

Diagnostická imunofenotypizace závažných primárních imunodeficiencí

pomocí standardizované Euroflow SCID-RTE zkumavky

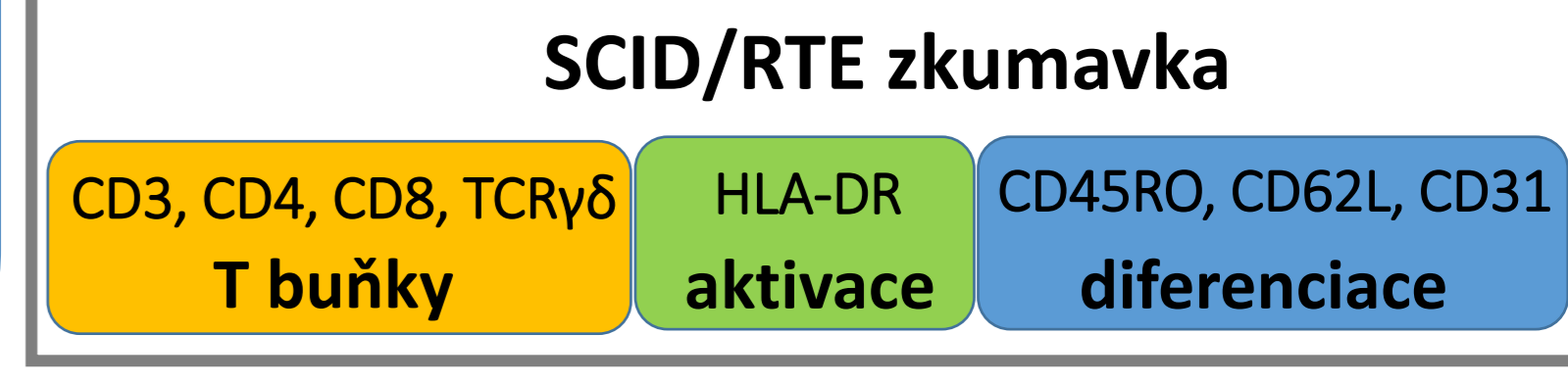
Bakardjieva M. (1), Blom M. (2), Barendregt B. (3), Kanderová V. (1), Bonroy C. (4), Philippé J. (4), Blanco E. (5), Perez-Andres M. (5), Pico-Knijnenburg I. (2, 3), Wolska B. (6), Pac M. (6), Tkaczyk J. (7), Akar H. (8), Formánková R. (1), Freiberger T. (9, 10), Svatoň M. (1), Šedivá A. (11), de Arriba S. (5), Orfao A. (5), J. M. van Dongen J. (3, 12), van der Burg M. (2, 3) and Kalina T. (1) on behalf of Euroflow consortium

1 – Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha; 2 – Dept. of Pediatrics, Laboratory for Immunology, Leiden University Medical Center (LUMC), Leiden; 3 – Dept. of Immunology, Erasmus MC, Rotterdam, University Medical Center Rotterdam; 4 – Laboratory for Clinical Biology and Hematology, University Hospital Ghent; 5 – Dep. Medicine-Serv. Cytometry, Cancer Research Center (IBMCC-CSIC/USAL) and Univ. of Salamanca, Salamanca; 6 – Dept. of Immunology, Children's Memorial Health Institute, Dept. Of Immunology, Warsaw; 7 – Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha; 8 – Dept. of Pediatric hematology and Oncology at Erices University, Kayseri; 9 – Centrum kardiiovaskulární a transplantační chirurgie, Brno; 10 – CEITEC, Masarykova Univerzita, Brno; 11 – Ústav imunologie 2. LF UK a FN Motol, Praha; 12 – Dept. of Immunohematology and Blood Transfusion (IHB), Leiden University Medical Center (LUMC), Leiden

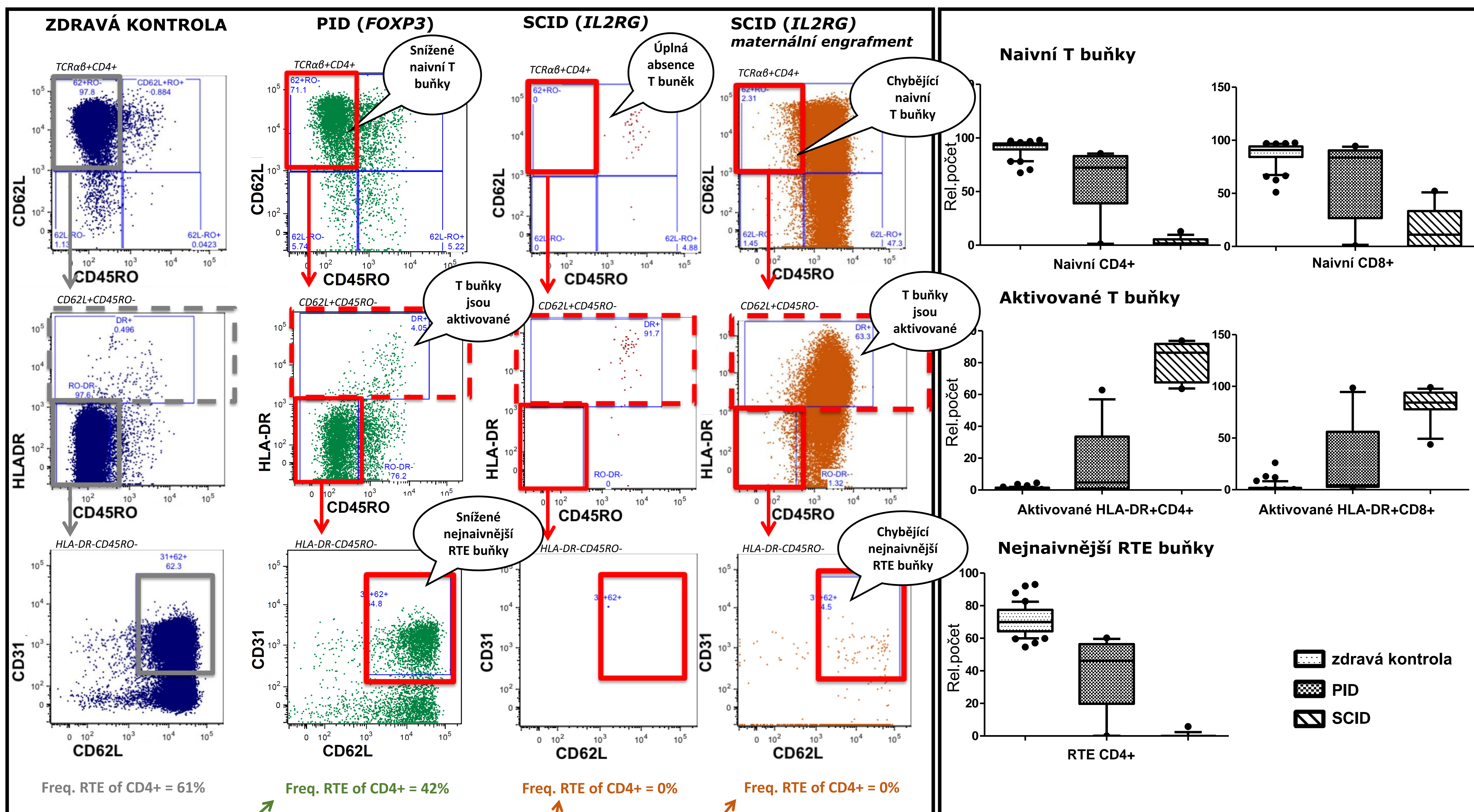
ÚVOD: Primární imunodefice (PID) jsou heterogenní skupinu vrozených poruch imunitního systému. Nejzávažnější formou PID je těžký kombinovaný imunodeficit (SCID, Severe Combined Immunodeficiency), který se projevuje komplikovanými infekcemi časně po narození. U těchto pacientů je nutná včasná diagnóza a indikace transplantace hematopoetických buněk. Euroflow konsorcium vyvinulo panel pro průtokovou cytometrii (SCID-RTE zkumavka) za účelem standardizované evaluace pacientů s podezřením na PID. Test se zaměřuje na detekci nejnaivnějších forem T lymfocytů, tzv. recent thymic emigrants (RTE) společně s dalšími maturačními i aktivačními stádii T lymfocytů.

CÍL: Vyvinout standardizovaný test (SCID-RTE Tube) pro průtokovou cytometrii k identifikaci pacientů s podezřením na závažnou formu PID.

METODY: Byla analyzována krev 26 pacientů s geneticky definovanou formou PID (0-2 roky). Pacientské vzorky byly společně se vzorky krve zdravých dárců (n=44, 0-2 roky) změřeny ve 4 Euroflow laboratořích pomocí SCID-RTE zkumavky využívající 8 barevný protilátkový panel pro průtokovou cytometrii. RTE buňky byly definovány jako CD62L+CD45RO-HLA-DR-CD31+, naivní CD8+ a CD4+ lymfocyty jako CD62L+CD45RO-HLA-DR- a aktivační stav buněk jako HLA-DR+.



VÝSLEDKY: Pomocí SCID-RTE zkumavky jsme identifikovali pacienty s PID, a to detekcí nízké hladiny nebo úplné absence RTE buněk i dalších naivních forem CD4+ a CD8+ lymfocytů. Úplná absence RTE buněk byla potvrzena u všech SCID pacientů, včetně těch s maternálním engraftmentem nebo Omenovým syndromem charakteristickým přítomností oligoklonálně expandovaných buněk. Dalším významným poznatkem byly zvýšené hodnoty aktivovaných CD4+ a CD8+ lymfocytů u všech pacientů.



PID		Průměrná hodnota zdravé kontroly (buňky/μl)				
Věk	Nemoc	Genetický defekt	CD3+ buňky/μl	CD4+ buňky/μl	CD4+ naivní buňky/μl	RTE/μl
1,6	DiGeorge syndrom	chromosom. del.	488	71	1	0
1,6	PNP deficiencie	PNP	500	240	3	1
0,7	CD40L deficiencie	CD40L	870	632	541	357
0,6	DiGeorge syndrom	chromosom. del.	914	592	435	332
0,3	DiGeorge syndrom	chromosom. del.	970	632	465	315
0,4	MHC II deficiencie	RFX	1000	564	383	240
0,6	DiGeorge syndrom	chromosom. del.	1065	786	637	473
1,1	Wiskott-Aldrich syndrom	WAS	1271	394	177	72
0,3	Wiskott-Aldrich syndrom	WAS	1470	1200	1005	633
0,6	ZAP70 deficiencie	ZAP70	2424	1945	721	469
0,2	IPEX	FOXP3	2180	1684	1198	677
0,3	ALPS syndrom	FAS	12833	3324	2838	1938

SCID		Průměrná hodnota zdravé kontroly (buňky/μl)				
Věk	Nemoc	Genetický defekt	CD3+ buňky/μl	CD4+ buňky/μl	CD4+ naivní buňky/μl	RTE/μl
0,3	yc deficiencie	IL2RG	0	0	0	0
0,7	yc deficiencie	IL2RG	1	0	0	0
0,4	Artemis deficiencie	ARTEMIS	1	0	0	0
0	JAK3 deficiencie	JAK3	30	0	0	0
1,3	Adenosin deaminasa def.	ADA	30	0	0	0
0,2	RAG deficiencie	RAG	40	29	2	0
0,7	yc deficiencie	IL2RG	40	28	4	0
0,2	RAG deficiencie	RAG	42	36	0	0
0,9	XLF deficiencie	NHEJ1	220	1	0	0
0,3	CD3ε deficiencie	CD3E	320	17	0	0
0,5	yc deficiencie	IL2RG	680	327	8	0
0,2	JAK3 deficiencie	JAK3	1680	1646	27	0
0,3	Omenův syndrom	RAG	2150	1896	16	0
1,8	JAK3 deficiencie	JAK3	6310	237	4	0
0	Omenův syndrom	RAG	6767	2876	5	0

ZÁVĚR: Euroflow SCID-RTE zkumavka je vhodným diagnostickým cytometrickým testem pro vyšetření pacientů s podezřením na závažnou formu PID.