

Fenotypizácia B-lymfocytov a jej klinický význam v diagnostike CVID

Jela Petrisková, Miloš Jeseňák
Univerzitná nemocnica Martin

Vyhlásenie o konflikte záujmov autora

- Nemám potenciálny konflikt záujmov
- Deklarujem nasledujúci konflikt záujmov

Forma finančného prepojenia	Spoločnosť
Participácia na klinických štúdiách/firemnom grante	x
Nepeňažné plnenie (v zmysle zákona)	x
Prednášajúci	x
Akcionár	x
Konzultant/odborný poradca	x
Ostatné príjmy (špecifikovať)	x

Kritériá diagnostiky CVID

1. Je prítomná aspoň jedna klinická manifestácia imunodeficitu: infekcia, autoimunita, lymfoproliferácia.

Pozn.: Ak sú splnené body 2 - 5, nie je táto manifestácia nutná najmä u pacientov s pozitívnou rodinnou anamnézou.

2. Opakovane preukázané zníženie koncentrácie IgG pod dolnú hranicu referenčných hodnôt.
3. Znížená koncentrácia IgA alebo IgM.
4. Dokázaná porušená protilátková odpoveď po vakcinácii.

Pozn: Ku splneniu kritéria postačuje nízka odpoveď na imunizáciu proteínovým alebo polysacharidovým antigénom.

5. Vylúčenie iných príčin hypogamaglobulínemie.
6. Nie sú potrebné molekulárne genetické testy na gény asociované s fenotypom CVID.

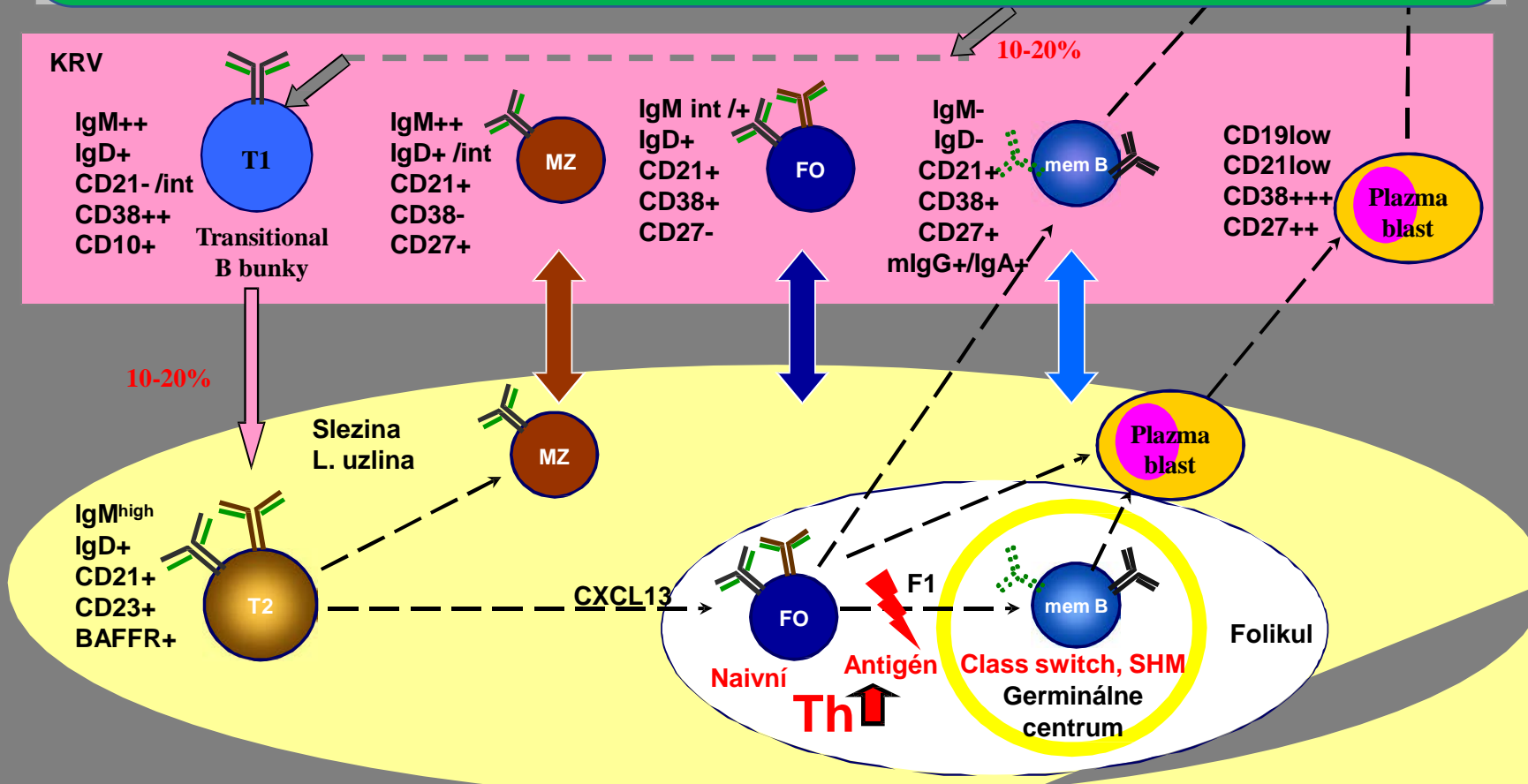
Diferenciácia B-lymfocytov

CVID

B-lymfocyty

5-10% pacientov - veľmi nízke počty B-lymfocytov (menej ako 1%)

- defekt vývoja v kostnej dreni.





1. anti-CD19 /anti- CD27/anti-IgD/anti-IgM

Naivné B-lymfocyty:
CD19+ CD27- IgM-/+ IgD+

Bunky marginálnej zóny (like):
CD19+ CD27+IgM++IgD+

Pamäťové (memory) class switched B-lymfocyty: CD19+ CD27+IgM+/-IgD-

Pamäťové (memory) non switched B-lymfocyty: CD19+ CD27+IgM+IgD+



2. anti-CD19 /anti- CD38/anti-CD21/anti-IgM

Transientne B-lymfocyty:
CD19+ CD21^{int} CD38++ IgM++ (CD27 -)

Plazmablasty: CD19^{low} CD21^{low} CD38+ IgM-/+ (CD27 ++)

CD21^{low} B-lymfocyty:
CD19++ CD21^{low} CD38^{low} IgM+ (CD27-)

Pamäťové (memory) „switched“ B-lymfocyty (marker správnej funkcie germinálneho centra)

- nízky počet: typ I, MB1/MB0, smB- (defekt v prípade deficitu CD40L, ICOS - kooperácia s T-lymfocytmi)
- dostatočný počet: typ II, MB2, smB+ (porucha v postgerminálnej diferenciácii na plazmatické bunky).

Pamäťové (memory) „non-switched“ B-lymfocyty

Selektívne zníženie - problém diferenciácie v marginálnej zóne.

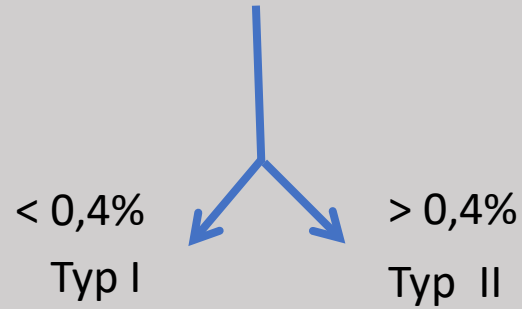
Transientné B-lymfocyty

- zvýšený počet (v spojitosti s lymfadenopatiou), popísaný aj v spojitosti s poklesom počtu zrelých B-lymfocytov (významný nárast transientných B-lymfocytov pri BAFF-R defekte).

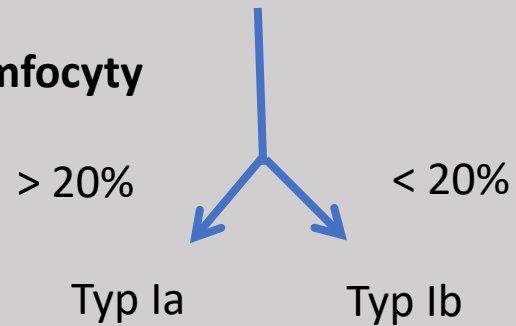
CD19+CD21^{low} (nezrelé) B-lymfocyty

- CD21 – receptor pre C3d, expresia CD21 (zároveň s CD19) - nízka expresia znižuje účinnosť prenosu signálu z antigénu viazaného na BCR a C3d.

Pamäťové (memory) „switched“ B-lymfocyty
CD19+CD27+IgM-IgD-



Nezrelé CD19+CD21^{low} B-lymfocyty



Ia < 0,4% pamäťové „switched“ B-lymfocyty: CD19+27+IgD-IgM-

> 20% nezrelé B-lymfocyty: CD19+21-

Ib < 0,4% pamäťové „switched“ B-lymfocyty: CD19+27+IgD-IgM-

< 20% nezrelé B-lymfocyty: CD19+21-

II > 0,4% pamäťové „switched“ B-lymfocyty: CD19+27+IgD-IgM-

Freiburgská klasifikácia CVID

Typ I zahŕňa pacientov s prepnutými pamäťovými B-lymfocyty pod 0,4 % celkových lymfocytov v periférnej krvi a CVID skupina II zahŕňa pacientov s normálnym počtom prepnutých pamäťových B-lymfocytov (> 0,4 %).

Vývoj pamäťových B-lymfocytov je spojený s tvorbou v germinálnych centrách sekundárnych lymfoidných orgánov, výrazné zníženie prepnutých pamäťových B-lymfocytov pri CVID typu I silne podporuje hypotézu, že pri tomto ochorení sú funkcie germinálneho centra narušené. Bolo popísaných veľa možných príčin narušených GC reakcií (mutácie v géne pre ligand CD40, defekty rodiny tumor nekrotizujúceho faktora- α a jeho receptorov, znížená expresia kostimulačných molekúl (CD86) a chemokínov, ako je chemoatraktant B-lymfocytov). Pre normálny vývoj primárneho folikulu na sekundárny sú nevyhnutné fungujúce interakcie B- a T-lymfocytov.

“switched” B-lymfocyty
CD27⁺IgM⁻IgD⁻

< 0,4%
Typ I

> 0,4%
Typ II

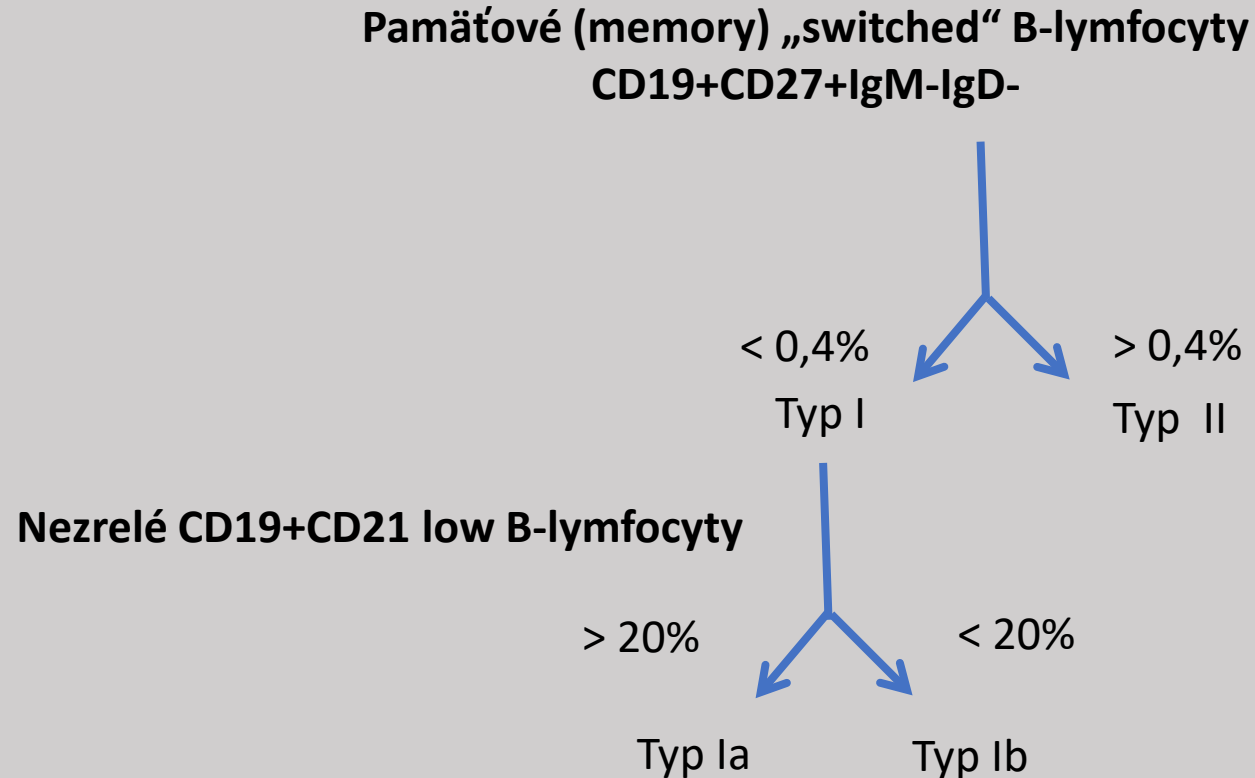
CD19⁺CD21 low (nezrelé) B-lymfocyty
– CD21 – receptor pre C3d, expresia CD21 (zároveň s CD19) - nízka expresia znižuje účinnosť prenosu signálu z antigénu viazaného na BCR a C3d.

Typ Ia

Typ Ib

Dobrá korelácia medzi frekvenciou CD27⁺ IgM⁻ IgD⁻ prepnutých pamäťových B buniek v periférnej krvi a syntézou IgG *in vitro*

Freiburgská klasifikácia CVID



Typ II: „Switched“ pamäťové B-lymfocyty boli len mierne alebo neboli vôbec znížené a v počte ani produkcii imunoglobulínov (*in vitro*) sa nelíšili od zdravých kontrol. Pacienti CVID skupiny II majú pravdepodobne normálnu GC reakciu, ale zlyhávajú v produkcii podstatného množstva protilátok *in vivo* alebo majú zvýšený katabolizmus imunoglobulínov.

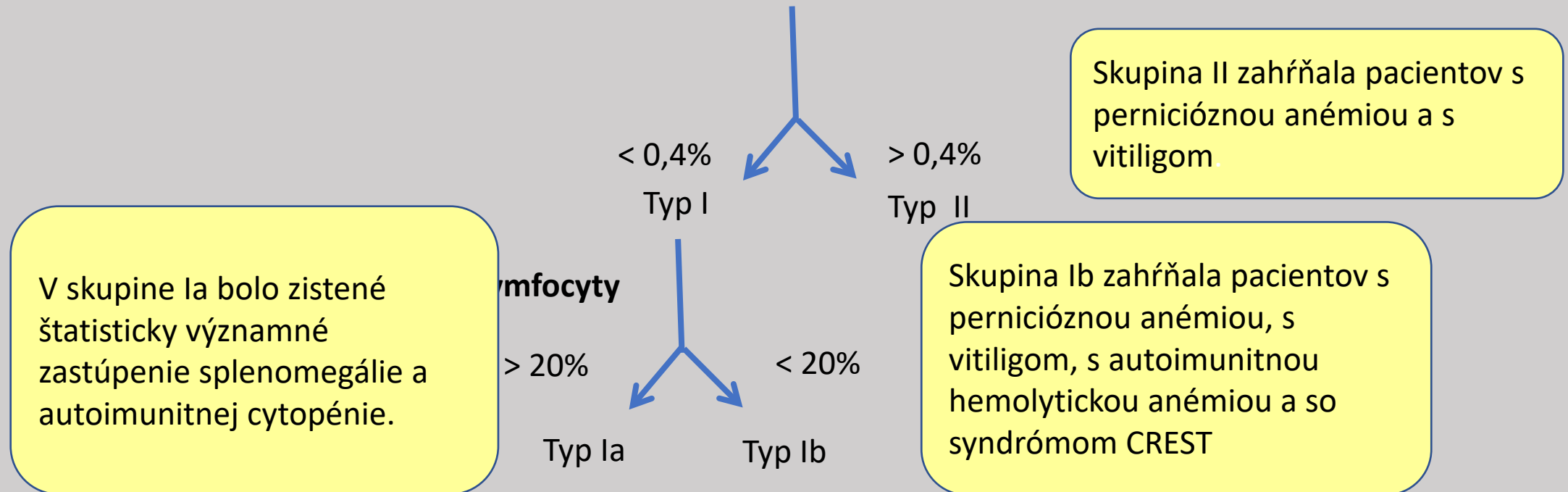
Hypogamaglobulinémia u pacientov skupiny II môže byť spôsobená poruchou terminálnej diferenciácie plazmatických buniek, narušeným dozrievaním prekursorov plazmatických buniek alebo skrátenou životnosťou plazmatických buniek *in vivo*.

Freiburgská klasifikácia CVID

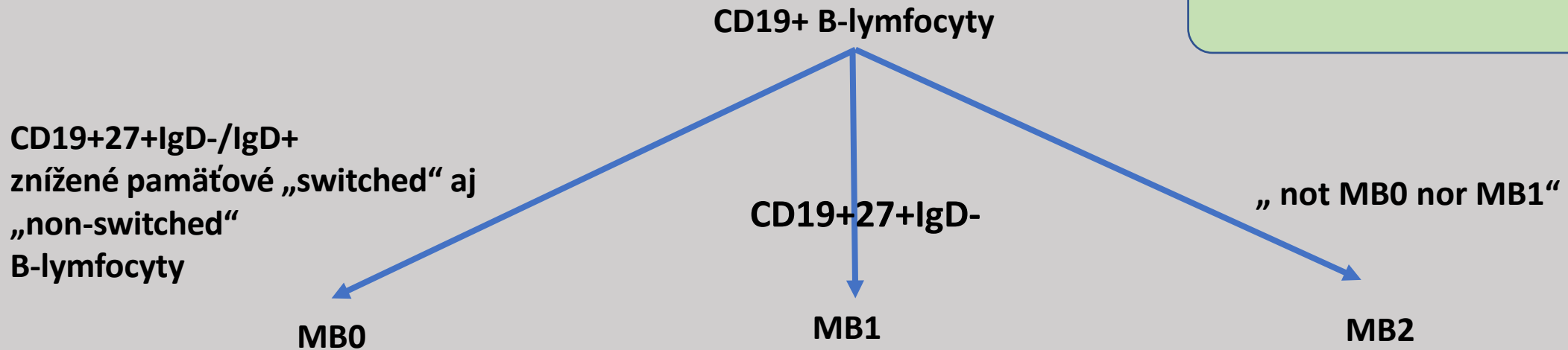
Klasifikácia môže umožniť predpovedanie reakcie na očkovanie

- Ia – bez odpovede na očkovanie
- Ib - intermitentná odpoveď
- II – pozitívna odpoveď na očkovanie

Pamäťové (memory) „switched“ B-lymfocyty
CD19+CD27+IgM-IgD-



Parížska klasifikácia CVID



CD19+27+IgD-/IgD+
znižené pamäťové „switched“ aj
„non-switched“
B-lymfocyty

MB0

Vyššia prevalencia splenomegálie,
lymfoidnej proliferácie a
granulomatózneho ochorenia v
skupine MB0. Autoimunita.

Založená na pamäťových
B-lymfocytoch a „switched“
IgD-

MB0 < 11% všetkých pamäťových
B-lymfocytov: CD19+27+IgD-IgD+

MB1 < 8% pamäťových „switched“ B-lymfocytov
CD19+27+IgD-

CD19+27+IgD-

MB1

znižené pamäťové „switched“
CD19+27+IgD-
normálne pamäťové „non-switched“
CD19+27+IgD+

znižovaná expresia aktivačných markerov (CD25, CD21, CD80, CD86)
na B-lymfocytoch a zvýšená expresia aktivačných markerov (HLA-DR,
CD95, CD57) na T-lymfocytoch

Vyššia prevalencia splenomegálie
v skupine MB1. Autoimunita.

„not MB0 nor MB1“

MB2

Autoimunita.

Európska klasifikácia CVID

Výrazne znížené pamäťové „switched“ B-lymfocyty (**smB-**) naznačujú defektný vývoj zárodočných centier, ku ktorému môže dôjsť pri nedostatku indukovateľného stimulátora (ICOS) alebo CD40L.

Skupina A

> 1% B-lymfocytov
skupina B+

Skupina **B-** obsahuje všetkých pacientov s vážnymi defektmi skorej diferenciácie B-lymfocytov.

> 2% pamäťových „switched“ B-lymfocytov
skupina smB+

> 9% transientnych B-lymfocytov
skupina smB-TR^{high}

< 9% transientnych B-lymfocytov
skupina smB-TR^{norm}

> 10% CD21^{low} nezrelých B-lymfocytov

Fenotypizácia subpopulácií B-lymfocytov potvrdila závažnú redukciu pamäťových „switched“ B-lymfocytov u väčšiny pacientov, ktorá bola spojená s vyšším rizikom splenomegálie a granulomatózneho ochorenia.

Expanzia CD21^{low} nezrelých B-lymfocytov bola spojená so splenomegáliou.

Lymfadenopatia bola významne spojená so zvýšeným počtom transientnych B-lymfocytov.

Navrhuje vylepšenú klasifikáciu CVID, ktorá rozdeľuje pacientov na skupiny

- s takmer chýbajúcimi B-lymfocytmi (menej ako 1%),
- s výrazne zníženými „memory switched“ B-lymfocytmi (menej ako 2%),
- so zvýšenými transientnými (prechodnými) B-lymfocytmi (viac ako 9%),
- so zvýšenými nezrelými CD21^{low} B-lymfocytmi (viac ako 10%).

Fenotypizácia B-lymfocytov

- má význam pre diagnostiku CVID
- umožňuje identifikovať pacientov s poruchou diferenciácie B-lymfocytov v rôznych štádiách ich vývoja
- pomáha pri pochopení a predikcii klinického stavu pacientov
- má význam pri rozhodovaní o terapii pacienta.

Významnú úlohu zohráva kooperácia medzi T-a B-lymfocytmi, preto aj fenotypizácia T-lymfocytov môže prispieť k spresneniu diagnostiky CVID.

