

Dítě s imunodeficientním stavem, možnosti řešení

2. část: Léčba a novorozenecký screening

doc. MUDr. Vojtěch Thon, Ph.D.

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

Časná diagnostika vrozených poruch imunity umožňuje adekvátní cílenou léčbu a zabránění infekčním komplikacím. Buněčné poruchy specifické imunity se projeví jako kombinované T a B buněčné imunodeficiency. Z těchto důvodů neinvazivní vyšetření TREC a KREC z krevní kapky novorozenců zvýší včasný záchyt imunodeficiencí. Děti, které jsou transplantovány do 3 měsíců věku, mají mnohem větší šanci na přežití, než děti transplantované později.

Klíčová slova: imunodeficiency, IVIG, SCIG, TREC, KREC, transplantace, krevní kapka, screening.

Child with immunodeficiency – possibilities of solution

2nd part: Treatment and newborn screening

Early diagnosis of immunodeficiency makes possible early definitive therapy and avoids the complications of pretreatment infections. T-cell immunodeficiency defects become apparent as combined T- and B-cell deficiencies. Therefore, implementation of TRECs and KRECs into the newborn screening from dried blood spot will increase the preventive approach to early immunodeficiency diagnostics. Infants undergoing transplantation in the first 3 months of life have a much higher rate of survival than those undergoing transplantation later.

Key words: immunodeficiency, IVIG, SCIG, TREC, KREC, transplantation, dried blood spot, screening.

Pediatr. praxi 2014; 15(5): 254–256

Substituční imunoglobulinová léčba. Indikace a domácí terapie: intravenózní imunoglobulinová terapie (IVIG)

Po poválečném období intramuskulárních preparátů (IMIG) se od 80. let minulého století dostávají do klinického použití **intravenózní imunoglobulinové preparáty (IVIG)**. IVIG obsahují široké spektrum protilátek. Jsou extrahovány z plazmy řádově od deseti tisíců dárců. Biologický poločas intaktního IgG po intravenózním podání se pohybuje mezi 15 až 22 dny. V České republice jsme IVIG léčbu zavedli počátkem 90. let. Pro adekvátní substituci jsou v průměru nezbytné dávky 400 mg/kg hmotnosti každé 3 až 4 týdny, nebo vyšší (1, 2).

Subkutánní imunoglobulinová terapie (SCIG)

Také až z roku 1980 je první moderní práce o **subkutánním použití imunoglobulinů (SCIG)** k léčbě, navazující na Brutonovu kazuistiku (3, 4). Došlo k zásadnímu zlepšení klinického stavu pacientů, u nichž se při této formě substituce udržovaly sérové hladiny IgG na úrovni 5 g/l a vyšší. Limitací však byl stále dlouhý čas nutný pro aplikaci pomalých subkutánních infuzí. Ve stejné době se stává od roku 1981 reálné použití IVIG.

Počátkem 90. let 20. století dochází ve Švédsku k vypracování protokolu rychlého podávání levnějšího 16% imunoglobulinu v subkutánní aplikaci, původně určeného pro IMIG. Ann Gardulf a spol. použili infuzní rychlosti 17 až 20 ml/hod. s.c., přičemž řada těchto rychlých infuzí byla podávána při

domácí léčbě; pacienti byly tolerovány i dvojnásobně vyšší expresní rychlosti podání, nebo vyšší koncentrace nově připravovaných SCIG preparátů (20%) (4). V Evropě začal být pro subkutánní aplikaci používán koncentrovaný imunoglobulin (16% a vyšší) bez rtuti, jež byla jako konzervační činidlo součástí IMIG preparátů. SCIG léčba se ukázala bezpečnou i pro děti. Může být v týdenních intervalech podávána přenosnou pumpou, které máme u nás k dispozici (PPS 9001S, ONYX CZ, Brno, Česká republika), nebo v menších opakovaných dávkách injekční stříkačkou. U malých dětí tedy může být podána subkutánní infuze 2 až 3 ml do jednoho místa vpichu injekční stříkačkou v průběhu 2–5 minut. V závislosti na hmotnosti dítěte mohou být jedna až dvě injekce SCIG týdně dostatečné. Krém s lokálním anestetikem může být použit v místě vpichu, zejména u dětí.

Pacienti, kteří přecházejí z IVIG léčby na SCIG, by měli obdržet první dávku SCIG během jednoho týdne po IVIG infuzi, aby byly zachovány terapeutické hladiny IgG v organismu (1, 4, 5).

Moderní SCIG terapie se stala rovnocennou alternativou IVIG, což je důležité též pro pacienty s obtížným žilním přístupem nebo s vysokými hladinami anti-IgA protilátek, i s předchozími nežádoucími reakcemi po IVIG. Oba způsoby léčby (IVIG a SCIG) mohou být zastupitelné a SCIG léčbu je možné po zaškolení pacienta – rodičů bezpečně aplikovat i v domácí péči. **Není přitom potřeba vybavovat pacienta autoinjektorem s adrenalinem. Domácí léčba** může zvýšit kvalitu života nemocného dítěte (4).

Vyšetření anti-IgA protilátek, prevence anafylaktoidní reakce

Ve středoevropské populaci nalézáme anti-IgA protilátky přibližně u 10% pacientů s nedetekovatelnými hladinami sérového IgA (viz výše). Při rutinním stanovení hladin sérových imunoglobulinů se v praxi jedná o měřené hodnoty sérového IgA nižší než 0,05 g/l. U těchto pacientů s neměřitelnými hladinami sérového IgA je indikováno vyšetření anti-IgA protilátek, které se vyskytují ve třídě IgG a mohou způsobit anafylaktoidní reakci aktivací komplementu. Pro stanovení anti-IgA protilátek je k dispozici standardizovaná kvantitativní ELISA souprava vypracovaná s blokačním krokem, jež vylučuje falešnou pozitivitu stanovení anti-IgA protilátek (Anti-IgA isotype IgG Human ELISA, BioVendor, Brno, Česká republika). V případě nálezu positivity anti-IgA protilátek zejména ve vyšších hodnotách může být pro zachycené pacienty s výhodou bezpečné podání SCIG místo IVIG. Tuková tkáň, která je depotním prostorem při SCIG aplikaci, indukuje toleranci.

Kombinace kvantitativního **stanovení anti-IgA protilátek** a měření sérových hladin IgA u pacientů je efektivní a bezpečnou diagnostickou strategií **při prevenci anti-IgA protilátkami zprostředkované anafylaktoidní reakce** (4, 6, 7).

Indikace imunoglobulinové léčby u imunodeficiencí

Substituční imunoglobulinová léčba (IVIG nebo SCIG) je indikována u prokázaných proti-

látkových deficiencí, které přehledně shrnuje tabulka 1. Řadí se k nim X-vázaná agamaglobulinemie (XLA), veškeré typy běžné variabilní imunodeficiency (CVID), včetně již definovaných genových poruch u CVID, jako je *ICOS* (*inducible costimulator*) deficiencie, porucha *BAFF* (*B-cell activating factor*) receptoru, *CD19*, *CD81*, *CD20*, *CD21*, *LRBA* (*lipopolysaccharide responsive beige-like anchor protein*), i *TACI* (*transmembrane activator and CALM interactor*) polymorfizmů asociovaných s projevy CVID; poruchy izotypového přesmyku (hyper-IgM syndromy) a další definované syndromy (tabulka 1). U kombinovaných imunodeficiencí je indikace imunoglobulinové substituční terapie před a bezprostředně po transplantaci zárodečnými buňkami (CD34+) a dále po transplantaci kmenovými buňkami v závislosti na schopnosti B-lymfocytů tvořit protilátky (4).

Substituční imunoglobulinová terapie je indikována také u pacientů se sekundárními hypogamaglobulinemiemi, jako je CLL a myelom, stav po chemoterapii apod.

Pacienti s deficitem IgG podtříd, přechodnou hypogamaglobulinemii v dětství a pacienti se selektivním IgA deficitem by neměli být léčeni imunoglobulinovou substituční terapií, pokud není prokázána porucha tvorby specifických protilátek po očkování. Nejprve by měla být u nich v případě potřeby vyzkoušena pravidelná profylaktická antibiotická terapie.

U dětí nad 6 let věku a u dospělých je indikace zahájení substituční imunoglobulinové léčby při hodnotách sérového IgG pod 2,5 g/l u všech pacientů, v případě IgG 2,5–5 g/l u pacientů s deficitem tvorby specifických protilátek a opakovanými bakteriálními infekcemi, u hladin sérového IgG nad 5 g/l u pacientů s deficitem tvorby specifických protilátek a těžkými bakteriálními infekcemi. U dětí mladších než 6 let závisí indikace substituční imunoglobulinové léčby na klinické symptomatologii a příčině B-lymfocytární poruchy, s cílem zabránit rozvoji orgánového postižení. Např. v případě diagnózy X-vázané agamaglobulinemie (XLA) je okamžitě nasazena substituční terapie (1, 4).

Nově vypracovaný funkční test stanovení plazmablastů, rutinně vyhodnotitelných průtokovým cytometrem po diagnostické vakcinaci, umožňuje i v případě zavedené substituční imunoglobulinové léčby v praxi vyšetřit, nakolik je u pacientů s hypogamaglobulinemií zachována schopnost odpovědi na antigenní stimulaci (8). Indikace k substituční léčbě shrnují tabulka 1 a obrázek 1.

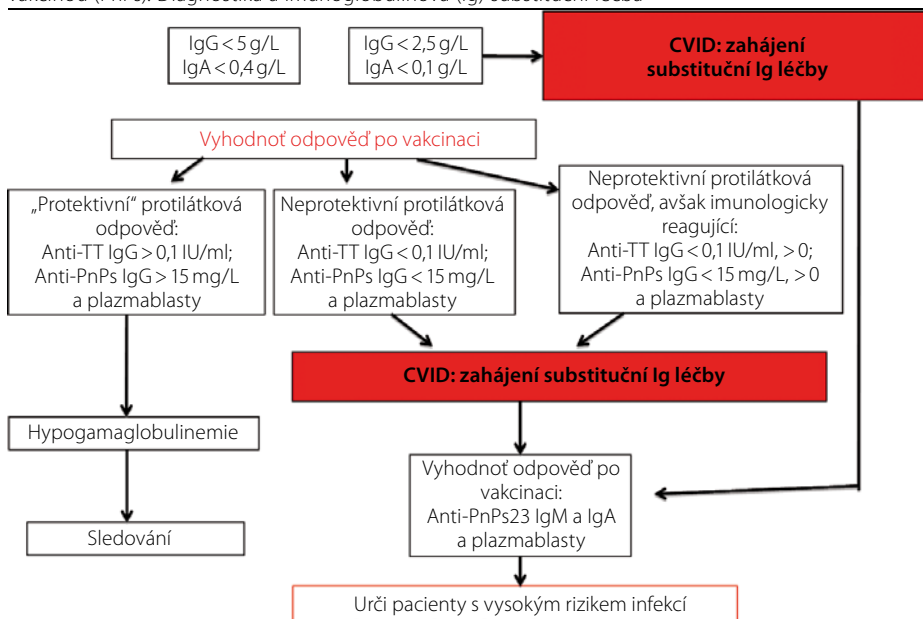
Kombinované imunodeficiency

Porušená nebo snížená T buněčná imunita je obvykle také doprovázena abnorma-

Tabulka 1. Vrozené imunodeficiency, u nichž je indikována substituční IVIG nebo SCIG terapie

Protilátkové imunodeficiency a syndromy
X-vázaná (XLA) i autozomální agamaglobulinemie
Běžné variabilní imunodeficiency (CVID), včetně deficiencí ICOS, BAFF-R, CD19, CD20, CD81, MSH5 a asociovaných TACI polymorfizmů
Hyper-IgM syndromy (X-vázaný a autozomálně recesivní formy)
Přechodná hypogamaglobulinemie v dětství (ve speciálních případech)
Deficit IgG podtříd, s přítomným IgA deficitem nebo bez něj (ve speciálních případech)
Deficit tvorby protilátek s normálními hladinami sérových imunoglobulinů
Kombinované imunodeficiency a syndromy
Těžká kombinovaná imunodeficiency (SCID; všechny formy před transplantací kostní dřeně nebo zárodečnými buňkami a po transplantaci, pokud nedošlo k rekonstituci B-lymfocytů)
Wiskottův-Aldrichův syndrom (pokud je asociován s těžkou imunodeficiencí)
Ataxia-telangiectasia (v případě přítomnosti deficitu protilátek)
Další syndromy se zvýšenou citlivostí chromozomů k ionizujícímu záření, jako je Nijmegen breakage syndrome (NBS) a syndrom Seemanové (častá slovenská mutace)
Metafyzární chondrodysplázie (McKusick, OMIM 250250)
Deficiency MHC II. třídy (syndrom holých leukocytů)
X-vázaný lymfoproliferativní syndrom (XLP)
Delece chromozomu 22q11.2 (DiGeorgeův syndrom, pokud je přítomen těžký protilátkový deficit)

Obrázek 1. Odpověď po vakcinaci tetanickým toxoidem (TT) a nekonjugovanou pneumokokovou vakcínou (PnPs). Diagnostika a imunoglobulinová (Ig) substituční léčba



litami na úrovni funkcí B-lymfocytů. Je to dáno fyziologicky a patofyziologicky kooperací T a B-lymfocytů. Hovoříme o kombinovaných imunodeficiencích. Některé z nich jsou asociovány s poruchou dalších systémů, jako je Wiskottův-Aldrichův syndrom (imunodeficiency, trombocytopenie, ekzém), DiGeorgeův syndrom (označovaný také jako CATCH 22 – zkratka za „Cardiac abnormality, abnormal facies, I cell deficiency, cleft palate, hypocalcemia“ z důvodu delece na 22 chromozómu) a další (viz též tabulka 1).

Do této skupiny patří také **těžké kombinované imunodeficiency** (sever combined immunodeficiency, SCID), které se obvykle

projeví v prvních měsících života dítěte a jsou urgentním stavem v medicíně (9, 10).

U imunodeficiencí se zvýšenou citlivostí chromozomů k ionizujícímu záření je nezbytné minimalizovat radiační expozici.

Těžké kombinované imunodeficiency (SCID)

Děti, které mají kompletní poruchu T-lymfocytárních funkcí, trpí těžkou kombinovanou imunodeficiencí. Existuje řada variant těžkých kombinovaných imunodeficiencí v závislosti na genetické poruše a tím i fenotypově na přítomnosti nebo nepřítomnosti buněk T, B, nebo NK v obvo-

dové krvi. Chronické nebo perzistující infekce a ne-prospívání se projevívají v prvních týdnech a měsících života dítěte. Každé suspektní dítě by mělo být vyšetřeno, zda není lymfopenické (krevní obraz a diferenciální rozpočet vztažený k věku). Včasné rozeznání SCID a odlišení od HIV infekce je zásadní. U dětí s podezřením na buněčnou deficienci je kontraindikované podávání živých vakcín (včetně rotavirových) (9–12). V případě nutnosti krevní transfuze musí být krev ozářena, aby se zabránilo reakci štěpu proti hostiteli. Léčebnou metodou volby je transplantace kmenových buněk (tzn. CD34+ buňky, transplantace kostní dřeně) (9, 10, 13). Reálnou se stává genová terapie (9). Ta byla poprvé na světě provedena právě u SCID.

Včasný záchyt poruch specifické buněčné a humorální imunity. Zaschlá kapka krve – neinvazivní vyšetření

V případě zařazení rotavirové vakcíny (obsahuje replikace schopné, tzn. „živé“ oslabené viry) pro očkování dětí v ČR, kterou z povahy věci není možné časově odložit, jako je tomu u BCG vakcíny (10–12), a při jejímž použití došlo již také k doloženým opakovaným komplikacím u pacientů s vrozenou poruchou imunity, je nutno počítat s vyčleněním prostředků **pro neinvazivní vyšetření TRECů a KRECů (T-cell receptor excision circles; Kappa-deleting recombination excision circles)**. Jedná se o stanovení DNA epizomů v cytoplasmě buněk, vznikajících při vývoji T-lymfocytů a B-lymfocytů, tedy o moderní **citlivé neinvazivní screeningové RT-PCR vyšetření poruch adaptivní imunity prováděné ze zaschlé krevní kapky novorozence** (Guthrieho karta) (obrázek 2). **Zaschlé krevní kapky se využívá plošně pro záchyt metabolických vad vyskytujících se s obdobnou četností jako závažné T buněčné imunodeficiency, jež jsou urgentním stavem. Pokud se provede život zachraňující transplantace kmenovými buňkami (transplantace kostní dřeně) v průběhu prvních měsíců života dítěte, stoupá její dlouhodobá úspěšnost na 96 %.** Mnohonásobně se tak vrací vynaložené prostředky na ekonomicky nenáročný a preventivní screening (10, 12–16). Screeningové vyšetření imunodeficiencí je proto již několik let uplatňováno v rutinní praxi ve Spojených státech (10, 15). Následně bylo doporučeno v roce 2013 celosvětovou Berlínskou deklarací odborníků pro zásadní rozšíření do dalších zemí.

Z důvodu velkého společenského významu se nám podařilo zajistit kontrolní kombinovaný TREC – KREC plazmid (12, 14) využívaný v Evropě i ve Spojených státech, tzn., že **vyšetření TRECů a KRECů se stává v ČR praktickou**

možností. Laboratorní vyšetření je dostupné na LF Masarykovy univerzity v Brně a na 2. LF Karlovy univerzity v Praze.

Včasné neinvazivní vyšetření TRECů a KRECů z krevní kapky, jež je od každého dítěte rutinně k dispozici, je podstatné provést i z důvodů **bezpečného použití ostatních živých očkovacích látek a respektování kontraindikací vakcín (viz též výše), včetně rotavirových i BCG vakcín**, která je navíc v molekulární technologii vylepšených modifikací úspěšně testována v probíhajících klinických zkouškách pro další účinnější očkování. Připravované nové generace vakcín proti tuberkulóze vycházejí jednak z genovým inženýrstvím upraveného BCG, indukujícího také CD8+ T buněčnou odpověď, a v dalších alternativách i z antigenů syntetizovaných na úrovni rekombinantních proteinů (10–12).

K tomu by komplexně a nezávisle mohlo být přiřazeno do klasického screeningu metabolických vad, prováděného analytickou metodou hmotnostní spektrometrie, také vyšetření deficiencie adenosindeaminázy (ADA). Metabolická porucha na úrovni purinového metabolismu vede k rozvoji jedné z fatálních forem SCID, jež je častá, autosomálně recesivně dědičná a která se může manifestovat později. Přiřazení vyšetření ADA by v ekonomickém vyčíslení v komplexu screeningu metabolických vad vycházelo na 30 haléřů (0,30 Kč). Velmi významně by přitom přispělo ke zvýšenému zachytu dětí s ADA-SCID deficiencí, včetně pozdní manifestace (17).

Závěr

Imunitní systém dítěte se fyziologicky vyvíjí a při setkávání s antigeny vyžívá. Dítě postupně vytváří imunitní paměť, která je u každého individuální. Ne každé často nemocné dítě musí být proto imunodeficientní. V současné době jsme schopni správným klinickým přístupem a laboratorním vyšetřením, včetně neinvazivního vyšetření TRECů a KRECů z kapky krve novorozence, zavčas zjistit a odhalit, zda se jedná o některou ze závažných poruch imunitního systému, a dle diagnózy zahájit včasnou léčbu, včetně substituce (IVIG, SCIG) nebo transplantace (HSCT). Těžké kombinované imunodeficiency (SCID) jsou urgentním pediatrickým stavem.

Literatura

1. Hoernes M, Seger R, Reichenbach J. Modern management of primary B-cell immunodeficiencies. *Pediatr Allergy Immunol.* 2011; 22(8): 758–769.
2. Thon V, Vlková M, Litzman J, Lokaj J. Jednoduchá metoda k průkazu CD154 (CD40L) na lymfocytech v periferní krvi. *Epidemiol Mikrobiol Imunol.* 2010; 99(3): 147–154.
3. Bruton OC. Agammaglobulinemia. *Pediatrics* 1952; 9: 722–728.

Obrázek 2. Zaschlá krevní kapka novorozence (Guthrieho karta)



4. Thon V. Intravenózní a subkutánní imunoglobulinová terapie. *Epidemiol Mikrobiol Imunol.* 2013; 62(2): 64–73.
5. Gathmann B, Mahlaoui N, Gérard L, et al. Clinical picture and treatment of 2212 patients with common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol.* 2014; 134(1): 116–126.
6. Horn J, Thon V, Bartonkova D, et al. Anti-IgA antibodies in common variable immunodeficiency (CVID): diagnostic workup and therapeutic strategy. *Clin Immunol.* 2007; 122(2): 156–162.
7. Thon V. Importance of screening of IgG anti-IgA antibodies in hypogammaglobulinemic subjects to prevent anaphylactoid reactions. *Klinická imunologie a alergologie* 2010; 20(3): 26–27.
8. Thon V, Vlková M, Chovanecová Z, et al. Flow Based Enumeration of Plasmablasts in Peripheral Blood After Vaccination as a Novel Diagnostic Marker for Assessing Antibody Responses in Patients with Hypogammaglobulinemia. In: *Clinical Flow Cytometry – Emerging Applications*, M.Sc. Ingrid Schmid (Ed.), ISBN: 978-953-51-0575-6, InTech 2012: 125–142.
9. Pachlounik Schmid J, Güngör T, Seger R. Modern management of primary T-cell immunodeficiencies. *Pediatr Allergy Immunol.* 2014 Jan 3. [Epub ahead of print]
10. Thon V. Imunologické principy bezpečného očkování dětí. *Pediatr. praxi* 2010; 11(6): 354–357.
11. Medical Advisory Committee of the Immune Deficiency Foundation, Shearer WT, Fleisher TA, Buckley RH, et al. Recommendations for live viral and bacterial vaccines in immunodeficient patients and their close contacts. *J Allergy Clin Immunol.* 2014; 133(4): 961–966.
12. Marciano BE, Huang CY, Joshi G, et al. BCG vaccination in patients with severe combined immunodeficiency: Complications, risks, and vaccination policies. *J Allergy Clin Immunol.* 2014; 133(4): 1134–1141.
13. de la Morena MT, Nelson RP Jr. Recent advances in transplantation for primary immune deficiency diseases: a comprehensive review. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2014; 46(2): 131–144.
14. Sottini A, Ghidini C, Zanotti C, et al. Simultaneous quantification of recent thymic T-cell and bone marrow B-cell emigrants in patients with primary immunodeficiency undergone to stem cell transplantation. *Clin Immunol.* 2010; 136(2): 217–227.
15. Kelly BT, Tam JS, Verbsky JW, Routes JM. Screening for severe combined immunodeficiency in neonates. *Clin Epidemiol.* 2013; 5: 363–369.
16. Adams SP, Rashid S, Premachandra T, Harvey K, Ifederu A, Wilson MC, Gaspar HB. Screening of Neonatal UK Dried Blood Spots Using a Duplex TREC Screening Assay. *J Clin Immunol.* 2014; 34(3): 323–330.
17. la Marca G, Canessa C, Malvagía S, et al. The inclusion of ADA-SCID in expanded newborn screening by tandem mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2014; 88: 201–206.

Článek doručen redakci: 14. 4. 2014

Článek přijat k publikaci: 20. 9. 2014

doc. MUDr. Vojtěch Thon, Ph.D.
Ústav klinické imunologie a alergologie
LF MU a FN u sv. Anny v Brně
Pekařská 53, 543 181 Brno
vojtech.thon@fnusa.cz

