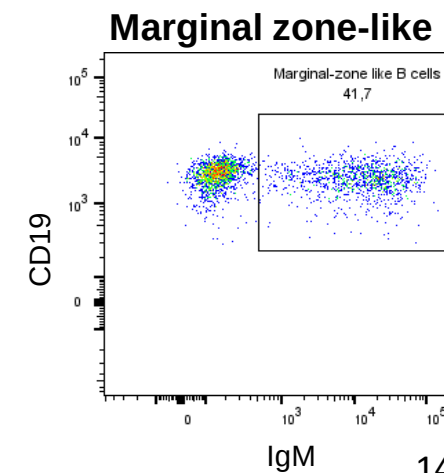
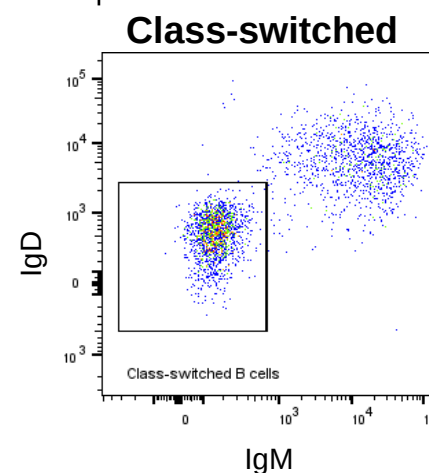
**Běžný variabilní
imunodeficit**



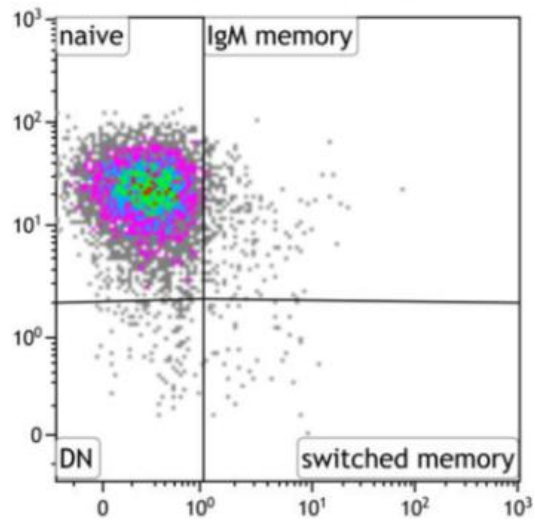
From CD19+ B cells



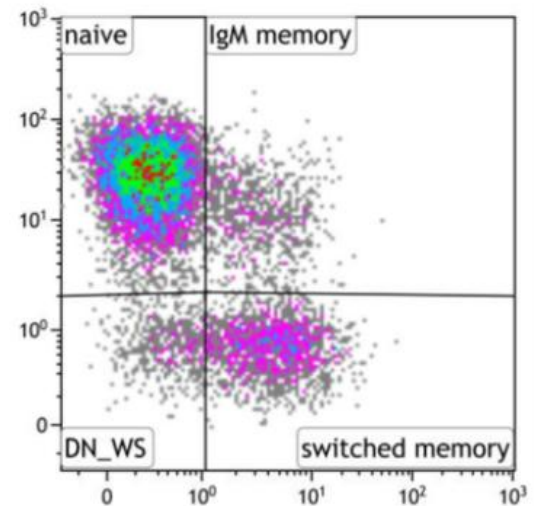
From memory B cells



CVID

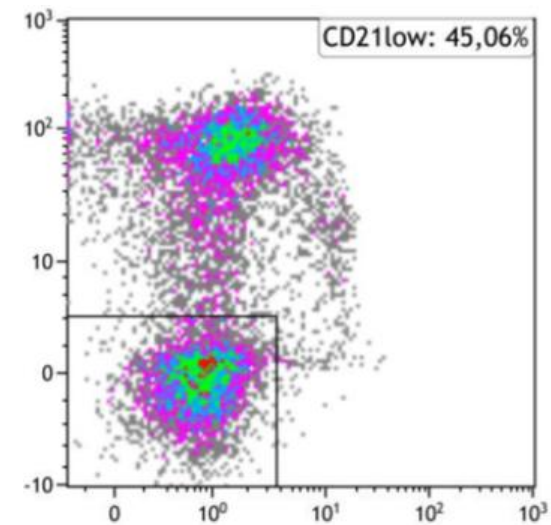


HC

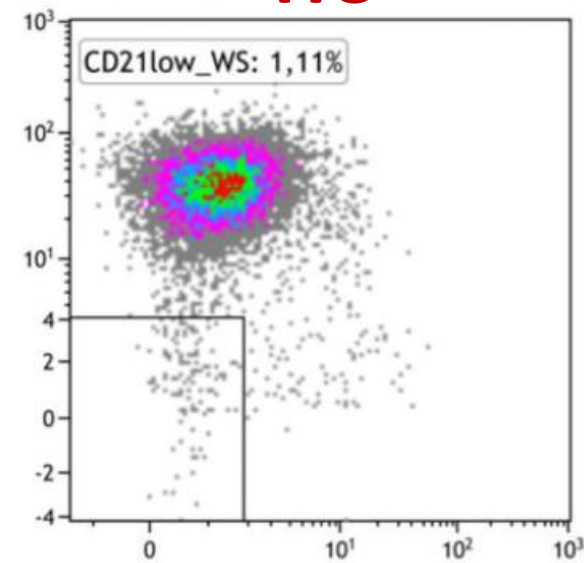


CD27

CVID



HC



CD38

ESID diagnostická kritéria

Klinické kritérium (alespoň 1 z následujících)

- zvýšená vnímavost k infekcím
- autoimunitní komplikace
- granulomatózní projevy
- nevysvětlená lymfoproliferace
- výskyt protilátkového deficitu v rodině

Hypogamaglobulinémie

- významné snížení (<2SD pro daný věk) sérové hladiny IgG a IgA (měřeno alespoň 2 x)

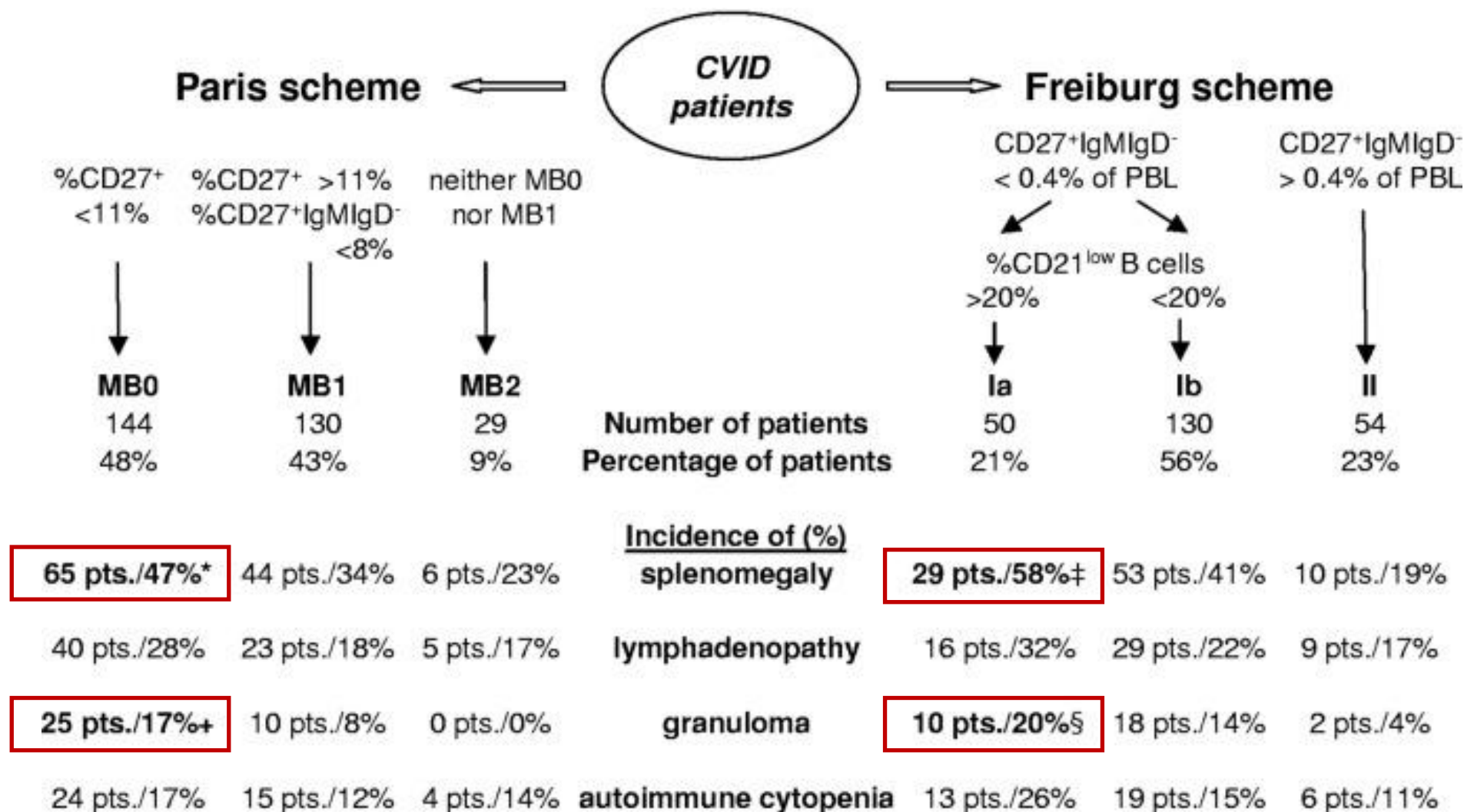
Narušená tvorba specifických protilátek (alespoň 1 z následujících)

- nedostatečná odpověď na vakcinaci
- absence isohemaglutininů
- **snížený počet paměťových B lymfocytů po izotypovém přesmyku (<70 % pro daný věk)**

Vyloučení sekundární příčiny

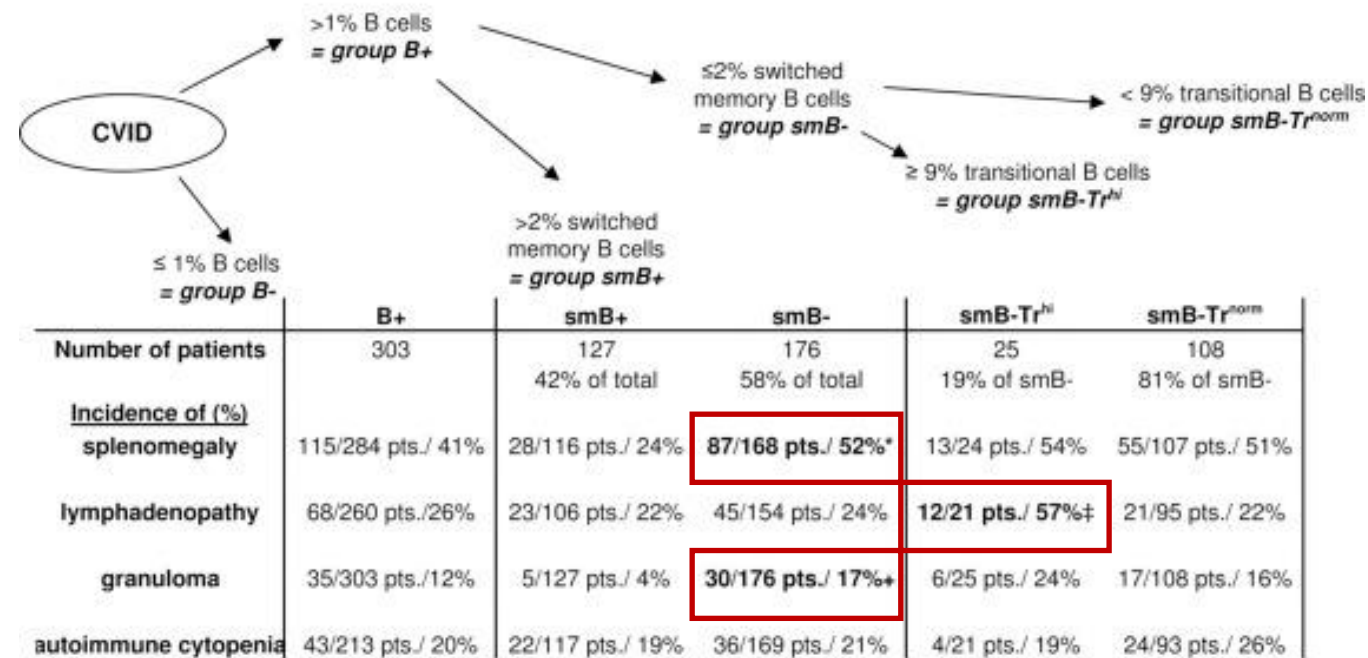
Definitivní diagnóza stanoveno po 4. roce života

Vyloučení T buněčného deficitu

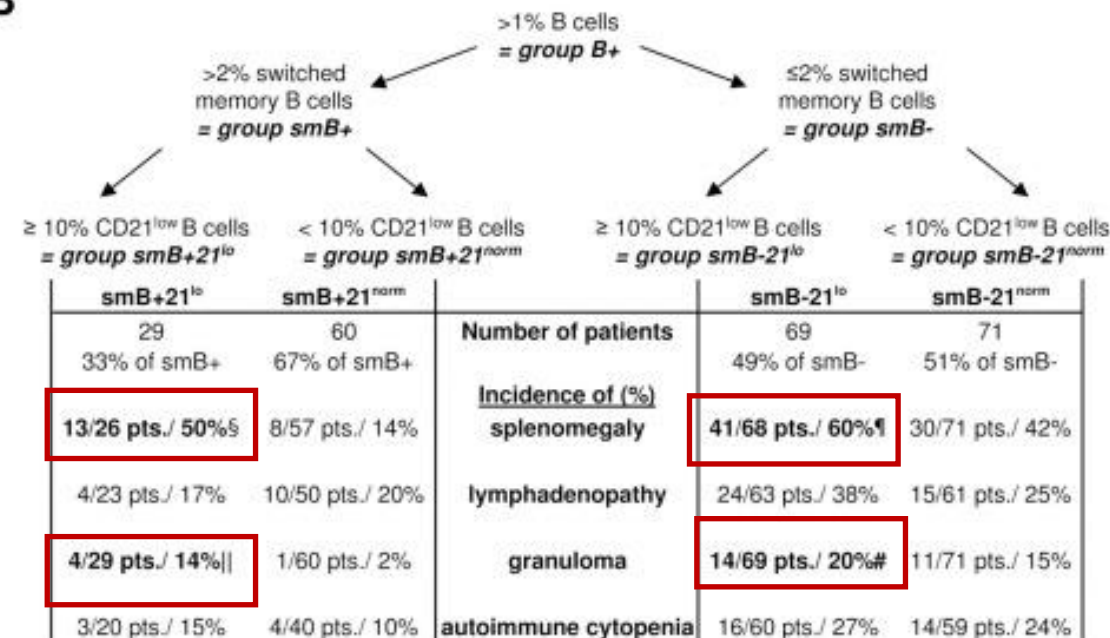


A

European consensus classification for CVID: EUROclass

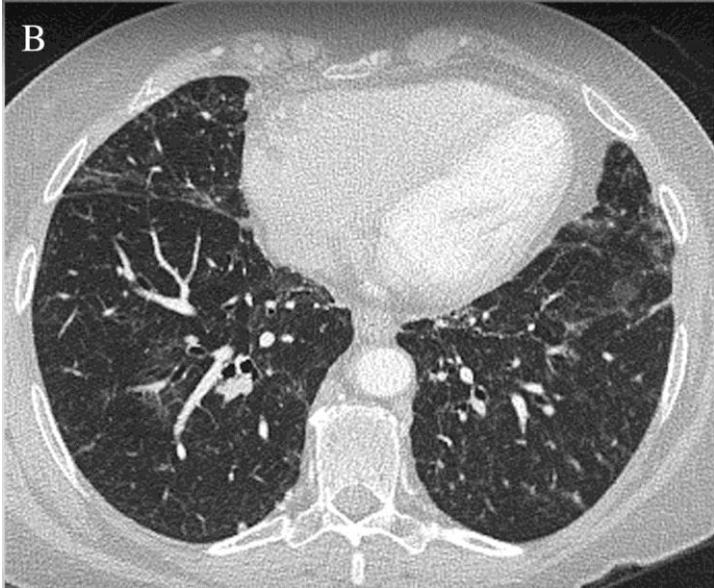
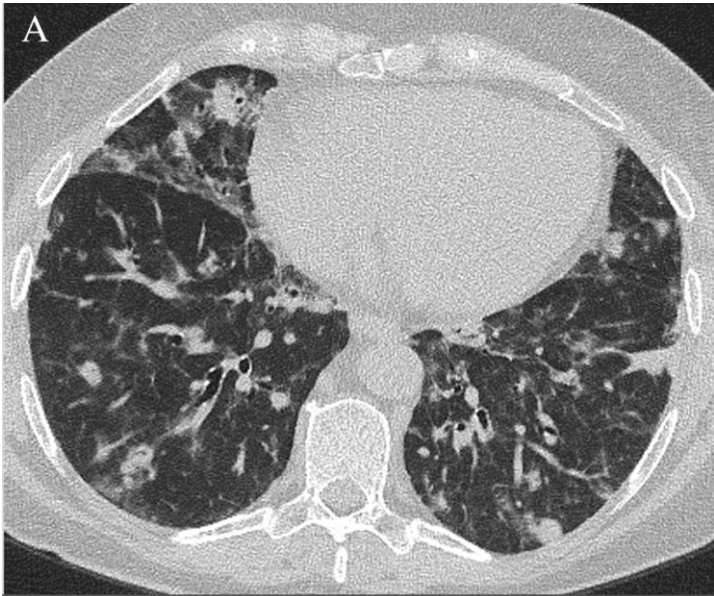


B



Granulomatózní lymfocytární intersticiální plicní nemoc (GLILD)

Cinetto F, Scarpa R, Carrabba M, Firinu D, Lougaris V, Buso H, et al. Granulomatous Lymphocytic Interstitial Lung Disease (GLILD) in Common Variable Immunodeficiency (CVID): A Multicenter Retrospective Study of Patients From Italian PID Referral Centers. *Front Immunol* [Internet]. 2021 Mar 10;12.



B Lymphocytes subsets.

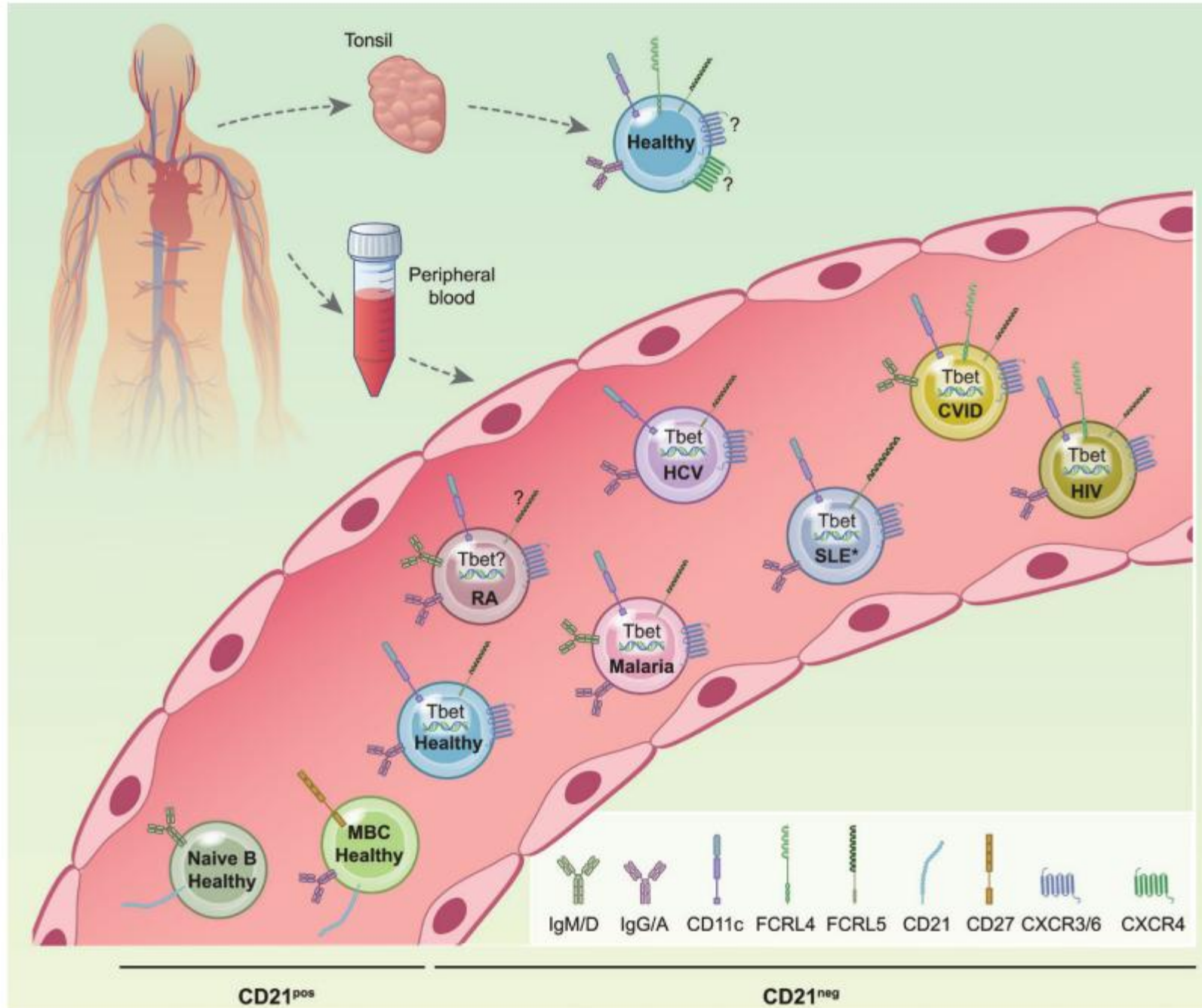
	Controls <i>n</i> = 125	GLILD <i>n</i> = 47	uILD <i>n</i> = 26	<i>p</i> value	<i>p</i> value	<i>p</i> value
	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	(GLILD vs. ctrls)	(uILD vs. GLILD)	(uILD vs. ctrls)
Lymphocytes %	29.0 (22.3–37.6)	27.8 (21.8–39.4)	29.0 (26.0–35.0)	0.87	0.54	0.93
Lymphocytes count	2.05 (1.4–2.6)	1.54 (0.99–2.57)	1.87 (1.10–2.30)	0.02	0.67	0.44
CD19+ B cells (% of lymphocytes)	7.0 (3.0–12.6)	6.0 (3.0–10.0)	4.0 (2.0–11.0)	0.91	0.17	0.32
Naïve (% of B cells)	72 (56.6–86.0)	81.2 (54.2–88.2)	75.9 (52.0–81.2)	0.48	0.10	0.63
Switched memory (% of B cells)	2.5 (1.0–6.6)	1.3 (0.1–5.0)	3.0 (0.6–5.9)	0.043	0.20	0.71
Marginal zone (% of B cells)	11.1 (2.4–24.6)	3.5 (1.3–11.0)	8.0 (5.0–16.7)	0.043	0.27	0.48
Transitional (% of B cells)	1.0 (0.2–2.5)	0.6 (0.0–4.0)	2.7 (0.6–7.5)	0.94	0.14	0.09
Plasmablasts (% of B cells)	0.1 (0.0–0.8)	0.3 (0.0–1.1)	0.1 (0.0–1.2)	0.11	0.47	0.66
CD21lo (% of B cells)	3.9 (1.9–7.7)	14.2 (10.1–30.0)	6.0 (2.8–29.3)	<0.0001	0.24	0.051



Bronchoalveolar Lavage Fluid Reflects a T_H1-CD21^{low} B-Cell Interaction in CVID-Related Interstitial Lung Disease

Friedmann D, Unger S, Keller B, Rakhmanov M, Goldacker S, Zissel G, et al. Bronchoalveolar Lavage Fluid Reflects a TH1-CD21low B-Cell Interaction in CVID-Related Interstitial Lung Disease. *Front Immunol* [Internet]. 2021 Feb 5;11.

David Friedmann^{1,2,3†}, Susanne Unger^{1,2,4†}, Baerbel Keller^{1,2}, Mirzokhid Rakhmanov^{1,2,5}, Sigune Goldacker^{1,2}, Gernot Zissel⁶, Björn C. Frye⁶, Jonas C. Schupp^{6,7}, Antje Prasse^{8,9} and Klaus Wernatz^{1,2*}



- Expres prozánětlivých chemokinových receptorů – CXCR3, CXCR6

- Vlastnosti antigen prezentujících buněk

- Fenotyp paměťových buněk

- Schopnost produkce autoprotilátek

- Mimo CVID popsány u SLE, RA a chronických infekcí (malárie, HIV, HCV)

Visit 1 • Screening



- CVID/ HCs recruitment
- Inclusion & exclusion criteria assessment
- Clinical data collection

Visit 2 • Baseline

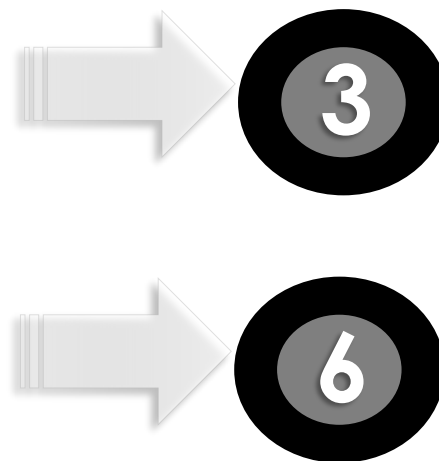
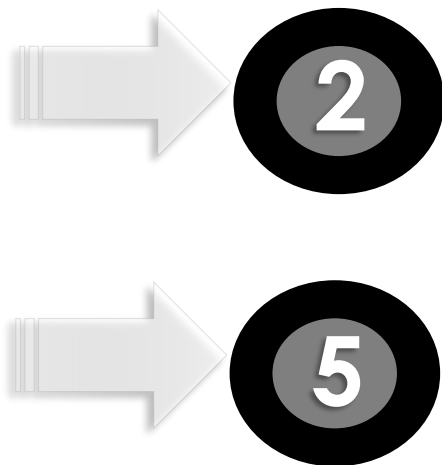
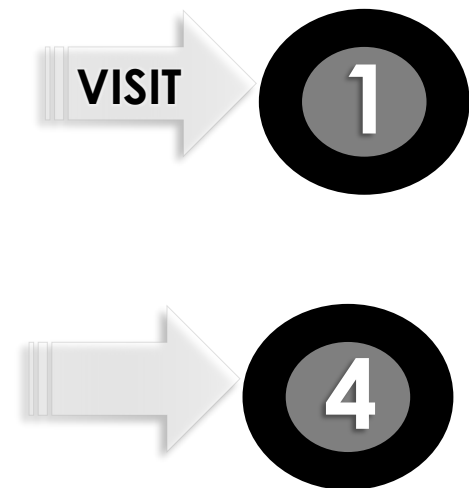


- Blood sample collection
- Administration 1st dose of BNT162b2
- Patients clinical questionnaire (AE/SAE)

Visit 3 • Day 21



- Blood sample collection
- Administration of the 2nd dose
- Patients clinical questionnaire (AE/SAE)



Visit 4 • Month 1



- Blood sample collection
- Immunophenotyping
- T cell-immune response assessment
- Humoral response assessment



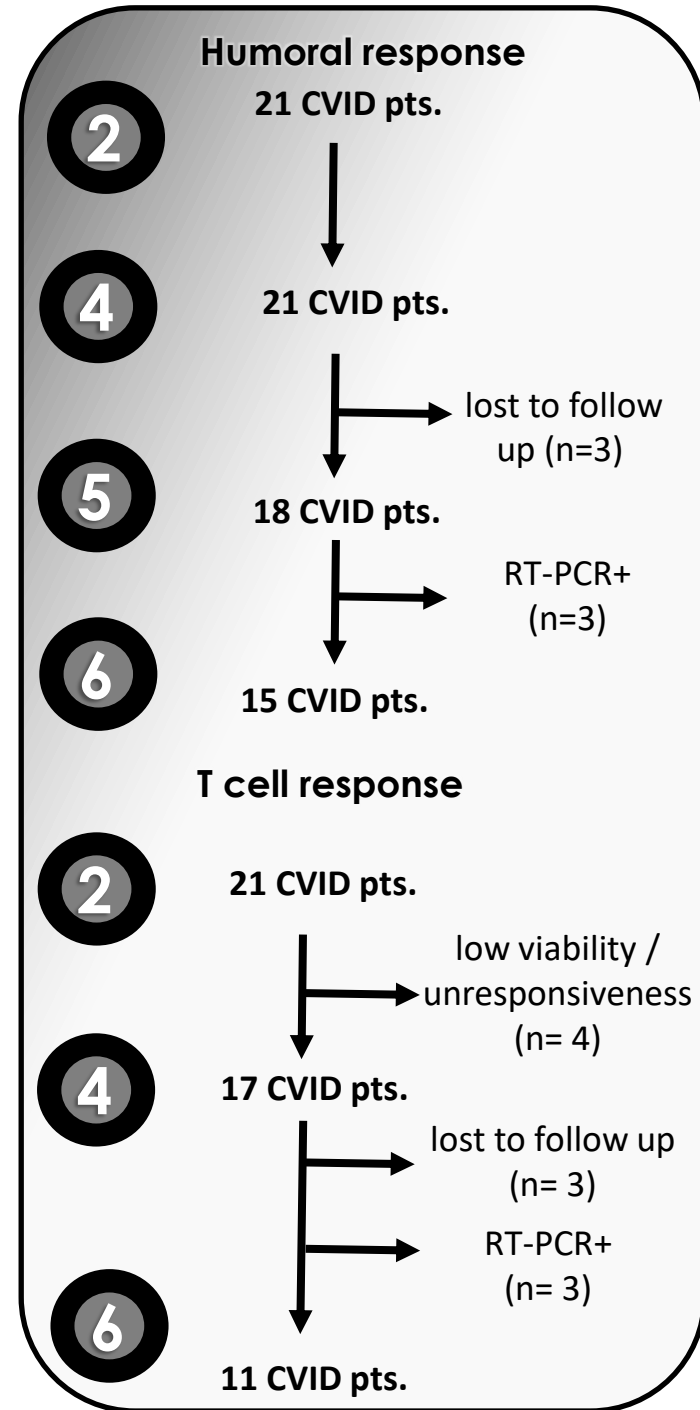
Visit 5 • Month 3

- Blood sample collection
- Humoral response assessment



Visit 6 • Month 6

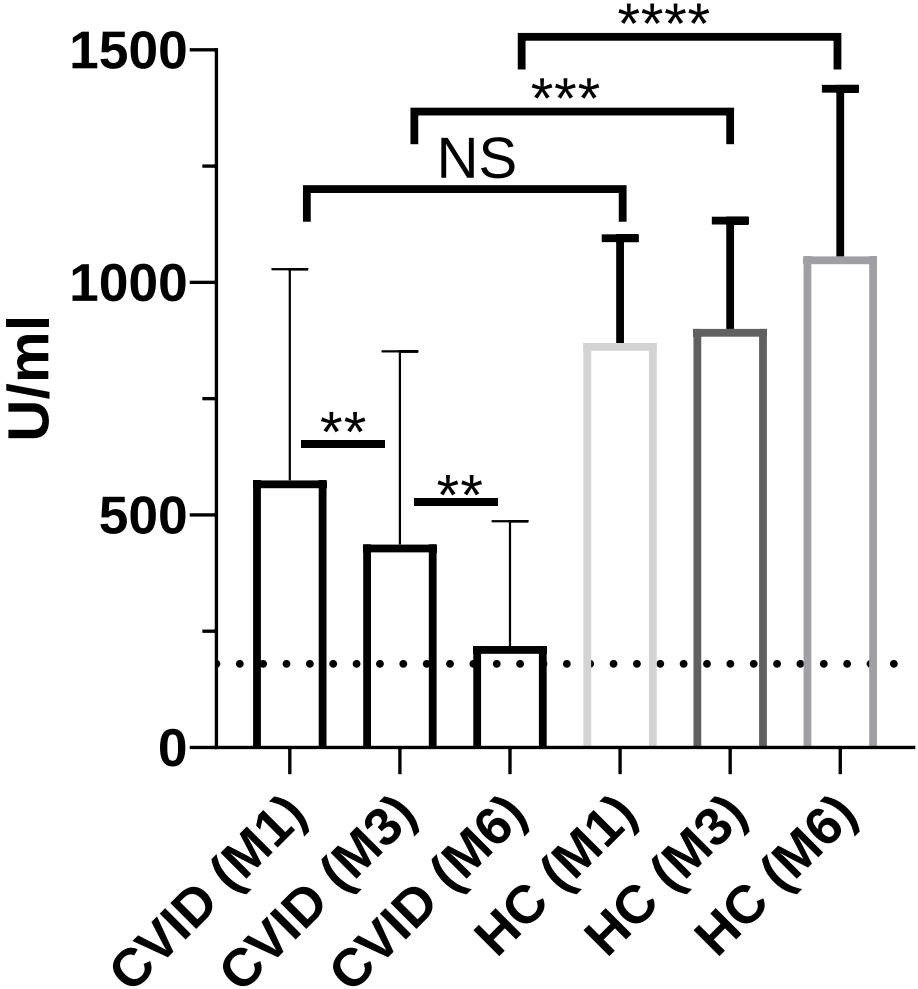
- Blood sample collection
- Humoral response assessment
- T cell-immune response assessment



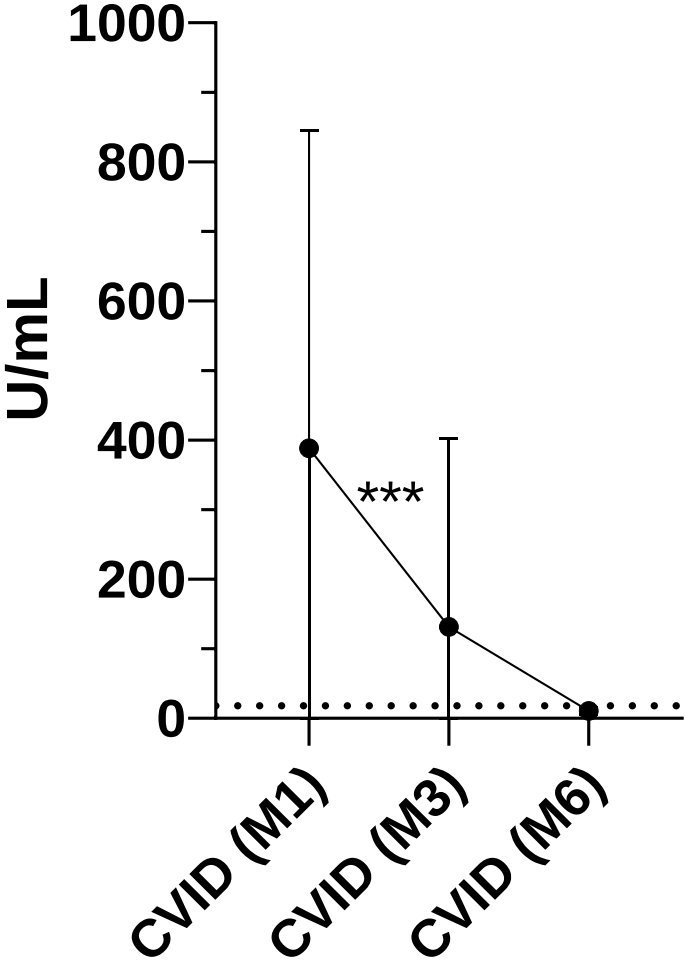
Protilátková odpověď

CVID:	52.4%	...	44.4%	...	33.3%
HCs:	100%	...	100%	...	100%

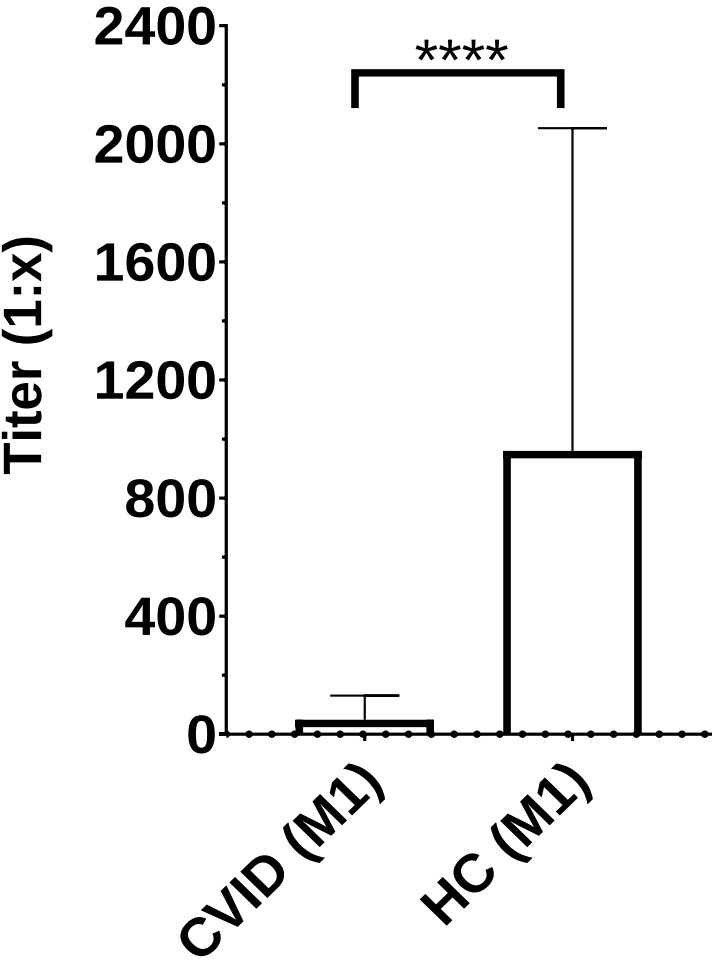
Anti-RBD (IB)



Anti-RBD (ELISA)



Neutralizing Ab



Prediktory protilátkové odpovědi

Characteristics	All	Responders	Non-responders	p- value
DEMOGRAPHY				
Age (yrs., +/-SD)	46.3 (9.7)	39.1 (8.10)	51.36 (8.13)	0.003
LABORATORY PARAMETERS				
Serum IgM (g/L, +/-SD)	0.19 (0.18)	0.29 (0.21)	0.1 (0.06)	0.002
CD19+ CS (% of CD19+ cells, +/-SD)	5.0 (3.2)	7.58 (3.09)	3.39 (2.09)	0.009



**Děkuji
za pozornost!**