

UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta v Hradci Králové

PROTILÁTKOVÉ IMUNODEFICIENCE
- pole pro mezioborovou spolupráci

habilitační práce

MUDr. Pavlína Králíčková, Ph.D.
Ústav klinické imunologie a alergologie
Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Hradci Králové
Fakultní nemocnice Hradec Králové

2019

Poděkování:

V úvodu bych ráda poděkovala panu prof. RNDr. Janu Krejskovi, CSc, přednostovi našeho ústavu. Přiměl mě k sepsání této práce, kterou neúnavně redigoval a vedl. Vždy mě významně podporoval ve výzkumných a výukových aktivitách. Zájem o obor imunologie ve mně podnítil již v dobách mého pregraduálního studia.

Mé srdečné poděkování patří paní primářce MUDr. Ireně Krčmové, CSc., která se mě mateřsky ujala a pomohla mi s prvními krůčky v oboru, podpořila nejen jako lékařku, ale i jako matku a seznámila s největšími odborníky v oboru klinické imunologie v České republice.

Im memoriam bych ráda poděkovala paní Doc. MUDr. Evě Pařízkové, CSc. I když se naše cesty setkaly jen na poměrně krátkou dobu, lidsky mě podpořila a byla vzorem nejen svým nadšením pro obor, ale i jako člověk s neutuchající silou překonávat i ty nejtěžší překážky.

Jsem velmi vděčná, že jsem se mohla stát součástí národních pracovních skupin pro primární imunodeficiencie a hereditární angioedém. Zde jsem našla nejen skvělé učitele, nové kolegy a spolupracovníky, ale hlavně řadu úžasných lidí, kteří jsou mému srdci velmi blízcí.

Můj dík patří všem kolegům naší fakultní nemocnice, z oborů plicního lékařství, hematologie, revmatologie, gastroenterologie, rentgenologie, patologie, dětského lékařství a v neposlední řadě i laboratorního komplementu, kteří se stali součástí, i když stále neoficiálního, podle mého názoru příkladně fungujícího centra, ve kterém je poskytována komplexní péče nemocným s primárními imunodeficiencemi.

Zvláštní poděkování patří mému manželovi a dětem za podporu a vytvořené zázemí.

Obsah

| | | |
|-----------|--|-----|
| 1. | Seznam zkratk | 1 |
| 2. | Úvod: | 4 |
| 3. | Primární protilátkové imunodeficiencie | 5 |
| 3.1. | Selektivní deficiencie imunoglobulinu IgA | 5 |
| 3.2. | Selektivní deficiencie podtříd IgG | 7 |
| 3.3. | Selektivní deficiencie specifických protilátek | 7 |
| 3.4. | Selektivní deficiencie IgM | 8 |
| 3.5. | Neklasifikovaná imunodeficiencie | 25 |
| 3.6. | Brutonova agamaglobulinemie (X-vázaná agamaglobulinémie, XLA), autozomálně recesivně vázaná agamaglobulinémie | 36 |
| 3.7. | Běžná variabilní imunodeficiencie (CVID – Common Variable ImmunoDeficiency) | 37 |
| 3.7.1. | CVID a postižení plic | 38 |
| 3.7.2. | CVID a postižení gastrointestinálního traktu | 56 |
| 3.7.3. | CVID a splenomegalie a lymfadenopatie | 62 |
| 3.7.4. | CVID a další autoimunitní onemocnění | 62 |
| 3.7.5. | CVID a osteoporóza | 79 |
| 3.7.6. | CVID a nádorová onemocnění | 80 |
| 3.7.7. | CVID a gravidita | 94 |
| 3.7.8. | CVID a preventivní programy | 102 |
| 3.7.9. | CVID a aktivní imunizace | 102 |
| 3.7.10. | Léčba CVID | 103 |
| 3.7.10.1. | Substituční léčba CVID | 103 |
| 3.7.10.2. | CVID a profylaxe antibiotiky | 112 |
| 3.7.10.3. | CVID a léčba neinfekčních komplikací | 112 |

| | |
|---|------------|
| 3.7.11. Mortalita nemocných s COVID | 114 |
| 3.8. Další primární imunodeficiencie s převahou poruchy tvorby protilátek | 115 |
| 3.8.1. Syndrom aktivované fosfoinositid 3 -kinázy δ (APDS) | 115 |
| 3.8.2. Deficiencie molekuly CTLA-4 (CD152) | 115 |
| 3.8.3. Deficiencie molekuly LRBA | 116 |
| 4. Sekundární protilátkové imunodeficiencie | 117 |
| 4.1. Chronická lymfatická leukemie | 118 |
| 4.2. Mnohočetný myelom | 122 |
| 4.3. Transplantace solidních orgánů a hypogamaglobulinémie | 157 |
| 4.4. Transplantace kostní dřeně a hypogamaglobulinémie | 157 |
| 4.5. Autoimunitní onemocnění a hypogamaglobulinémie | 158 |
| 4.6. Léčba sekundárních protilátkových imunodeficiencí | 159 |
| 4.6.1. Vakcinace | 159 |
| 4.6.2. Antibiotická profylaxe | 159 |
| 4.6.3. Substituční léčba imunoglobuliny | 160 |
| 5. Závěr | 163 |
| 6. Literatura..... | 165 |
| 7. Přílohy | 190 |
| Příloha 1: Diagnostická kritéria chronické lymfocytární leukemie | 190 |
| Příloha 2: Charakteristika klinických stádií CLL. | 190 |
| Příloha 3: Diagnostická kritéria MM | 191 |
| Příloha 4: Klinická stádia MM | 192 |
| Příloha 5: Stanovení prognostického indexu MM dle International Staging System | 193 |
| Příloha 6: Seznam publikačních aktivit autora..... | 194 |

1. Seznam zkratek

| | |
|----------|---|
| AIHA | autoimunitní hemolytická anémie |
| ALT | alaninaminotransferáza |
| anti-DGP | protilátky proti deaminovanému gliadinovému peptidu |
| anti-Gal | protilátky anti-galaktosylové |
| anti-PCP | protilátky proti pneumokokovému polysacharidovému antigenu |
| anti-TTG | protilátky proti tkáňové transglutamináze |
| APDS | syndrom aktivované fosfoinositid 3-kinázy δ |
| ASCT | autologous stem cell transplantation, transplantace vlastních krevetvorných buněk |
| AST | aspartátaminotransferáza |
| BCR | receptor pro antigen na B lymfocytech |
| BMD | Bone Mass Density |
| BMI | Body Mass Index |
| CD | cluster of differentiation |
| CLL | chronická lymfatická leukemie |
| CNS | centrální nervový systém |
| CMV | cytomegalovirus |
| CVID | běžná variabilní imunodeficience (common variable immunodeficiency) |
| CT | computer tomography |
| CTLA4 | Cytotoxic T Lymphocytes Antigen-4 (CD152) |
| DNA | deoxyribonukleová kyselina |
| EBV | virus Epstein-Barrové |
| ELISA | Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay |
| EMA | European Medicines Agency |
| ESID | European Society for Immunodeficiency |
| FDA | Food and Drug Administration |

| | |
|---------------|--|
| FEV1 | usilovně vydechnutý objem za první sekundu |
| FISH | fluorescenční <i>in situ</i> hybridizace |
| GLILD | Granulomatous lymphocytic interstitial lung disease |
| HIV | Human immunodeficiency virus |
| HHV | Human herpetic virus |
| fSCIG | hyaluronidázou facilitované podání imunoglobulinů |
| GIT | gastrointestinální trakt |
| GvH(D) | Graft-versus-host (disease) |
| HL | Hodgkinův lymfom |
| HLA | hlavní histokompatibilní komplex člověka (Human Leucocyte Antigen) |
| HRCT | high resolution computer tomography |
| HSV | Herpes simplex virus |
| IBD | Inflammatory Bowel Disease |
| ID | imunodeficiency |
| IFN | interferon |
| IgAD | selektivní deficiencie imunoglobulinu A |
| IgHV | immunoglobulin heavy chain variable region genes |
| IgG, IgA, IgM | imunoglobulin třídy G, A, resp. M |
| IL | interleukin |
| ILC | innate lymphoid cells |
| IPI | International Prognostic Score |
| ITP | idopatická trombocytopenická purpura |
| ISS | International Staging System |
| IVIG | intravenózní imunoglobuliny |
| JC | John Cunningham virus |
| LRBA | Lipopolysaccharide (LPS)-Responsive and Beige-like Anchor protein |
| MHC | hlavní histokompatibilní komplex (Major Histocompatibility System) |
| MM | mnohočetný myelom |

| | |
|--------|--|
| MRI | magnetická rezonance |
| mTOR | mammalian target of rapamycin |
| NHL | non-Hodgkinův lymfom |
| NK | natural killer |
| NRH | nodulární regenerativní hyperplázie |
| OS | overall survival, obecné přežití |
| PET/CT | pozitronová emisní tomografie |
| PFS | progression free survival, doba do progrese onemocnění |
| PID | primární imunodeficiencie |
| RR | risk ratio |
| RTX | rituximab |
| SCIG | subkutánní imunoglobuliny |
| SID | sekundární imunodeficiencie |
| SIR | standardized incidence ratio |
| Tfh | folikulární pomocné T lymfocyty |
| TKD | transplantace kostní dřeně |
| TLR | Toll-like-receptor |
| TNF | tumor necrosis factor |
| TP53 | tumor protein p53 |
| VZV | varicella zoster virus |
| XLA | X-vázaná agamaglobulinémie |
| ZAP 70 | zeta-chain-associated protein kinase 70 |

2. Úvod

Imunitní systém patří k základním homeostatickým mechanismům organismu. Jeho funkční model prošel během posledních let významným vývojem. Úvodní představa Franka M. Burneta a Franka Fennera z roku 1949 nazývaná „Self/non-Self“ rozpoznávání byla zpřesněna Charlesem Janewayem v roce 1989 a uveřejněna pod názvem „Infectious non-Self“ rozpoznávání [35,97]. Do centra pozornosti byla uvedena úloha antigen prezentujících buněk a jejich PRRs receptorů (Pattern Recognition Receptors) a jejich schopnosti rozpoznávat evolučně konzervované vzory, jako „Infectious/non-Self“. K významnému posunu pak došlo v roce 1994, kdy prof. Polly Matzinger představila svoji představu modelu nebezpečí „The Danger Model“. Tento zcela inovativní model klade imunitnímu systému základní úlohu rozpoznávat nebezpečí ve formě alarmujících signálů, které pocházejí z patogenů, buněk či tkání organismu, které jsou poškozené či podléhají stresu [127,128].

Imunodeficiency (ID) obecně jsou onemocnění, která vznikají v důsledku různě závažných poruch imunitního systému. V širším pojetí se jedná o velmi heterogenní skupinu onemocnění zahrnující zvýšenou náchylnost nejen k infekcím, ale také onemocněním alergickým, autoimunitním a v neposlední řadě i onkologickým. Svou povahou blízké autoimunitním jsou komplikace vznikající dysregulací imunitního systému. Hranice mezi nimi není ostrá.

Dle svého původu lze ID rozdělit na primární a sekundární.

Primární imunodeficiency (PID) představují skupinu více než 300 geneticky dobře definovaných vrozených poruch imunitního systému. S rozvojem diagnostických možností počet nově definovaných klinických jednotek každoročně narůstá. Hlavními fenotypovými znaky jsou infekce, malignity, alergie, autoimunitní onemocnění a autoinflamatorní komplikace, které se různou měrou prolínají dle typu defektu. Závažnost a klinická různorodost bývá závislá nejen na typu defektu, ale i na řadě dalších, ne zcela jednoznačně objasněných okolností [160]. Můžeme vedle sebe potkat pacienty se zcela náhodně zjištěnými imunodeficiency, které jsou kompenzovány natolik, že nečiní svému nositeli žádné obtíže. Na druhé straně jsou nemocní se závažnými formami PID, u kterých bez léčby dojde poměrně záhy k úmrtí. Řada nemocných vyžaduje nákladnou péči po celý život a onemocnění významným způsobem snižuje kvalitu jejich života.

Sekundární imunodeficiencie (SID) vznikají v důsledku jiných onemocnění a jejich léčby. Etiologicky se liší zastoupení ve státech rozvojových a vyspělých. Zatímco v rozvojových zemích převažují faktory nutriční a infekční (např. infekce virem HIV, tuberkulóza), v zemích vyspělých, kam řadíme i Českou republiku, převažují chronická onemocnění a jejich léčba. Počet postižených a nákladnost léčby každoročně narůstají. Optimalizace léčebného přístupu představuje důležitou výzvu i z hlediska socioekonomického.

Předložená práce, zaměřená na protilátkové imunodeficiencie, si klade za cíl uvést přehled základních diagnóz, jejich příčin, klinických projevů a léčebných přístupů. Snaží se poukázat na komplexnost problematiky přesahující obor klinické imunologie jako takové, nezbytnost soustředění nemocných s PID do specializovaných center, kde jsou k dispozici i další zkušenosti odborníci. Úlohu klinického imunologa, v pozici konziliáře, považují za nezastupitelnou v koordinaci péče o nemocné se SID a zejména v případech indikace substituční léčby imunoglobuliny.

Práce vychází z dlouholeté klinické práce předkladatelky, která se soustřeďuje na diagnostiku PID u dospělých. Zajišťuje komplexní péči nemocných s PID ve specializovaném centru. Práce je doložena publikovanými výsledky jejího klinicky orientovaného výzkumu.

3. Primární protilátkové imunodeficiencie

Humorální imunodeficiencie, které čítají více než jednu čtvrtinu všech PID^[134], obecně spojuje náchylnost k infekcím způsobeným bakteriemi. Klinicky se projevují po 6. měsíci věku, často až v dospělosti. Dominují infekce dýchacích cest (sinusitidy, bronchitidy či pneumonie) a trávicího ústrojí. U řady klinických jednotek bývá zvýšená náchylnost k autoimunitním/dysregulačním či alergickým komplikacím. Základem léčby jsou dle závažnosti onemocnění substituce imunoglobuliny a cílená antibiotická terapie.

3.1. Selektivní deficiencie imunoglobulinu IgA

Selektivní deficiencie IgA (IgAD) je u jedinců starších 4 let definována sérovými koncentracemi IgA nižšími než 0,07 g/l při současných koncentracích IgG a IgM nevybočujících z referenčního rozmezí, u, při vyloučení všech možných sekundárních příčin^[40]. Jedná se o nejpočetnější primární humorální imunodeficienci v bělošské populaci s odhadovanou prevalencí výskytu cca 1:600 s jistou variabilitou mezi různými etnickými

skupinami [224]. U části nemocných se může pojit i s deficiencí podtříd IgG či postupem času přecházet do běžné variabilní imunodeficiency (CVID) [8].

Velká část pacientů bývá klinicky asymptomatických. Jindy se může onemocnění projevovat recidivujícími infekcemi dýchacích cest a gastrointestinálního traktu [121]. Bývá nacházena i asociace s alergickými [99] či autoimunitními [119] komplikacemi.

IgAD představuje komplexní onemocnění. Doposud nebyl definován jednoznačný genetický základ. Až 45 % nemocných jsou nositeli dědičného haplotypu HLA A1-B8-DR3-DQ2 ve srovnání s běžnou populací [135]. Tento haplotyp HLA, uložený na krátkém raménku 6. chromozómu, který je vysoce konzervovaný, je dáván do souvislosti s abnormálním cytokinovým profilem, zvýšenou produkcí TNF α , vyšší tvorbou autoprotilátek a imunokomplexů a tím vyšší pravděpodobností vzniku autoimunitních onemocnění [36]. S IgAD jsou dále spojovány haplotypy HLA-DR-7, DQ2, DR1 a DQ5, zatímco haplotypy DR15 a DQ6 se zdají být protektivními [56,96]. Asociace je nacházena i s některými non-MHC geny, např. IFIH1 či CLEC16A [56].

Patogenetickým znakem IgAD je neschopnost diferenciací B lymfocytů do plazmatických buněk schopných produkce IgA. Pomocí průtokové cytometrie lze na základě počtu izotopově přesmyknutých paměťových B lymfocytů, CD27+IgD- odlišit dvě podskupiny nemocných. Pacienti s jejich nízkým počtem vykazují více klinických známek zahrnujících pneumonie, autoimunitní komplikace či bronchiektázie [139].

Švédská studie z roku 2014 čítající 2100 nemocných s IgAD poukazuje na zvýšený výskyt celiakie (35krát), diabetu I. typu (10krát) vůči zdravé populaci. Současně byla zaznamenána statisticky významně zvýšená prevalence idiopatické juvenilní artritidy, systémového lupus erythematoses, idiopatických střevních onemocnění (IBD), onemocnění štítné žlázy i revmatoidní artritidy [119]. Je popsáno i mírně zvýšené riziko nádorů trávicího traktu 61/10000 pacient/roků, v. s. 47/10000 pacient/roků), hazard ratio HR = 1,64; 95% spolehlivost = 1,07-2,5 [120].

Při diagnostice autoimunitních komplikací je nutné zohlednit skutečnost, že nemocní nejsou schopni tvořit protilátky v třídě IgA, a proto vždy přihlížíme k výsledkům v třídě IgG obecně. Např. IgG protilátky proti tkáňové transglutamináze (anti-TTG) a deaminovanému gliadinovému peptidu (anti-DGP) patří mezi základní laboratorní ukazatele potenciální přítomnosti celiakie u IgAD jedinců. Protilátky třídy IgG anti-TTG pravděpodobně vykazují vyšší specificitu než protilátky anti-DGP

[223].

U některých nemocných lze detekovat také protilátky třídy IgG namířené proti IgA. Tito nemocní mohou být ohroženi rozvojem anafylaktické reakce při podání erytrocytárního koncentrátu, plazmy či jejích derivátů, které obsahují jisté množství imunoglobulinu A. Pravděpodobnost reakce nebývá úměrná titru anti-IgA protilátek [88]. Léčebně je doporučováno u elektivních výkonů využít možnost autotransfúze, či propraných erytrocytů [32]. V případě nezbytnosti podání imunoglobulinů je vhodnější zvolit podkožní cestu podání, která je méně riziková z hlediska vzniku celkové nežádoucí reakce.

Specifická léčba IgAD není dostupná. Dle obecně doporučených postupů na prvním místě léčíme komplikující onemocnění. V případě recidivujících infekcí podáváme cíleně antibiotickou terapii, v některých případech lze využít dlouhodobou profylaxi. Užití bakteriálních lyzátů je stále diskutováno. Chybí údaje o bezpečnosti použití imunomodulačních prostředků u nemocných s potenciálně zvýšeným rizikem autoimunitních onemocnění. V těchto případech je nezbytné postupovat ryze individuálně. U nemocných, kde se pojí IgAD s deficiencí podtříd IgG či poruchou tvorby specifických protilátek, lze u symptomatických nemocných zvážit substituční léčbu imunoglobuliny.

3.2. Selektivní deficiencie podtříd IgG

Je diagnostikován u osob starších 7 let, trpících závažnými infekcemi, se sérovými koncentracemi IgA a IgM nevybočujícími z referenčního rozmezí a současně se hodnoty nejméně dvou podtříd IgG1-3 nacházejí pod 5. percentilem věkově odpovídající normy. Celkové IgG může být zcela v normě. Koncentrace podtříd IgG obvykle nekorelují s klinickým stavem pacientů. Léčebně přichází v úvahu substituční léčba imunoglobuliny v závislosti na závažnosti klinických projevů [3,106,148].

3.3. Selektivní deficiencie specifických protilátek

V některých případech může jít o izolovanou poruchu tvorby specifických protilátek. Diagnóza je postavena na průkazu chabé vakcinační odpovědi, obvykle proti polysacharidovým antigenům, která bývá spojena s chyběním či snížením podtřídy IgG2 zahrnující většinu protilátek reagujících s bakteriálními polysacharidy. Z tohoto důvodu je vhodné následně provést očkování vakcínami, kde je polysacharidový antigen konjugován na proteinový nosič. V případě častých či závažných infekcí je indikována substituční léčba imunoglobuliny [5,38,117].

3.4. Selektivní deficiencie IgM

Selektivní deficiencie IgM představuje ne zcela jednoznačně definovanou klinickou jednotku s nejasnou patogenezí a významem.

Tuto problematiku jsme zpracovali v následující publikaci:

Chovancová Z, **Králíčková P**, Pejchalová A, Bloomfield M, Nechvátalová J, Vlková M, Litzman J. Selective IgM Deficiency: Clinical and Laboratory Features of 17 Patients and a Review of the Literature. J Clin Immunol 2017 Aug; 37(6): 559-574. **IF=4,227**


3.5. Neklasifikovaná imunodeficiencie

I na nemocné, kteří jednoznačně nenaplnují výše uvedená kritéria klinických jednotek, se v současné době soustřeďuje klinický výzkum. Naše centrum se podílí na projektu „Unclassified Antibody Deficiency in the European Society for Immunodeficiencies (ESID) Registry (unPAD) study“.

Prvním výstupem projektu je publikace:

Janssen LMA, van Hout RWNM, de Vries E; SIMcal consortium (Pignata C, Cirillo E, Arkwright PD, Lougaris V, Buckland M, Garcia-Prat M, Soler-Palacin P, Ouederni M, **Kralickova P**, Abolhassani H, Hammerstrom L, Aghamohamamdi A, Santos-Pérez JL, Sobh A, van de Werff Ten Bosch J, Henriët S, Kilic SS, Karali Y, Gonzalez-Granado LI, Sediva A.). Challenges in investigating patients with isolated decreased serum IgM - The SIMcal study. Scand J Immunol 2019 Mar 18: e12763. doi: 10.1111/sji.12763. [Epub ahead of print] **IF=2,314**

Challenges in investigating patients with isolated decreased serum IgM: The SIMcal study

Lisanne M. A. Janssen^{1,2} | Roeland W. N. M. van Hout³ | Esther de Vries^{1,4}  | The SIMcal Consortium*

¹Department of Tranzo, Tilburg University, Tilburg, the Netherlands

²Department of Pediatrics, Amalia Children's Hospital, Nijmegen, the Netherlands

³Centre for Language Studies, Radboud University Nijmegen, Nijmegen, the Netherlands

⁴Laboratory for Medical Microbiology and Immunology, Elisabeth Tweesteden Hospital, Tilburg, the Netherlands

Correspondence

Esther de Vries, Department of Tranzo, Tilburg University, Tilburg, the Netherlands.

Email: e.devries@tilburguniversity.edu

Abstract

The clinical consequences of isolated decreased serum immunoglobulin (Ig)M are not sufficiently known. Therefore, it is difficult to determine the clinical policy following such a finding. Only few reported IgM-deficient patients fulfil the European Society for Immunodeficiencies (ESID) diagnostic criteria for selective IgM deficiency (true sIgMdef), or their diagnosis is uncertain due to insufficient laboratory data (possible sIgMdef). Decreased serum IgM is often incidentally found in asymptomatic adults. The objective of our study was to further characterize true sIgMdef and to compare the European data collected through the ESID Registry community (tertiary centres) to our previously published Dutch cohort (secondary centre). Fifteen centres (12 countries) participated with 98 patients. Patients were excluded if serum IgM was only determined once ($n = 14$), had normalized ($n = 8$), or if they also had other immunological abnormalities ($n = 15$). Ten patients (5 adults) completely fulfilled the ESID criteria for true sIgMdef. Age-matched cut-off values varied widely between centres; when using the ESID diagnostic protocol reference values, only six patients (five adults) had true sIgMdef. Because of these small numbers, further analyses were performed in patients with true or possible sIgMdef (13 adults, 48 children). Respiratory infections were commonly reported at presentation (adults 54%, children 60%). Symptomatic adults had lower serum IgM levels (mean 0.27 g/L, 95% CI 0.22-0.31) than those without symptoms (mean 0.33 g/L, 95% CI 0.30-0.36; $P = 0.02$). To be able to explore the clinical consequences of true sIgMdef, we should fully analyse and accurately describe those patients in whom a decreased serum IgM is found.

1 | INTRODUCTION

The clinical consequences of isolated decreased serum immunoglobulin (Ig)M levels are not sufficiently known. Clinicians struggle with what they should do with such a finding. IgM

deficiency has mainly been studied in tertiary centre cohorts, where a variety of clinical manifestations have been linked with decreased serum IgM levels, including severe or recurrent infections, atopy, autoimmunity and malignancy.¹ Only small cohorts of IgM-deficient patients have been described

*The SIMcal consortium members shown in Appendix 1.

This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs License, which permits use and distribution in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non-commercial and no modifications or adaptations are made.

© 2019 The Authors. *Scandinavian Journal of Immunology* published by John Wiley & Sons Ltd on behalf of The Foundation for the Scandinavian Journal of Immunology.

so far.^{2,3} In 2006, the largest study to date was published, reporting data from 36 patients.¹⁴ The reported patients are almost always symptomatic and most of them presented with infections.¹ We recently showed in a secondary centre population that decreased serum IgM levels can often incidentally be found in asymptomatic adults.¹⁵ The determination of the clinical significance of sIgMdef is not only challenged by the rarity and highly variable phenotype of this primary immunodeficiency, but also by the different criteria for “selective IgM deficiency” that are used in the literature.^{5,6,14,16} ESID has defined primary selective immunoglobulin(Ig)M deficiency (sIgMdef) as a decreased serum IgM level (repeatedly ≥ 2 SD below the mean for age) with normal levels of serum IgA, IgG and IgG subclasses, normal vaccination responses, absence of T cell defects and absence of causative external factors (<http://www.esid.org>). When these criteria are completely fulfilled, we refer to this condition as “truly selective primary IgM deficiency” (*true* sIgMdef), albeit we consider the absence of *clinical* signs suggesting a T cell defect a sufficient criterion. Only six of 261 (2%) patients described in the literature with “IgM deficiency” completely fulfil the defined criteria for true sIgMdef.¹⁵ For many reported patients, the diagnosis is either uncertain, which means that the ESID criteria are not fulfilled completely because data on IgG subclasses and/or vaccination responses are lacking (we refer to the latter as “possible sIgMdef”),¹⁵ or their IgM deficiency is not selective, because other antibody abnormalities are present; these cases fit the ESID classification “unclassified primary antibody deficiency” (*unPAD*).^{3,6,17}

A larger cohort of *true* sIgMdef patients is needed to further explore the clinical consequences. Therefore, we initiated this multi-centre observational cohort study using the ESID online database. We also compared these European data (tertiary centres) to our previously published Dutch cohort (secondary centre).¹⁵

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 | Patient identification and recruitment

Email messages with the proposal to participate in the SIMcal study were sent out to all members of ESID to identify as many patients known to ESID members as possible with sIgMdef. Fifteen centres agreed to participate. Of these, 11 centres had registered their patients in the ESID online database.¹⁸ The four centres not connected to the ESID online database also joined the SIMcal study. All patients documented by the participating centres to have sIgMdef were eligible for analysis. Only the patients with possible and true primary sIgMdef were analysed in detail (for definitions, see introduction). In all cases, patients had given informed consent for analysis of their data. The Medical Ethical Committee Brabant approved the SIMcal study.

2.2 | Data collection

The development, ongoing management and technical database structure of the ESID online database were described previously.¹⁸ All participating centres entered their data in the study questionnaire, providing available demographic and clinical data (gender, date of birth, country of residence, age at diagnosis, date of diagnosis, presenting history, conditions during follow-up, pathogens, familial cases, consanguinity), as well as laboratory test results (serum IgM, IgG, IgA and IgE levels, IgG subclasses, T cell subsets and function, antibody responses to vaccinations, isohemagglutinin levels, anti-nuclear antibodies (ANA) and specific IgE directed against inhalant allergens), treatment (antibiotics, immunoglobulin substitution) and follow-up period (date of the first serum sample with decreased IgM until the date of data extraction). The answers to the questionnaires were encrypted and saved on a protected server using Research Manager software developed by Cloud9 Health Solutions (Deventer, the Netherlands). For interpretation of serum immunoglobulin levels, centre-specific age-matched reference values were used. Almost all centres used immunonephelometric or immunoturbidimetric techniques (14 out of 15); in one centre, radial immunodiffusion was used (Egypt). The method of data collection for the 42 adults with true or possible sIgMdef from the secondary centre has been described before.¹⁵

2.3 | Statistical analysis

Frequency data were analysed with chi-square analysis, and the Fisher exact test when expected cell values were lower than 5. Measurement data were expressed as means with standard deviations (SD) and confidence intervals (CI). Differences in measurements were tested with t test (Welch's t test when the variances are unequal) and ANOVA. The statistical software package used was IBM SPSS statistics version 24.

3 | RESULTS

Data from 98 patients were reported from 15 centres in 12 different countries. Thirty-seven patients (37%) were excluded: 14 because serum IgM level was only determined once, 8 because serum IgM level had normalized, and 15 because other immunological abnormalities were also present (these patients fulfilled the criteria for unPAD).

Of the remaining 61 patients, only 10 fulfilled the ESID criteria for true sIgMdef (5 adults, 5 children), and 51 had possible sIgMdef (8 adults, 43 children) when using the age-matched cut-off values for serum IgM used by the reporting centre. In those with possible sIgMdef, the following

immunological laboratory investigations were not determined: pneumococcal vaccination responses (0 adults and 20 children), IgG subclasses (1 adult, 0 children) or both (7 adults and 23 children). Cut-off values varied widely between centres (Figure 1). When ESID diagnostic protocol cut-off values for serum IgM were used,¹⁹ only 6 patients (5 adults, 1 child) had true sIgMdef, and 8 had possible sIgMdef (6 adults and 2 children).

3.1 | Children

Analyses were done for the total group of children with possible or true primary sIgMdef (n = 48). Most children were reported from Turkey (n = 24), followed by Italy (n = 11), Tunisia (n = 4), Belgium (n = 3), Iran (n = 3), the Netherlands (n = 1) and Spain (n = 2). The mean age at the date of the first serum sample with decreased serum IgM in this possible/true sIgMdef cohort was 7 years (range 0–17 years). Mean follow-up time was 54 months (range 0–162 months). Boys predominated (79%), but there was a significant association between country and gender (Fisher's exact test, two-sided, $P = 0.002$). The numbers of children in the various countries were too small to draw reliable conclusions from the gender data (Figure 2). Consanguinity was present in six patients (13%, n = 2 male), absent in 39 (81%, n = 35 male) and not reported in three (6%, n = 1 male). These patients from consanguineous families were reported by Iran (2 out of 3), Italy (2 out of 11) and Turkey (2 out of 24). Familial cases were present in three patients (6%; 2 from

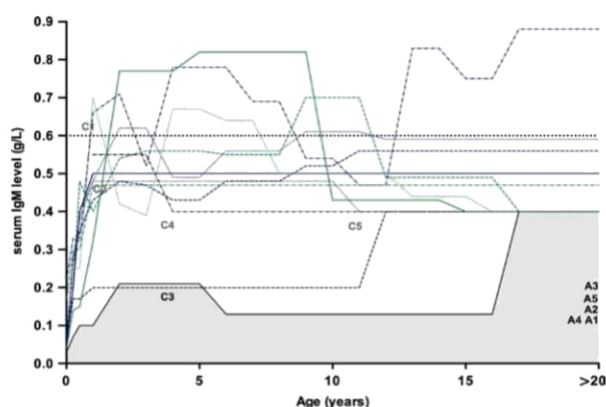


FIGURE 1 Centre-specific age-matched cut-off values of serum IgM (g/L). Each line represents the lower limit of normal for serum IgM used by a centre. The grey area represents serum IgM levels which are decreased according to the ESID diagnostic protocol values.¹⁹ The first serum IgM levels of the ten patients with true sIgMdef according to centre-specific cut-off values are plotted (C1,2,4 from Belgium; C3 from Iran; C5, A3 from the Netherlands; A1,2,4,5 from the Czech Republic). Of these, four patients were excluded when ESID diagnostic protocol values were used (shown in grey). ESID, European Society for Immunodeficiencies; sIgMdef, selective IgM deficiency

Iran, 1 from Italy), absent in 42 (81%) and not reported in three (6%).

Recurrent respiratory infections were the most commonly reported manifestation (n = 29; 60%). Other infectious manifestations included mycobacterial adenitis, skin infections and bilateral pneumonia with an abscess. Atopic manifestations occurred in 11 children (21%), including eczema, food allergy and asthma. An autoimmune manifestation occurred in 1 child (2%), more specific information was not available in the database. The first serum IgM level ranged from 0.12 to 0.62 g/L (mean 0.35 g/L). In the majority of the children, IgM levels were not decreased according to the ESID diagnostic protocol values; none had undetectable levels of serum IgM (Figure 3A). Analysis of variance showed a significant effect for differences in serum IgM levels between countries ($F = 5.858$, $P = 0.001$, partial $\eta^2 = 0.417$, Figure 3B). Especially in Belgium, serum IgM values were higher and in Tunisia and Iran lower, but due to the low number of patients reported by these countries, it is difficult to interpret these results. Mean serum IgM levels were higher in males than in females (mean 0.37 versus 0.26 g/L; $t(12.208) = 2.697$, $P = 0.02$), but when the variation between countries was taken into account, this difference was no longer significant (two-way ANOVA; $F(1,37) = 2.038$, $P = 0.1$). Serum IgE levels were determined in 25 children (mean 184 U/mL, range 3–1225); they were elevated (>90 U/mL) in 11 children (44%). Specific IgE to ≥ 1 inhalant allergen were positive in 8/16 children (50%). Isohemagglutinin titres (anti-A and anti-B antibodies in the IgM class) were determined in 23 children, and low in two. Lymphocyte subsets were performed in 30 children (Table 1A). Three children (6%) were treated

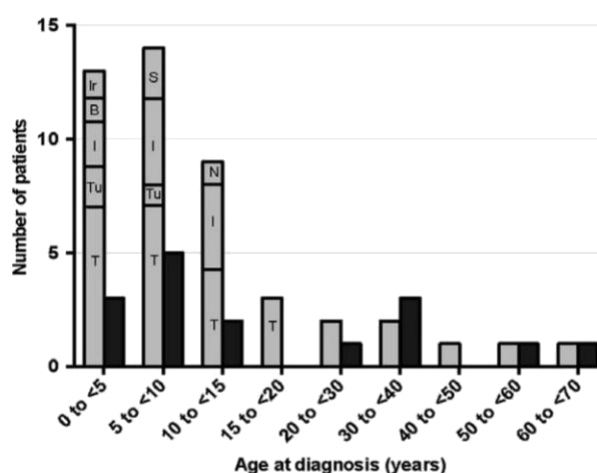


FIGURE 2 Gender distribution per age group in the patients with possible and true sIgMdef. Light grey, male; dark grey, female. The number of children reported per country is shown for the male children. T, Turkey; Tu, Tunisia; I, Italy; B, Belgium; Ir, Iran; S, Spain; N, The Netherlands

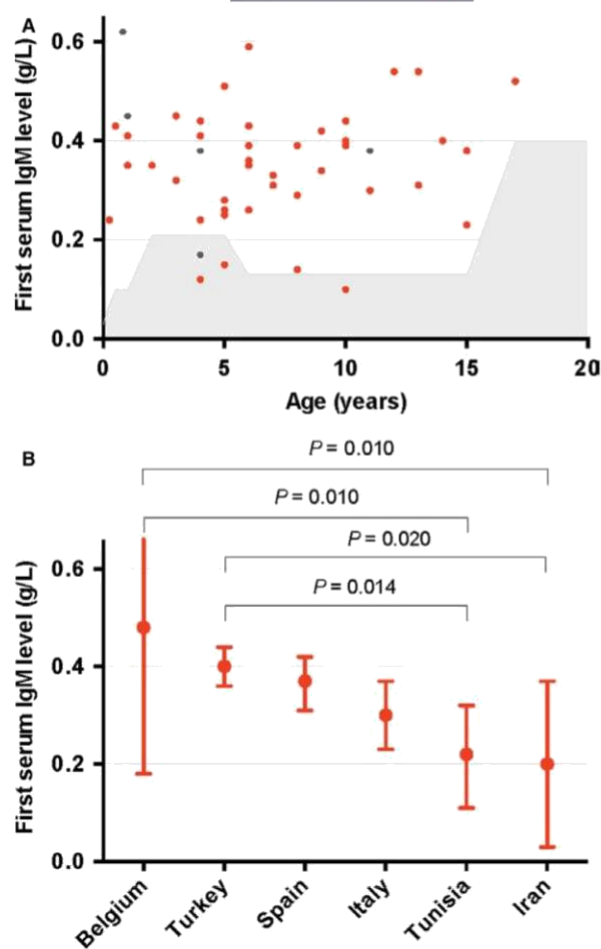


FIGURE 3 First serum IgM levels in the children from the tertiary centre cohort. A. The first serum IgM levels (y-axis) and age at the date of the first serum sample (x-axis). The grey dots represent the five children with true sIgMdef, and the red dots the 43 children with possible sIgMdef. The grey area in the graph represents decreased IgM levels according to the ESID diagnostic protocol values [18]. B. Mean first serum IgM levels + 95% CI in the different countries. sIgMdef, selective IgM deficiency

with intravenous immunoglobulins (IVIg), and 10 (21%) with prophylactic antibiotics.

Clinical manifestations of the children with true sIgMdef are described separately in Table 1B (see Table S1 for more details on all the children, and Table S2 for a comparison between the Turkish children (largest group) and the children from the other countries).

3.2 | Adults

Thirteen adults (7 males) with true or possible sIgMdef were reported from Turkey (n = 4), Czech Republic (n = 4), the Netherlands (n = 3) and the United Kingdom (n = 2). The mean age at the date of the first serum sample with decreased

IgM was 40 years (range 21–63 years). Mean follow-up time was 64 months (range 4–144 months). None of the adults had a family history of immunodeficiency (unknown in one) or consanguinity.

Clinical manifestations of the adults with true sIgMdef are described in Table 2A (for details on all the adults, see Table S1). Increased susceptibility to infections, especially involving the respiratory tract, occurred most often (n = 7). Other reported infectious manifestations included hepatitis B, meningococcal sepsis and recurrent herpes simplex virus (HSV) encephalitis. Atopic manifestations occurred in two adults, including atopic dermatitis and allergic rhinitis. Autoimmune manifestations occurred in three (Sjögren's disease, alopecia, coeliac disease). The first serum IgM level ranged from 0.10 to 0.62 g/L (mean 0.27 g/L). Serum IgE levels were determined in five adults (mean 109 U/mL, range 4–410); they were elevated (>90 U/mL) in two. Isohemagglutinin titres were determined in four adults, and low in one. Lymphocyte subsets were performed in nine patients (Table 2B), all fell within the normal range. None of the adults were treated with IVIg, and three (23%) were treated with prophylactic antibiotics.

3.3 | Comparison between the tertiary and secondary centre cohorts of adult patients

We first compared the 13 adults with true or possible sIgMdef from this tertiary centre cohort with the 42 adults with true or possible sIgMdef from the secondary centre cohort we previously published.¹⁵ These two cohorts differ in the type of population from which the data were collected (general hospital versus specialised medical centres) and in the way of collecting the data (analysing all laboratory data with decreased serum IgM vs only analysing patients reported as diagnosed with IgM deficiency by an immunologist). Given this different patient selection process, further immunological analyses were as expected more often performed in the tertiary centre cohort: repeated measurements of serum IgM in 86% vs 14% (Fisher's exact test, $P < 0.001$), measurements of IgG subclasses in 92% vs 14% (Fisher's exact test, $P < 0.001$) and pneumococcal vaccination responses in 42% vs 7% (Fisher's exact test, $P = 0.003$). Not only in the previously described secondary centre cohort, but also in this tertiary centre cohort, few patients can be classified as *true* sIgMdef (Figure 4). In contrast to the tertiary centre cohort, adults in the secondary centre cohort were often asymptomatic. The first serum IgM levels were significantly higher in the secondary centre cohort (mean 0.30 g/L, 95% CI 0.28–0.33) compared to the tertiary centre cohort (mean 0.27 g/L, 95% CI 0.17–0.37, $P = 0.01$; Figure 5A).

Second, comparisons were made between three groups: (a) symptomatic adults from the tertiary centres (n = 13), (b) symptomatic adults from the secondary centre (n = 18)

TABLE 1 Children. A, Lymphocyte subsets in children with true (n = 5) or possible sIgMdef (n = 25). B, Clinical manifestations of the children with true sIgMdef (n = 5)

| Patient | Age ^a (years) | CD3 + T cells ×10 ⁹ /L | % | CD4 + T cells ×10 ⁹ /L | % | CD8 + T cells ×10 ⁹ /L | % | CD19 + B cells ×10 ⁹ /L | % | CD3-CD16 + CD56+ NK cells ×10 ⁹ /L | % |
|------------------|---------------------------------|-----------------------------------|----|-----------------------------------|----|-----------------------------------|----|------------------------------------|----|---|----|
| A | | | | | | | | | | | |
| True sIgMdef | | | | | | | | | | | |
| C1 | 0 ^b | 2.5 | | 1.2 | | 1.2 | | 0.7 | | 0.2 | |
| C2 | 1 | 3.8 | | 2.4 | | 1.3 | | 2 | | 0.4 | |
| C3 | 4 | | 45 | | 33 | | 11 | | 33 | | 17 |
| C4 | 4 | 1.8 | | 0.9 | | 0.8 | | 0.7 | | 0.24 | |
| C5 | 11 | 1.6 | | 0.8 | | 0.6 | | NA | | NA | |
| Possible sIgMdef | | | | | | | | | | | |
| C6 | 0 ^c | | 70 | | 25 | | 42 | | 24 | | 7 |
| C7 | 0 ^d | | 64 | | 36 | | 24 | | 28 | | 8 |
| C9 | 1 | | 67 | | 39 | | 25 | | 21 | | 7 |
| C10 | 2 | | 58 | | 28 | | 22 | | 21 | | 15 |
| C13 | 4 | 1.9 | | 1.0 | | 0.8 | | 0.2 | | 0.2 | |
| C17 | 5 | | 75 | | 53 | | 21 | | 15 | | 9 |
| C18 | 5 | | 72 | | 47 | | 23 | | 22 | | 5 |
| C20 | 5 | | 63 | | 38 | | 21 | | 16 | | 16 |
| C22 | 5 | | 90 | | 52 | | 38 | | 3 | | 11 |
| C23 | 5 | | 81 | | 49 | | 26 | | 13 | | 6 |
| C26 | 6 | | 75 | | 30 | | 34 | | 13 | | 10 |
| C28 | 6 | | 75 | | 31 | | 38 | | 14 | | 7 |
| C29 | 7 | 1.9 | | 1.0 | | 0.7 | | 0.5 | | 0.36 | |
| C31 | 8 | | 78 | | 58 | | 17 | | 9 | | 12 |
| C32 | 8 | | 73 | | 36 | | 34 | | 15 | | 10 |
| C33 | 8 | | 79 | | 39 | | 34 | | 11 | | 9 |
| C34 | 9 | | 57 | | 35 | | 12 | | 13 | | 24 |
| C36 | 10 | | 80 | | 51 | | 25 | | 12 | | 8 |
| C37 | 10 | | 58 | | 26 | | 30 | | 16 | | 18 |
| C38 | 10 | | 73 | | 43 | | 27 | | 15 | | 12 |
| C39 | 10 | | 68 | | 43 | | 23 | | 16 | | 14 |
| C40 | 11 | | 73 | | 31 | | 29 | | 17 | | 10 |
| C41 | 11 | | 73 | | 38 | | 17 | | 7 | | 16 |
| C47 | 15 | | 76 | | 30 | | 43 | | 9 | | 15 |
| C48 | 17 | | 77 | | 39 | | 29 | | 7 | | 15 |
| B | | | | | | | | | | | |
| Patient | Age ^a (years)/gender | Clinical manifestations | | Familial cases | | First and last serum IgM (g/L) | | Treatment | | Follow-up period (months) | |
| C1 | 0/M | Recurrent pneumonia | | No | | 0.62 ^c , 0.39 | | IVIG + AB | | 105 | |
| C2 | 1/M | Recurrent ENT infections | | n.r | | 0.45, 0.22 | | AB | | 30 | |

(Continues)

TABLE 1 (Continued)

| Patient | Age ^a (years)/ gender | Clinical manifestations | Familial cases | First and last serum IgM (g/L) | Treatment | Follow-up period (months) |
|---------|-------------------------------------|---|-------------------|--------------------------------------|-----------|------------------------------|
| C3 | 4/F | Complicated atypical mycobacterial adenitis, recurrent respiratory infections | Yes | 0.17, 0.10 | AB | 42 |
| C4 | 4/F | Atopic dermatitis, eczema, food allergy, asthma, warts | No | 0.38, 0.38 | IVIG | n.r |
| C5 | 11/F | Severe eczema | n.r | n.r, 0.38 | none | 162 |

Reference ranges from: Schatorjé et al Scand J Immunol 2011;74(5):502-10.³⁵

AB, prophylactic antibiotics; C, child; ENT, ear-nose-throat; F, female; IgM, immunoglobulin M; IVIG, intravenous immunoglobulins; M, male; n.r, not reported; sIgMdef, selective IgM deficiency.

^aAge at first sample collection.

^b8 months.

^c6 months.

^d7 months.

^eThis serum IgM level is decreased according to the age-matched reference values used by this centre.

TABLE 2 Adults. A, Clinical manifestations of the adults with true sIgMdef (n = 5). B, Lymphocyte subsets in adults with true (n = 5) or possible sIgMdef (n = 4)

| Patient | Age ^a (years)/ gender | Clinical manifestations | Familial cases | First and last serum IgM (g/l) | Treatment | Follow-up period (months) | | | | |
|------------------|--|--|--|-----------------------------------|--|------------------------------|---|----|---|----|
| A | | | | | | | | | | |
| A1 | 36/F | Atopic dermatitis, allergic rhinitis, sinusitis | No | 0.10, 0.10 | None | 38 | | | | |
| A2 | 38/F | Bronchitis, nasopharyngitis, chronic hepatitis B | No | 0.14, 0.12 | None | 70 | | | | |
| A3 | 50/F | Bronchiectasis, coeliac disease, fatigue, recurrent respiratory infections | No | 0.20, 0.37 | AB | 67 | | | | |
| A4 | 55/M | Vertebral pain syndrome | No | 0.10, 0.10 | None | 39 | | | | |
| A5 | 63/F | Sjögren's syndrome, alopecia, multiple lung cysts, fatigue | No | 0.16, 0.14 | None | 101 | | | | |
| Patient | CD3 ⁺ T cells ×10 ⁶ /L | % | CD4 ⁺ T cells ×10 ⁶ /L | % | CD8 ⁺ T cells ×10 ⁶ /L | % | CD19 ⁺ B cells ×10 ⁶ /L | % | CD3-CD16 ⁺ CD56 ⁺ NK cells ×10 ⁶ /L | % |
| B | | | | | | | | | | |
| True sIgMdef | | | | | | | | | | |
| A1 | 0.9 | | 0.6 | | 0.3 | | 0.2 | | 0.12 | |
| A2 | 1.3 | | 0.9 | | 0.4 | | 0.4 | | 0.68 | |
| A3 | 2.0 | | 1.5 | | 0.6 | | 0.1 | | 0.20 | |
| A4 | 1.7 | | 1.0 | | 0.6 | | 0.6 | | 0.22 | |
| A5 | 0.8 | | 0.5 | | 0.3 | | 0.3 | | 0.19 | |
| Possible sIgMdef | | | | | | | | | | |
| A7 | | 70 | | 39 | | 27 | | 13 | | 13 |
| A10 | 2.0 | | 0.9 | | 1.0 | | 0.2 | | 0.10 | |
| A12 | | 79 | | 47 | | 29 | | 10 | | 10 |
| A13 | 1.3 | | 0.9 | | 0.4 | | 0.1 | | 0.12 | |

Reference ranges from: Schatorjé et al Scand J Immunol 2011;74(5):502-10.³⁵

A, adult; AB, prophylactic antibiotics; F, female; IgM, immunoglobulin M; M, male; sIgMdef, selective IgM deficiency.

^aAge at first sample collection.

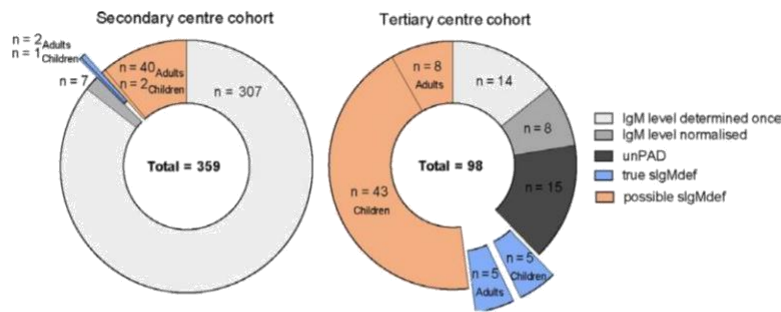


FIGURE 4 Classification of patients with decreased serum IgM in the tertiary ($n = 98$) and secondary ($n = 359$) centre cohorts. Abbreviations: sIgMdef, selective IgM deficiency; unPAD, unclassified primary antibody deficiency

and (c) asymptomatic adults from the secondary centre ($n = 24$) (Table 3). The mean age at diagnosis was significantly higher in patients without symptoms that could be related to antibody deficiency (mean 65 years, 95% CI 60-70) compared to those with symptoms from the secondary centre (mean 56 years, 95% CI 49-64) and tertiary centres (mean 40 years, 95% CI 31-49; $P < 0.01$). We evaluated the mean first serum IgM levels in the different clinical manifestations (Figure 5B). Two symptoms, autoimmunity and fatigue, showed a significant difference, the patients with the symptoms having lower IgM levels

(autoimmunity $n = 6$, mean 0.21 g/L, 95% CI 0.09-0.33; no autoimmunity $n = 49$, mean 0.30 g/L, 95% CI 0.27-0.33; $t(53) = -2.137$, $P = 0.037$; fatigue $n = 9$, mean 0.22 g/L, 95% CI 0.16-0.29; no fatigue $n = 46$, mean 0.31 g/L, 95% CI 0.27-0.34; $t(53) = -2.265$, $P = 0.03$). When combining all symptoms that could be related to antibody deficiency, adults with these symptoms ($n = 31$) had significantly lower IgM levels compared to adults without these symptoms ($n = 24$) (mean 0.27 g/L, 95% CI 0.22-0.31 vs mean 0.33 g/L, 95% CI 0.30-0.36; $t(47.094) = 2.353$, $P = 0.02$, Figure 5C).

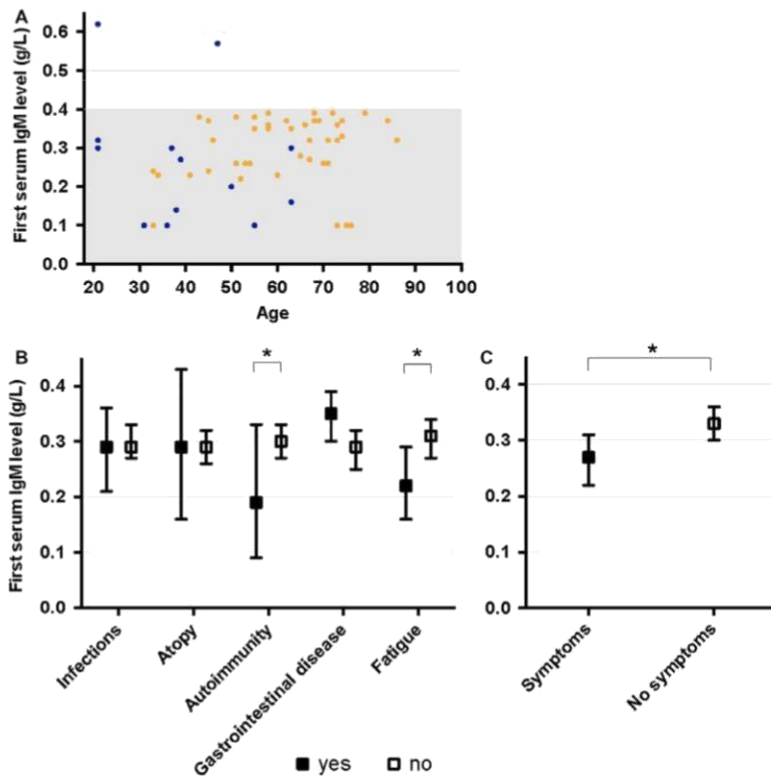


FIGURE 5 First serum IgM levels in the adults from the tertiary and secondary centre cohorts. Tertiary centre cohort $n = 13$, blue; secondary centre cohort $n = 42$, yellow. The first serum IgM levels (y-axis) and age at the date of first serum sample (x-axis) (A). The grey area in the graph represents decreased IgM levels according to the ESID diagnostic protocol values [18]. Mean first serum IgM levels + 95% CI (g/L) in the different clinical manifestations of adults from both tertiary and secondary centres (B), and in those with ($n = 30$) and without ($n = 25$) symptoms that could be related to antibody deficiency (C). *Two-sided t test; $P < 0.05$

TABLE 3 Clinical and laboratory features of the adults with true or possible sIgMdef

| | Tertiary centre symptomatic (n = 13) | Secondary centre symptomatic (n = 18) | Secondary centre asymptomatic ^a (n = 24) | P value |
|-----------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|---|--------------------|
| Age ^b , years (95% CI) | 40 (31-49) | 56 (49-64) | 65 (60-70) | <0.01 [*] |
| Males, n (%) | 7 (54) | 11 (61) | 12 (50) | 0.79 [#] |
| Follow-up period, months (95% CI) | 64 (36-92) | 68 (52-84) | 80 (65-95) | 0.41 [*] |
| Clinical manifestation(s), n (%) | | | | |
| Infectious manifestations | 7 (54) | 9 (50) | 0 (0) | <0.01 [#] |
| Atopic manifestations | 2 (15) | 5 (28) | 0 (0) | 0.02 [#] |
| Autoimmune manifestation | 3 (23) | 1 (6) | 0 (0) | 0.05 [#] |
| Gastrointestinal disease | 2 (15) | 2 (11) | 3 (12) | 1.00 [#] |
| Long-lasting fatigue | 3 (23) | 5 (28) | 1 (4) | 0.09 [#] |
| First IG levels, g/L (95% CI) | | | | |
| Serum IgM | 0.27 (0.17 - 0.37) | 0.27 (0.22-0.31) | 0.33 (0.30-0.36) | 0.11 [*] |
| Serum IgG | 12.1 (11.5-13.6) | 10.5 (9.5-11.4) | 10.7 (9.9-11.5) | 0.09 [*] |
| Serum IgA | 2.4 (1.8-3.0) | 2.7 (1.9-3.5) | 2.9 (2.2-3.6) | 0.63 [*] |
| Treatment, n (%) ^c | | | | |
| Prophylactic antibiotics | 3 (23) | 0 (0) | 0 (0) | 0.01 [#] |

Tertiary centre cohort (n = 13), and symptomatic (n = 18) and asymptomatic (n = 24) secondary centre cohort.

CI, confidence interval; IG, immunoglobulin.

^aThis means no symptoms potentially related to antibody deficiency were present.

^bAge at first sample collection.

^cNone of the adults were treated with immunoglobulins.

*ANOVA.

[#]Fisher's exact test.

4 | DISCUSSION

When isolated decreased serum IgM levels are repeatedly found in a patient, clinicians are confronted with a dilemma. To date, it is not clear what the clinical consequences of such a finding are, and whether and if so how such patients should be treated. The results of our study underline these challenges. Not only in our previously published secondary centre cohort,¹⁵ but also in this tertiary centre cohort as well as in other cohorts in the literature,^{5-7,14} only few patients with decreased serum IgM levels have *true* sIgMdef. This condition is probably very rare.

However, the adults with more severely decreased serum IgM levels were more likely to be younger and to be symptomatic. This information can help in interpreting the clinical significance when an isolated decreased serum IgM level is discovered. While just below normal values tend to have little clinical meaning, we suggest that lower cut-off values than the current "two standard deviations (SD) below the mean" probably distinguish the clinically relevant category of patients. We propose to develop a classification for sIgMdef similar to the one previously developed for selective IgA deficiency. This classification distinguishes selective IgA deficiency (serum IgA < 0.07 g/L) from the often clinically

irrelevant partial IgA deficiency (serum IgA > 0.07 g/L but 2 SD below normal age-adjusted means).^{20,21} For selective IgM deficiency, such a cut-off value will have to be determined in future studies.

Our study has several limitations. First, our results are based on a still relatively small cohort including not only true but also possible sIgMdef. This group contained a high number of children, which is in contrast to few children reported in the literature.⁵ This is probably bias resulting from the type of centres that decided to participate in the study. Second, it is possible that mildly affected patients with a known genetic defect are "hidden" in the sIgMdef population and fulfil the criteria for syndromic immunodeficiencies instead.^{22,23} This can only be revealed by genetic testing in such cases. Third, age-matched cut-off values varied widely between the centres; when using the ESID diagnostic protocol values, even fewer patients had true sIgMdef (1 child, 5 adults). This cannot only be explained by variations in technique or in genetic, ethnic or geographical differences, which have also been shown to influence serum IgM levels.^{26,27} Almost all centres (14 out of 15) used immunonephelometric or immunoturbidimetric techniques, which have been demonstrated to be reliable and to have good comparability.^{33,34} Although inter-laboratory variability in the current methodologies can make

unification of reference values challenging, investigating opportunities for achieving this would be worthwhile.

In conclusion, even this multi-centre study could not solve the dilemma. Even enlarging the study to global proportions will probably not answer our questions. To be able to explore the clinical consequences of *true* sIgMdef, full analysis and accurate description of all patients in whom a decreased serum IgM is found would be more effective, leaving no patients with *possible* sIgMdef to dilute the results.

DATA AVAILABILITY

The datasets generated during and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare that they have no conflict of interest relative to this project.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

LMAJ and EdV designed the study and wrote the manuscript. LMAJ acquired the data and carried out descriptive statistical analyses. EdV supervised and critically reviewed all data collection. RWNmvH carried out statistical analyses. All authors approved the final manuscript as submitted. The SIMcal consortium members supplied the patient data and critically reviewed the manuscript; all members approved the final manuscript as submitted.

ORCID

Esther de Vries  <https://orcid.org/0000-0003-4311-3550>

REFERENCES

- Louis AG, Gupta S. Primary selective IgM deficiency: an ignored immunodeficiency. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2014;46(2):104-111.
- Entezari N, Adab Z, Zeydi M, et al. The prevalence of Selective Immunoglobulin M Deficiency (SIgMD) in Iranian volunteer blood donors. *Hum Immunol*. 2016;77(1):7-11.
- Guill MF, Brown DA, Ochs HD, Pyun KH, Moffitt JE. IgM deficiency: clinical spectrum and immunologic assessment. *Ann Allergy*. 1989;62(6):547-552.
- Cipe FE, Dogu F, Guloglu D, et al. B-cell subsets in patients with transient hypogammaglobulinemia of infancy, partial IgA deficiency, and selective IgM deficiency. *J Invest Allergol Clin Immunol*. 2013;23(2):94-100.
- Goldstein MF, Goldstein AL, Dunskey EH, Dvorin DJ, Belecanech GA, Shamir K. Pediatric selective IgM immunodeficiency. *Clin Dev Immunol*. 2008;2008:624850.
- Yel L, Ramanuja S, Gupta S. Clinical and immunological features in IgM deficiency. *Int Arch Allergy Immunol*. 2009;150(3):291-298.
- Louis AG, Agrawal S, Gupta S. Analysis of subsets of B cells, Breg, CD4Treg and CD8Treg cells in adult patients with primary selective IgM deficiency. *Am J Clin Exp Immunol*. 2016;5(1):21-32.
- Hobbs JR, Milner RD, Watt PJ. Gamma-M deficiency predisposing to meningococcal septicaemia. *Br Med J*. 1967;4(5579):583-586.
- Kaufman HS, Hobbs JR. Immunoglobulin deficiencies in an atopic population. *Lancet (London, England)*. 1970;2(7682):1061-1063.
- Silver HK, Shuster J, Gold P, Freedman SO. Leukopenia, leukoagglutinins, and low IgM in a family with severe febrile illnesses. *Clin Immunol Immunopathol*. 1973;1(2):220-229.
- Inoue T, Okumura Y, Shirama M, Ishibashi H, Kashiwagi S, Kubo H. Selective partial IgM deficiency: functional assessment of T and B lymphocytes in vitro. *J Clin Immunol*. 1986;6(2):130-135.
- Ohno T, Inaba M, Kuribayashi K, Masuda T, Kanoh T, Uchino H. Selective IgM deficiency in adults: phenotypically and functionally altered profiles of peripheral blood lymphocytes. *Clin Exp Immunol*. 1987;68(3):630-637.
- Yamasaki T. Selective IgM deficiency: functional assessment of peripheral blood lymphocytes in vitro. *Intern Med*. 1992;31(7):866-870.
- Goldstein MF, Goldstein AL, Dunskey EH, Dvorin DJ, Belecanech GA, Shamir K. Selective IgM immunodeficiency: retrospective analysis of 36 adult patients with review of the literature. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2006;97(6):717-730.
- Janssen L, Macken T, Creemers M, Pruijt J, Eijk J, de Vries E. Truly selective primary IgM deficiency is probably very rare. *Clin Exp Immunol*. 2018;191(2):203-211.
- Chovancova Z, Kralickova P, Pejchalova A, et al. Selective IgM deficiency: clinical and laboratory features of 17 patients and a review of the literature. *J Clin Immunol*. 2017;37(6):559-574.
- Hassanein HA, Elbadry MI. Selective immunoglobulin M deficiency in an adult with miliary tuberculosis: A clinically interesting coexistence. A case report and review of the literature. *Int J mycobacteriology*. 2016;5(1):106-110.
- Guzman D, Veit D, Knerr V, et al. The ESID online database network. *Bioinformatics*. 2007;23(5):654-655.
- de Vries E. Patient-centred screening for primary immunodeficiency: a multi-stage diagnostic protocol designed for non-immunologists. *Clin Exp Immunol*. 2006;145(2):204-214.
- Yel L. Selective IgA deficiency. *J Clin Immunol*. 2010;30(1):10-16.
- Al-Herz W, Bousfiha A, Casanova J-L, et al. Primary immunodeficiency diseases: an update on the classification from the international union of immunological societies expert committee for primary immunodeficiency. *Front Immunol*. 2011;2:54.
- Haddad ZH, Allen RF, Townner JW, Wilson MG. IgA, IgM, and partial deletion of chromosome 18. *Lancet (London, England)*. 1969;1(7596):678.
- Ostergaard PA. A girl with recurrent infections, low IgM and an abnormal chromosome number 1. *Acta Paediatr Scand*. 1973;62(2):211-215.
- Kung S-J, Gripp KW, Stephan MJ, Fairchok MP, McGeedy SJ. Selective IgM deficiency and 22q11.2 deletion syndrome. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2007;99(1):87-92.
- Al-Herz W, McGeedy SJ, Gripp KW. 22q11.2 deletion syndrome and selective IgM deficiency: an association of a common chromosomal abnormality with a rare immunodeficiency. *Am J Med Genet A*. 2004;127A:99-100.

26. Ambrosino DM, Black CM, Plikaytis BD, et al. Immunoglobulin G subclass values in healthy black and white children. *J Pediatr*. 1991;119(6):875-879.
27. Yang M, Wu Y, Lu Y, et al. Genome-wide scan identifies variant in TNFSF13 associated with serum IgM in a healthy Chinese male population. *PLoS One*. 2012;7(10):e47990.
28. Gonzalez-Quintela A, Alende R, Gude F, et al. Serum levels of immunoglobulins (IgG, IgA, IgM) in a general adult population and their relationship with alcohol consumption, smoking and common metabolic abnormalities. *Clin Exp Immunol*. 2008;151(1):42-50.
29. Aksu G, Genel F, Koturoglu G, Kurugol Z, Kutukculer N. Serum immunoglobulin (IgG, IgM, IgA) and IgG subclass concentrations in healthy children: a study using nephelometric technique. *Turk J Pediatr*. 2006;48(1):19-24.
30. Kacprzak-Bergman I. Sexual dimorphism of heritability of immunoglobulin levels. *Ann Hum Biol*. 1994;21(6):563-569.
31. Kohler PF, Rivera VJ, Eckert ED, Bouchard T, Heston LL. Genetic regulation of immunoglobulin and specific antibody levels in twins reared apart. *J Clin Invest*. 1985;75(3):883-888.
32. Siegel M, Lee SL, Ginsberg V, Schultz F, Wong W. Racial differences in serum gamma globulin levels: comparative data for Negroes, Puerto Ricans, and other Caucasians. *J Lab Clin Med*. 1965;66(5):715-720.
33. Mali B, Armbruster D, Serediak E, Ottenbreit T. Comparison of immunoturbidimetric and immunonephelometric assays for specific proteins. *Clin Biochem*. 2009;42(15):1568-1571.
34. Denham E, Mohn B, Tucker L, Lun A, Cleave P, Boswell DR. Evaluation of immunoturbidimetric specific protein methods using the Architect ci8200: comparison with immunonephelometry. *Ann Clin Biochem*. 2007;44(Pt 6):529-536.
35. Schatorjé E, Gemen E, Driessen G, et al. Age-matched reference values for B-lymphocyte subpopulations and CVID classifications in children. *Scand J Immunol*. 2011;74(5):502-510.

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found online in the Supporting Information section at the end of the article.

How to cite this article: Janssen LMA, van Hout RWNM, de Vries E; The SIMcal Consortium. Challenges in investigating patients with isolated decreased serum IgM: The SIMcal study. *Scand J Immunol*. 2019;e12763. <https://doi.org/10.1111/sji.12763>

APPENDIX 1

Claudio Pignata (Department of Translational Medical Sciences, 'Federico II' University, Naples, Italy), Emilia

Cirillo, Department of Translational Medical Science, Pediatric Section, Federico II University, Naples, Italy), Peter D. Arkwright (University of Manchester, Royal Manchester Children's Hospital, United Kingdom.), Vasilos Lougaris (Pediatrics Clinic and Institute for Molecular Medicine A. Nocivelli, Department of Clinical and Experimental Sciences, University of Brescia and ASST-Spedali Civili of Brescia, Brescia, Italy), Matthew Buckland (Institute of Immunity and Transplantation, Royal Free Hospital, London, United Kingdom), Marina Garcia-Prat (Pediatric Infectious Diseases and Immunodeficiencies Unit, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, Spain; Jeffrey Model Foundation Excellence Center Barcelona, Spain), Pere Soler-Palacin (Pediatric Infectious Diseases and Immunodeficiencies Unit, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, Spain; Jeffrey Model Foundation Excellence Center Barcelona, Spain), Monia Ouederni (Pediatric Immuno-hematology unit, bone marrow transplantation center Tunis, Tunisia), Pavlina Kralickova (Institute of Allergology and Clinical Immunology, University Hospital, Hradec Kralove, Czech Republic), Hassan Abolhassani (Division of Clinical Immunology, Department of Laboratory Medicine, Karolinska Institute at Karolinska University Hospital Huddinge, Sweden), Lennart Hammerström (Division of Clinical Immunology, Department of Laboratory Medicine, Karolinska Institute at Karolinska University Hospital Huddinge, Stockholm, Sweden), Asghar Aghamohammadi (Research Center for Immunodeficiencies, Pediatrics Center of Excellence, Children's Medical Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran), Juan L. Santos-Pérez (Infectious Diseases and Immunodeficiencies Unit, Hospital Virgen de las Nieves, Granada, Spain), Ali Sobh (Department of Pediatrics, Mansoura University Children's Hospital, Faculty of Medicine, Mansoura University, Egypt), Jutte van de Werff ten Bosch (Department of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, University Hospital Brussel, Brussel, Belgium), Stefanie Henriët (Department of Pediatric Infectious Diseases and Immunology, Amalia Children's hospital, Nijmegen, the Netherlands), Sara S. Kilic (Department of Pediatric Immunology, Uludag University Medical Faculty, Turkey), Y. Karali (Department of Pediatric Immunology, Uludag University Medical Faculty, Turkey), Luis Ignacio Gonzalez-Granado (Immunodeficiencies Unit, Department of Pediatrics, University Hospital 12 octubre, Complutense University, Madrid, Spain), Anna Sediva (Department of Immunology, 2nd Faculty of Medicine Charles University and Motol University Hospital, Prague, Czech Republic).

3.6. Brutonova agamaglobulinemie (X-vázaná agamaglobulinémie, XLA), autozomálně recesivně vázaná agamaglobulinémie

Brutonova agamaglobulinémie byla poprvé popsána pediatrem O. Brutonem v roce 1952. Je způsobena různými mutacemi v genu kódujícím Brutonovu tyrozinovou kinázu (Btk). Jedná se o protein přenášející signály v buňkách všech hematopoetických linií, mimo T lymfocyty a NK buňky. S ohledem na to, že onemocnění je vázáno na X chromozóm, postižení jsou pouze chlapci. Vzácně existují i autozomálně recesivní formy, které se mohou manifestovat i u dívek. Klinicky ani laboratorně se obě formy neliší, odlišitelné jsou jen na základě molekulárně genetické diagnostiky [1]. V některých případech byla popsána i asociace s dalšími syndromy, např. s neurologickým postižením a hluchotou či deficitem růstového hormonu [181,205]. Při klinickém vyšetření může být pro lékaře varovným signálem nepřítomnost tonzil. Laboratorně je onemocnění charakterizováno sníženým počtem B lymfocytů v periferní krvi maximálně do 2 % lymfocytů, koncentrací imunoglobulinů ve všech třech třídách (IgG, IgM i IgA) v séru pod hranici dvě směrodatné odchylky od průměru daného věku, nepřítomností izohemaglutininů a/nebo chabou vakcinační odpovědí. Klinicky se projevuje nejčastěji v kojeneckém a batolecím věku recidivujícími infekcemi dýchacích cest (sinusitidy, otitidy, bronchitidy, pneumonie), septickými artritidami (pyogenní, mykoplazmové), průjmy, vzácněji pyodermiemi, konjunktivitidami či meningoencefalitidou [95,115,229]. Delší dobu neléčené onemocnění vede ke vzniku těžkých plicních komplikací ve formě bronchiektázií a fibrózních změn. Při vzniku encefalitidy je vždy nutno pomýšlet na enterovirovou etiologii [184]. Se změnou očkovací látky proti dětské obrně, kdy již není používána Sabinova vakcína obsahující živý oslabený virus, se pravděpodobnost vzniku této komplikace významně snížila. Dalším asociovaným nálezem může být neutropenie. Obvykle souvisí s infekcemi a bývá nalézána zejména u nedagnostikovaných či suboptimálně substituovaných nemocných [7].

3.7. Běžná variabilní imunodeficiencie

(CVID – Common Variable ImmunoDeficiency)

Běžná variabilní imunodeficiencie je tvořena heterogenní skupinou onemocnění představující klinicky významnou formu protilátkových imunodeficiencí. V klinickém obrazu dominují bakteriální infekce, zejména dolních cest dýchacích, a široké spektrum autoimunitních/dysregulačních komplikací^[171]. Vyskytuje se s prevalencí okolo 1: 25 000, se stejným podílem žen i mužů^[227]. Příznaky se mohou projevit v jakémkoli věku. Jsou udávány dva vrcholy v 1. a 3. dekádě života^[145].

Genetická podstata onemocnění není ve většině případů známa. Díky stále se rozvíjejícím možnostem genetického testování, především možnosti celoexomového sekvenování, narůstá počet diagnostikovaných monogenních forem, i když jen pozvolna. Zatím pouze 2-10 % případů CVID má jasnou monogenní příčinu^[26,123,160]. Mutace (varianty) v některých genech jsou považovány za příčinné, v jiných genech za modifikující průběh onemocnění (např. TNFRSF13B – TACI). V manifestaci hrají roli i změny v dalších genech či faktory epigenetické. Některé mutace lze nalézt i u zcela zdravých rodinných příslušníků nebo se postižení se stejným typem mutace mohou projevovat zcela odlišnými klinickými obrazy co do pestrosti i závažnosti onemocnění. Jako monogenní onemocnění jsou vydělovány poruchy v genech kódujících následující molekuly: ICOS, TNFRSF13C (BAFF-R), TNFSF12 (TWEAK), CD19, CD81, CR2 (CD21), MS4A1(CD20), TNFRSF7 (CD27), IL21, IL21R, LRBA, CTLA4, PRKCD, PLCG2, NFKB1, NFKB2, PIK3CD, PIK3R1, PTEN (LOF), VAV1, RAC2, BLK, IKZF1 (IKAROS), IRF2BP2, MOGS, TRNT1, TTC37, ATP6AP1^[26,160].

V roce 2015 byla aktualizována diagnostická kritéria, tzv. ICON (International Consensus Document) kritéria^[28].

Většina nemocných má splňovat alespoň jednu formu klinické manifestace: infekce, autoimunita, lymfoproliferace. Diagnózu lze určit i u asymptomatických případů za předpokladu naplnění bodů 2-5, zejména v případě rodinného výskytu.

1. Je detekována významně snížená hodnota sérového IgG, hodnocená s ohledem na věk a získaná ze dvou měření s odstupem 3 měsíců, pokud nejsou hodnoty velmi nízké.
2. Sérové koncentrace IgA a IgM musí být rovněž nízké.

3. U nemocných s koncentrací IgG nad 1 g/l je jednoznačně vyžadován průkaz porušené tvorby specifických protilátek, a to vakcinací za použití T-dependentního i T-independentního antigenu. K diagnóze stačí chabá odpověď jen na jeden z nich. Tato podmínka nemusí být splněna při naplnění všech ostatních kritérií pouze u těch nemocných, kde odložení substituční léčby by bylo s ohledem na klinický stav riskantní.
4. Musí být vyloučeny všechny možné sekundární příčiny hypogamaglobulinémie.
5. Genetická diagnostika není podmínkou.

CVID je spojeno s vysokou morbiditou a zvýšenou mortalitou. Komplikace lze rozdělit na ty, které vznikají strukturálními změnami po proběhlých infekcích (např. bronchiektázie) a jako důsledky dysregulace: autoimunitního (cytopenie, postižení kloubů, kůže, štítné žlázy, perniciozní anémie) a autoinflamatorního původu (granulomy, intersticiální postižení plic, inflamatorní postižení střeva, splenomegalie, lymfadenopatie). Onemocnění je taktéž spojeno s vyšší prevalencí solidních nádorů a lymfomů [171].

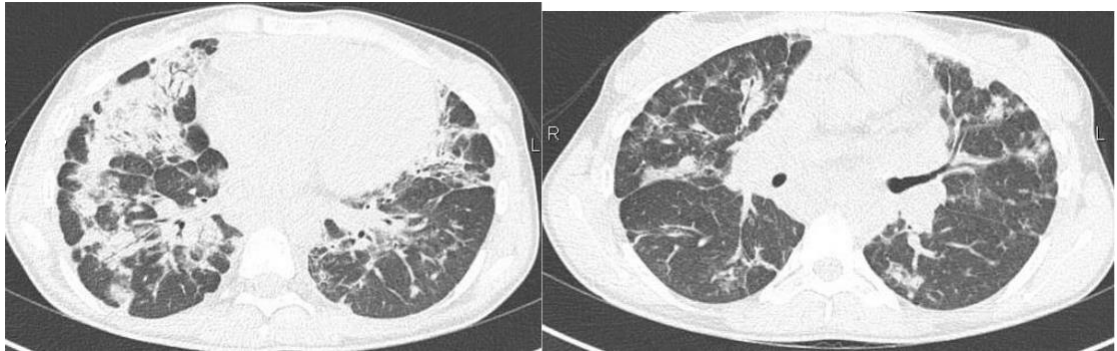
3.7.1. CVID a postižení plic

Postižení plic u nemocných s CVID lze rozdělit na dvě základní skupiny: infekční a neinfekční či lépe dysregulační. Mezi infekční komplikace jsou typické bronchitidy a pneumonie. Nejčastějšími původci jsou *Streptococcus pneumoniae* a *Haemophilus influenzae* [103,146]. Závažné virové a oportunní infekce byly sice popsány, ale nejsou typické. Vyskytují se zejména u nemocných podstupujících dlouhodobou imunosupresivní léčbu či se závažnějším morfoloogickým plicním postižením [114,146]. Při řádně vedené substituční léčbě imunoglobuliny dochází k významnému poklesu výskytu bakteriálních infekcí. V případě nedostatečného efektu substituční léčby je na místě zvážit dlouhodobou antibiotickou profylaxi [98].

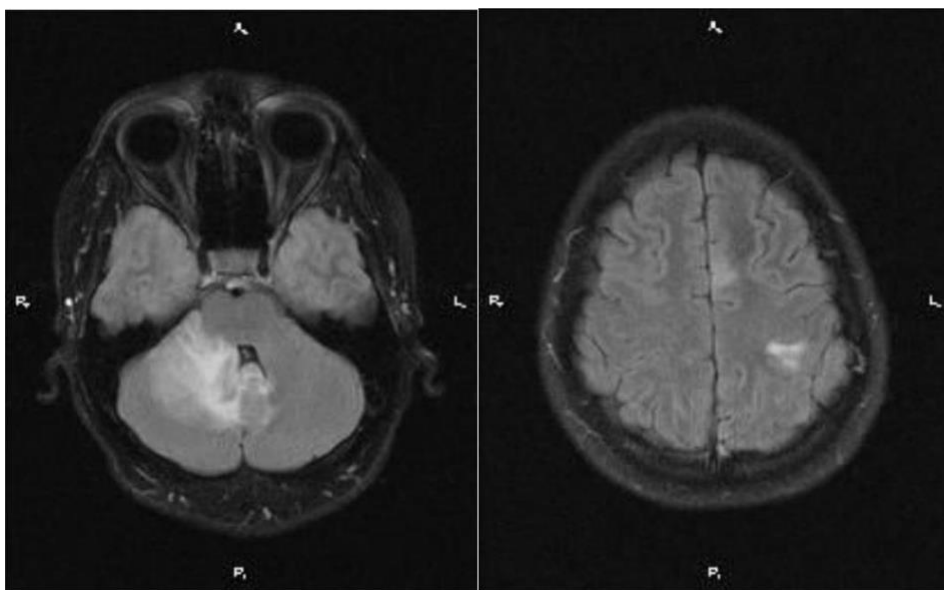
Neinfekční/dysregulační změny představují závažnou komplikaci, která vyžaduje dlouhodobou imunosupresivní léčbu se všemi důsledky. Přesný patofyziologický mechanismus vedoucí k jejich rozvoji nebyl doposud jednoznačně objasněn.

Závažnou komplikaci představuje granulomatózní/ lymfocytární intersticiální plicní nemoc (Granulomatous Lymphocytic Interstitial Lung Disease, GLILD). Incidence je udávána různě, nejčastěji kolem 10 % pacientů s CVID [30,70,171]. Radiograficky jsou pro ni typické difúzní retikulární změny, často typu denzit mléčného skla (ground-glass opacities) s predominancí v dolních plicních lalocích (obr. č. 1). Histologicky se jedná o nekaseifikující

granulomy, lymfocytární intersticiální pneumonitidu a folikulární bronchiolitidu. Lymfocytární hyperplasie vykazuje predominanci T lymfocytů, poměr subpopulací CD4+ a CD8+ T lymfocytů různé studie udávají variabilně [30,31,111]. Granulomy se vyskytují i extrapulmonálně (játra, slezina, uzliny, kůže, CNS) (obr. č. 2). Pacienti frekventně trpí splenomegalií a lymfadenopatií [171]. Klinicky bývají přidruženy další autoimunitní komplikace, zejména autoimunitní cytopenie. Laboratorně, především u nemocných se splenomegalií a postižením jater ve formě nodulární regenerativní hyperplázie, dominuje elevace alkalické fosfatázy s relativně fyziologickými či jen lehce zvýšenými hodnotami ALT a AST. V pokročilejších stádiích se můžeme setkat se známkami hypersplenismu a rozvojem portální hypertenze [219].



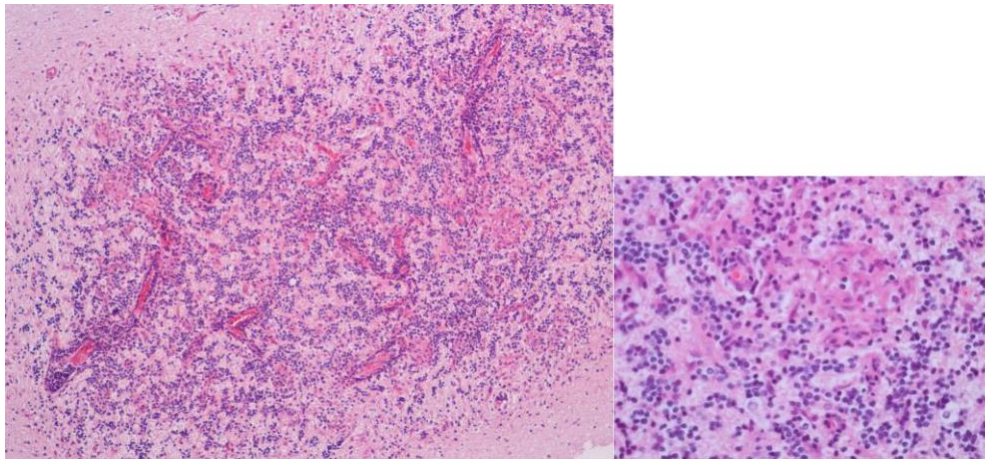
Obr. č. 1A



Obr. č.1B a 1C

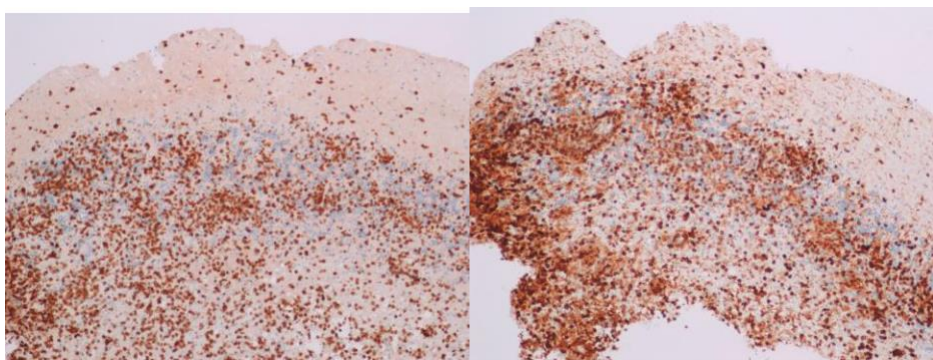
Obr. č. 1: (A) HRCT obraz GLILD s vícečetnými drobnými peribronchiálními infiltráty a denzitami mléčného skla bez výraznějších konsolidací parenchymu; (B a C) MRI CNS s nálezem víceložiskového postižení se sytou nepravidelnou opacifikací ložisek supra- i infratentoriálně.

Autorkou snímků našich pacientů je MUDr. Kočová E, Radiologická klinika FN HK.



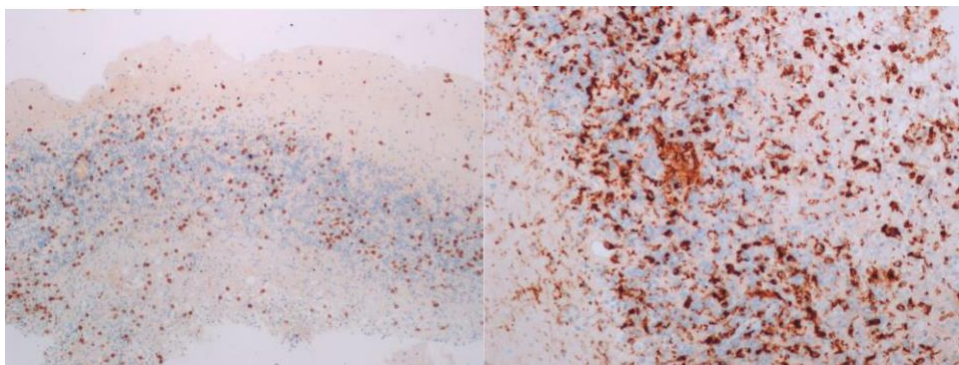
(A)

(B)



(C)

(D)



(E)

(F)

Obr. č. 2: Nekaseifikující granulomy CNS u námi sledované nemocné s CVID. Hematoxylin and eosin (HE) barvení; mnohočetné perivaskulární infiltráty a přítomnosti zralých lymfocytů a nekaseifikující granulomy (A), detail granulomu (B); imunohistochemické barvení CD3 (C), CD4 (D), CD8 (E), CD68 (F) ukazuje zastoupení 92 % CD3+ T lymfocytů s podílem 76 % CD4+ T lymfocytů a 24 % CD8+ T lymfocytů. Expese molekuly CD68 prokazuje přítomnost buněk makrofágové linie.

Autorka snímků MUDr. Kamarádová K, FÚP FN HK.

Tématika byla podobněji zpracována v následujících publikacích:

Králíčková P, Malá E, Vokurková D, Krčmová I, Plíšková L, Štěpánová V, Bartoš V, Koblížek V, Tachecí I, Bureš J, Brožik J, Litzman J. Cytomegalovirus disease in patients with common variable immunodeficiency: three case reports. *Int Arch Allergy Immunol* 2014; 163(1): 69-74. **IF=2,673**

Králíčková P, Kubcová Š, Kočová E, Bartoš V, Souček O, Rozsival P, Vaníček H, Krčmová I, Ravčuková B, Grombiříková H, Freiburger T. Úspěšná léčba rituximabem pro granulomatózně-lymfocytární intersticiální plicní nemoc provázející běžnou variabilní imunodeficienci. *Epidemiol Mikrobiol Imunol* 2018 Winter; 67(3): 142-148. **IF=0,500**

3.7.2. CVID a postižení gastrointestinálního traktu

Postižení gastrointestinálního traktu u CVID lze obecně rozdělit na infekční a neinfekční.

Nejčastějšími nespecifickými klinickými projevy jsou pocity nadýmání, bolesti břicha či průjem. U části nemocných může postižení GIT probíhat dlouhodobě zcela asymptomaticky [100].

Infekce probíhají jako akutní či chronické. Typickými patogeny bývají: *Giardia lamblia* (obr. 3), *Campylobacter jejuni* či *Salmonella sp.* [153]. Je zajímavé, že i když někteří nemocní musí často či dlouhodobě užívat antibiotika, nebyla zaznamenána zvýšená incidence infekcí způsobených *Clostridium difficile*. Možným vysvětlením může být přítomnost specifických protilátek proti *Cl. difficile* v imunoglobulinových preparátech [178]. Infekce *Helicobacter pylori* může u nemocných s CVID podporovat vznik chronické gastritidy, atrofii sliznice, intestinální metaplázie, dysplázie sliznice či adenokarcinomu žaludku [47,239]. Na základě kombinovaných údajů ze dvou studií, s celkovým počtem 11 biopsicky potvrzených pozitivních nemocných z celkem 60 nemocných s CVID (18,3 %), se incidence infekce *H. pylori* nezdá být vůči běžné populaci zvýšená [122,125]. Důvodem může být vyšší expozice antibiotické léčbě. V Evropě se prevalence pohybuje mezi 17 % až 79 %, v USA kolem 30 % s variabilitou s ohledem na věk a etnický původ [54,174].

Nelze podcenit ani zvýšený výskyt virových enteritid. Je pravděpodobné, že nemocní s nízkými sérovými koncentracemi IgA mají vyšší riziko dlouhodobé replikace gastrointestinálních virů [216]. Norovirové infekce mohou vést ke vzniku chronické enteropatie s atrofií klků a následnou malabsorpcí. Cílená léčba ribavirinem je schopna zlepšit nejen klinický stav nemocného, ale i histopatologický obraz s regenerací struktury sliznice [232,233]. Na možnost cytomegalovirových enteritid a oportunních infekcí bychom měli pomýšlet u nemocných se závažnými neinfekčními komplikacemi s nezbytnou dlouhodobou imunosupresivní léčbou či malnutricí [114].

U nemocných s CVID, bez ohledu na užívání antibiotik, byla zjištěna snížená alfa diverzita střevní mikrobioty (rozmanitost druhů lokálních společenstev, přičemž počet druhů je zaznamenáván v rámci standardizované plochy nebo přirozeně na základě stanoviště). Tyto změny byly více vyjádřeny u nemocných se zánětlivými a autoimunitními komplikacemi v rámci základního onemocnění. Nízký index diverzity byl spojen s nízkou sérovou koncentrací IgA [101]. U nemocných trpících enteropatií asociovanou s CVID byla dále

nalezena nízká koncentrace IgA v duodenální tkáni, kde se jako potenciální pathobiont může uplatňovat *Acinetobacter baumannii* [189]. Zdá se, že nedostatečná přítomnost B lymfocytů či IgA v přítomnosti střevní mikrobioty vede ve střevním epitelu k indukci protektivních změn, jejichž podstatou je up-regulace cest vedoucích k nadprodukci interferonu, a naopak k redukci GATA 4 závislých metabolických drah. Tento posun může částečně vysvětlovat i malabsorpci lipidů a snížení depozice tělesného tuku [188].

Neinfekční gastrointestinální postižení bývá pozorováno u 9-20 % nemocných s CVID [70,171]. Častou komplikací CVID je perniciózní anémie. Obvykle se manifestuje v mladším věku a může předcházet diagnóze základního onemocnění o řadu let. Při gastrokopickém vyšetření bývá nacházena hypo- či achlorhydrie, atrofická gastritida a intestinální metaplázie (obr. č. 4) představující potenciální riziko vzniku adenokarcinomu. Výskyt adenokarcinomu žaludku je pravděpodobně vůči běžné populaci zvýšen. Údaje o míře rizika se u různých autorů liší, není překvapující regionální odlišnost [48,107,165,177]. V poslední době se zdá, že dochází k poklesu jeho výskytu pravděpodobně v souvislosti s eliminací infekce *H. pylori* v populaci [70,171]. Byl však popsán i u mladších nemocných. Je intestinálního typu se zvýšeným množstvím intranádorových lymfocytů [41].

Postižení tenkého střeva (CVID asociovaná enteropatie) zahrnuje folikulární hyperplázii, zmnožení intraepitelových lymfocytů a atrofii klků často vedoucí k mylné diagnóze celiakie (obr. č. 5-6). Typické zde však je významné snížení až chybění plazmatických buněk a infiltrace CD8+ T-lymfocyty v lamina propria [100]. Enteropatie asociovaná s CVID bývá spojena s exsudativní enteropatií vedoucích ke ztrátě sérového IgG a albuminu, se syndromem bakteriálního přerůstání v tenkém střevě.

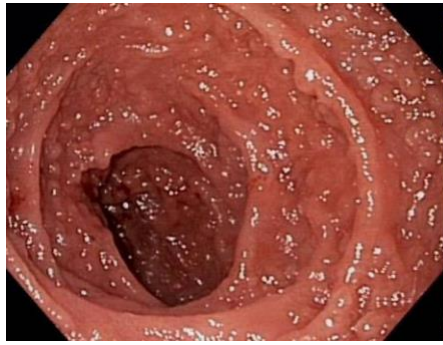
Použití sérologických testů v diagnostice odlišení s CVID asociované enteropatie a celiakie není příliš přínosné pro poruchu tvorby protilátek vyplývající z podstaty onemocnění [24]. Vhodné je doplnění HLA typizace DQ2, DQ8 (při negativním výsledku je asociace s celiakií velmi malá), se zohledněním výskytu HLA-DQ2 u 24 % a HLA-DQ8 u 15 % zdravé české populace [234]. K průkazu syndromu bakteriálního přerůstání v tenkém střevě se uplatňují především dechové testy se stanovením vydechovaného vodíku.

Postižení tračníku zahrnuje široké spektrum od mikroskopických kolitíd po ulcerativní záněty připomínající ulcerózní kolitidu či Crohnovu chorobu [126]. Daniels et al. zhodnotili mikroskopické nálezy u 20 nemocných s CVID a kde u 81 % byly nalezeny lymfoidní agregáty. Biopsie u 6 nemocných prokázala známky lymfocytární kolitidy, u 2 kolagení kolitidu. Intraepitelové neutrofile byly přítomny u 14 (88 %), jejich množství korelovalo

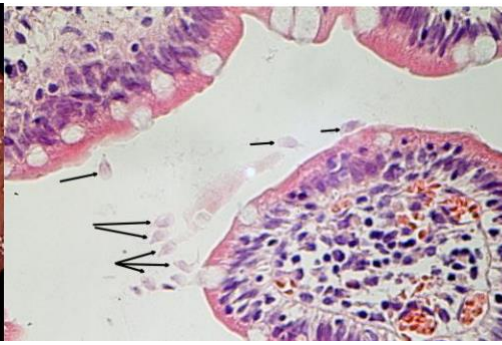
s výskytem vředů u 3 nemocných ^[46]. I zde je počet plazmatických buněk v lamina propria významně snížen podobně jako v tenkém střevě (obr. č. 7). Zřídka nejsou ani nálezy folikulární lymfoidní hyperplazie, GvH-like lézí či přítomnost nekaseifikujících granulomů ^[125].

Nodulární regenerativní hyperplázie (NRH) jater postihuje asi 5 % nemocných. Jedná se o nejčastější komplikaci v tomto orgánu. NRH se v první fázi laboratorně projevuje elevací alkalické fosfatázy. Zatímco u některých nemocných zůstává tento stav dlouhodobě stabilní, u části dochází k postupnému vývoji portální hypertenze s neutropenií a trombocytopenií, a v některých případech i ke vzniku ascitu.

NRH, která často provází řadu dalších jaterních onemocnění, bývá alespoň částečně zapříčiněna intrahepatickou vaskulopatií se současnou alterací mikrovaskulární perfúze vedoucí k poškození hepatocytů s následnými reparativními pochody s tvorbou nodulů a kompresí jaterního parenchymu, stejně jako portálních a centrálních cév. Na rozdíl od jaterní cirhózy však nedochází ke vzniku perinodální fibrózy a intrahepatálních cévních spojek. Histologicky lze zachytit fokální portální a lobulární zánětlivé infiltráty bez přítomnosti „piecemeal“ nekroz. Většinou se jedná o infiltrát převážně tvořený CD8⁺ T-lymfocyty ^[124].



Obr. č. 3A

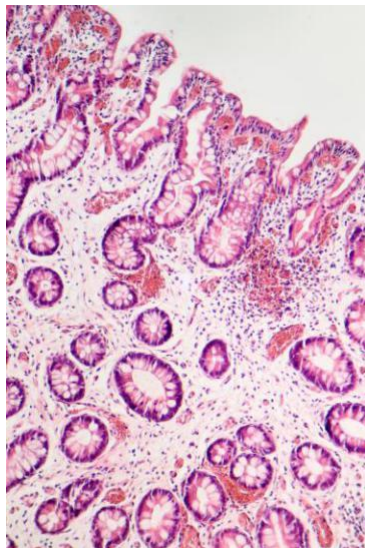


Obr. č. 3B

Obr. č. 3: (A) Enteropatie asociovaná s CVID. Nodulovaná sliznice duodena odpovídající chronické lamblióze. Výskyt *Giardia lamblia* v duodenální šťávě potvrzen mikroskopicky (autor snímku doc. MUDr. Ilja Tachecí, II. Interní klinika FNHK);

(B) CVID- duodenum, nález lambliózy, HE 600x.

Autorka snímku MUDr. Nová M, FÚP FN HK.

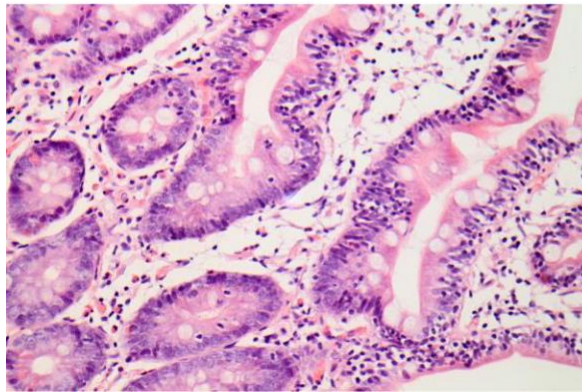


Obr. č. 4: CVID – žaludek s kompletní střevní metaplázií, HE 400x

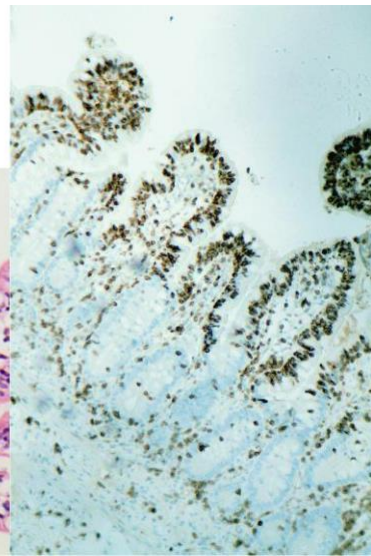
Autorka snímku MUDr. Nová M, FÚP FN HK.



Obr. č. 5: Enteropatie asociovaná s CVID. Gastroskopický obraz z distálního duodena prokazuje těžkou atrofií sliznice tenkého střeva se zkrácením až vymizením klků a naznačeným políčkováním. Nález připomíná neléčenou celiakii. Autor snímku doc. MUDr. Ilja Tachecí, II. Interní klinika FNHK.

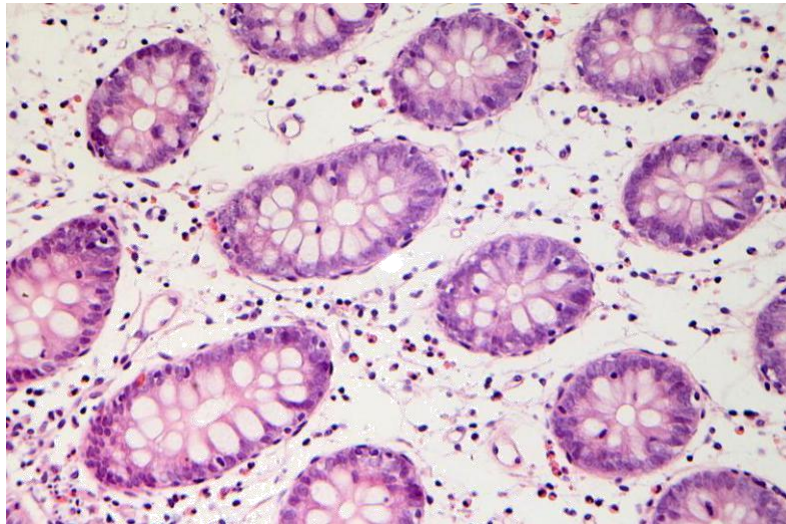


Obr. č. 6A

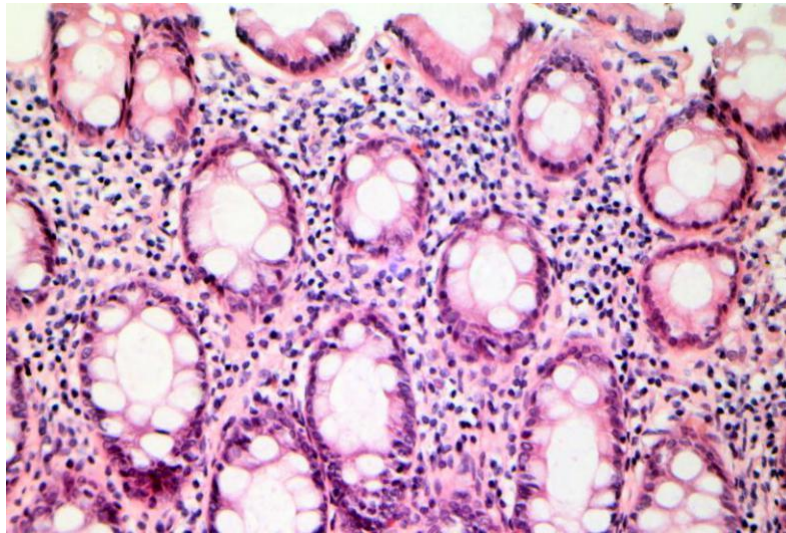


Obr. č. 6B

Obr. č. 6: (A) CVID – duodenum s lymfocytární enteritidou HE 400x,
(B) CVID - duodenum s lymfocytární enteritidou, průkaz znaku CD3+, HE 100x.
Autorka snímků MUDr. Nová M, FÚP FN HK.



Obr. č. 7A



Obr. č. 7B

Obr. č. 7: (A) CVID – tlusté střevo s významným úbytkem plazmatických buněk, HE 400x; (B) Normální sliznice tlustého střeva s normálním počtem plazmatických buněk, HE 400x.

Autorka snímků MUDr. Nová M, FÚP FN HK.

3.7.3. CVID a splenomegalie a lymfadenopatie

Velmi častými nálezy u nemocných s CVID obecně jsou splenomegalie a lymfadenopatie. Etiologicky se nejčastěji jedná o benigní hyperplázii či komplikaci portální hypertenze, v případě splenomegalie. Při náhlém zvětšení je nezbytné myslet i na možnost vzniku lymfomu [171].

Zhodnocení prognózy splenektomovaných nemocných s CVID byla věnována retrospektivní multicentrická studie z roku 2012 zahrnující 45 jedinců za posledních 40 let. Důvodem splenektomie byly nejčastěji hematologická onemocnění (Evansův syndrom, idiopatická trombocytopenická purpura, autoimunitní hemolytická anémie či podezření na lymfom), v menšině případů splenomegalie, či trauma. Histologicky byly v polovině případů nalezeny nekaseifikující granulomy, venostáza, lymfom, folikulární hyperplázie či atrofie bílé pulpy ve slezině. Ze statistických dat nevyplývalo, že by splenektomovaní pacienti žili kratší dobu. Řádná substituční léčba chránila nemocné před vznikem OPSI (Overwhelming PostSplenectomy Infection) syndromu [231].

3.7.4. CVID a další autoimunitní onemocnění

Jak vyplývá z poslední publikované evropské studie, která zahrnovala 2700 nemocných z 23 zemí, jsou autoimunitní komplikace přítomny u 23 % pacientů. Dominantní postavení zaujímají autoimunitní cytopenie s výskytem idiopatické trombocytopenické purpury (ITP) v 6,0 % a autoimunitní hemolytické anémie (AIHA) ve 4,1 %, což převyšuje více než 700krát výskyt v běžné populaci. Jako další autoimunitní komplikace bývají hlášeny hypofunkce štítné žlázy, alopecie, vitiligo, revmatoidní artritida, diabetes mellitus I. typu a mnohé jiné [145].

Problematika byla zpracována v následujících publikacích:

Milota T, Šumník Z, Obermannová B, **Králíčková P**, Vondrák K, Klocperk A, Kayserová J, Šedivá A. ESID Registry Working Party. Negativity for Specific Autoantibodies in Patients with Type 1 Diabetes That Developed on a Background of Common Variable Immunodeficiency. Int Arch Allergy Immunol 2015; 168(3): 197-204. **IF=2,677**

Králíčková P, Malá E, Vokurková D, Souček O, Krčmová I, Hrnčír Z. Secondary humoral immunodeficiency in patients with systemic lupus erythematosus. Vnitr Lek 2015 Sep; 61(9): 778-84.

Negativity for Specific Autoantibodies in Patients with Type 1 Diabetes That Developed on a Background of Common Variable Immunodeficiency

Tomáš Milota^a Zdeněk Šumník^b Barbora Obermannová^b Pavlína Králíčková^c Karel Vondrák^b
Adam Klocperk^a Jana Kayserová^a Anna Šedivá^a the ESID Registry Working Party

Departments of ^aImmunology and ^bPaediatrics, 2nd Faculty of Medicine, Charles University, University Hospital Motol, Prague, and ^cDepartment of Clinical Immunology and Allergology, Hradec Králové University Hospital, Hradec Králové, Czech Republic

Established Facts

- Type 1 diabetes (T1D) has only been described as an unusual autoimmune complication of common variable immunodeficiency (CVID) in several case reports.
- T1D can develop in an environment of severe antibody deficiency, in the absence of specific T1D-associated antibodies.

Novel Insights

- Eleven previously published case reports that described an association between T1D and CVID are reviewed.
- New epidemiological data gained from the European Society for Immunodeficiencies Registry suggest that T1D occurs in 1.5% of CVID patients (1,500/100,000).
- Possible mechanisms of T1D development are discussed from the perspective of underlying humoral immunodeficiency.
- Based on our data, an important effect of immunoglobulin substitution therapy on the course of both CVID and T1D is assumed and discussed.

Key Words

Type 1 diabetes · Common variable immunodeficiency · Autoimmunity

Abstract

Common variable immunodeficiency (CVID) is a heterogeneous group of disorders characterized by disturbed anti-

body production and a dysregulated immune system. Aside from recurrent infections, the most common complications of CVID are autoimmune complications, particularly autoimmune cytopenias. To date, type 1 diabetes mellitus (T1D) in combination with CVID has only been described as an unusual complication in several reports, but the true incidence of T1D with CVID remains unknown. We describe 2 patients with a combination of T1D and CVID with serious impair-

ment of antibody production. We also provide a review of the available literature. T1D-specific insulin autoantibodies and autoantibodies to glutamic acid decarboxylase and tyrosine phosphatase IA2 were not detected in either of our patients at the time of diagnosis or during the course of the disease. In both cases, T1D manifestation and diagnosis preceded the discovery of CVID by several years. Following the diagnosis of immunodeficiency and the start of immunoglobulin substitution therapy, their clinical status improved, manifesting as a lower frequency of infections and improved T1D control, with decreased glycosylated hemoglobin A1c values. Based on these reported cases, we assume that T1D might be more frequent than previously reported in patients with CVID. To verify the actual incidence of T1D among CVID patients, we searched the European Society for Immunodeficiencies Registry database, and found 25 cases of T1D in 1,671 listed CVID patients, suggesting a higher occurrence of T1D among CVID patients than previously thought. Early diagnosis and treatment of immunodeficiency improve both the prognosis and the course of CVID, reduce the frequency and severity of infections and may contribute to better management of T1D.

© 2016 S. Karger AG, Basel

Introduction

Type 1 diabetes mellitus (T1D) is an organ-specific autoimmune disease caused by an immune reaction that is directed against the beta cells of the pancreas. European and US epidemiological studies suggest the incidence of T1D to be approximately 15/100,000 (varying between 10/100,000 and 53/100,000) with a prevalence of 182/100,000 [1, 2]. The disease develops due to complex immune reactions that depend on both the genetic background of the patient and environmental influences; these reactions lead to disruption of the tolerance to pancreatic beta cell-specific antigens [3]. The autoimmune destruction of beta cells is a complex process involving T lymphocytes, particularly Th1 cells, although a Th17 response has recently been described as well [4]. It is clear, however, that other cell populations such as NK cells and dendritic cells and reactions of innate immunity are also involved in T1D development [5].

B lymphocytes also form an integral part of complex immune reactions that lead to T1D. The role of these cells as producers of specific antibodies that both precede and accompany the course of T1D [6] is undisputed [7]. Their necessity for the development of T1D has, however, been strongly challenged by a report of T1D devel-

oping in a patient with a severe B lymphocyte immunodeficiency, or X-linked agammaglobulinemia (XLA), which blocks B lymphocyte development and maturation [8]. This case report and others have shown that T1D may develop on a background of severe humoral immunodeficiency, XLA or common variable immunodeficiency (CVID).

CVID is the name for a heterogeneous group of disorders that are characterized by impaired antibody production and immune system dysregulation. The incidence is estimated to be between 1/25,000 and 1/50,000 subjects [9]. CVID is caused by a heterogeneous and, as yet, imprecisely specified genetic background; the specific genetic causes have been elucidated in only a small fraction of CVID patients. These causes include mutations in the inducible costimulator (ICOS) molecule, which is expressed on T lymphocytes and participates in T- and B-lymphocyte interactions, mutations in the transmembrane activator and calcium modulator and cyclophilin ligand interactor (*TACI*) gene, the B lymphocyte membrane proteins CD19, CD20 and CD81 and a gene encoding the BAFF receptor or MutS homolog 5 (*MSH5*). Additionally, next-generation sequencing of samples from CVID patients recently revealed mutations in the genes encoding BTK, SH2D1A, CD40/CD40L, AID, CLEC16A and DOCK 2. Other possible genetic causes are under evaluation. Despite these efforts, we only know the exact etiology in approximately 10% of patients [10, 11]. CVID is often accompanied by other complications which are usually autoimmune in nature. This autoimmunity typically manifests as hematologic disorders, such as autoimmune hemolytic anemia and thrombocytopenia, but an entire spectrum of other conditions (e.g. rheumatoid arthritis, autoimmune thyroiditis, primary biliary cirrhosis and systemic lupus erythematosus) has been reported as well [12]. Autoimmune complications are generally observed in 20–30% of CVID patients, but only a few cases of T1D in conjunction with CVID have been reported.

In this report, we describe 2 patients with a typical T1D clinical presentation but a complete absence of T1D-associated antibodies. Only later were these patients diagnosed with immunodeficiency that was classified as CVID, and serious impairment of or even an absence of specific antibody production. Additionally, we summarize previously published case reports [13–22] and a review [23], and report the results of a targeted search of the European Society for Immunodeficiencies (ESID) Registry database.

Table 1. Laboratory findings

| | Patient 1 | Patient 2 | Reference value |
|--|-----------|-----------|-----------------|
| <i>Immunologic parameters</i> | | | |
| IgG | 4.5 | 0.73 | 7.65–13.6 g/l |
| IgA | 0.5 | 0.11 | 0.91–2.9 g/l |
| IgM | 0.2 | 0.04 | 0.47–1.95 g/l |
| IgE | 1,530 | 25.3 | 0–150 IU/ml |
| Tetanus-specific antibodies | 0.01 | 0.04 | >0.1 IU/ml |
| White blood cell count | 4 | 11.3 | 4.0–10.0 |
| Lymphocytes | 42.2 | 10.8 | 25–33% |
| CD3+ cells | 65 | 74 | 60–85% |
| CD4+ cells | 43 | 46 | 27–57% |
| CD8+ cells | 22 | 24 | 18–40% |
| CD19+ cells | 14 | 17 | 7–30% |
| NK cells | 13 | 5 | 6–28% |
| Screening panel of autoantibodies ^a | negative | negative | – |
| <i>T1D control parameters</i> | | | |
| Glyc. HbA1c | 100 | 120 | 20–42 mmol/mol |
| <i>Renal function parameters</i> | | | |
| Urea | 4.5 | 12.8 | 2.8–8 mmol/l |
| Creatinine | 79 | 253 | 19–62 µmol/l |
| Microalbuminuria | 6.4 | 742 | 20–150 mg |

These laboratory parameters were established at the time of diagnosis of CVID and before the initiation of immunoglobulin replacement therapy (the corresponding reference values are also provided).

^a Screening panel of autoantibodies includes ANA, ANCA, ASCA, IgG and IgA antiendomysial antibodies as well as anti-ds DNA, RF (IgG, IgA and IgM), anti-TPO, anti-TG and anti-ENA (Sm, SS-A, SS-B, Scl-70 and Jo-1) antibodies.

Case Report

Case 1

A 26-year-old male patient treated for T1D was referred to our department for evaluation of hypogammaglobulinemia, discovered during laboratory investigation of progressive cervical lymph node lymphadenopathy.

The patient's family history showed a significant number of autoimmune and allergic disorders. His father has been treated for multiple sclerosis, and his brother for atopic dermatitis and polyvalent allergy. The patient's prenatal and perinatal development had been free of complications. His first health issue appeared at 3 years of age, when he was diagnosed with intermittent allergic bronchial asthma and a polyvalent allergy.

At 6 years of age, the patient was admitted to the hospital for the treatment of hyperglycemia (21.9 mmol/l) with ketoacidosis, and he was diagnosed with T1D, based on laboratory examinations, with repeated negative findings for T1D-associated autoantibodies [insulin autoantibodies (IAA) and autoantibodies to glutamic acid decarboxylase (GAD) and tyrosine phosphatase IA2]. An intensified insulin regimen was started, with a total daily dose of 34 IU (0.86 IU/kg/day). The glycosylated hemoglobin A1c (glyc. HbA1c) level before initiation of the regime was 108 mmol/mol (IFCC units) or 12% (NGSP/DCCT units).

Since the age of 13 years, this patient had been repeatedly examined due to skin abscesses located on the auricle. Additionally, he had exhibited progressive cervical lymphadenopathy. Repeated histologic examinations of the lymphatic nodes upon extirpation revealed only unspecific reactive changes, and examination of specific antibodies also revealed nothing. A basic immunologic examination (table 1) was performed as part of a differential diagnosis and revealed hypogammaglobulinemia in the IgG, IgA and IgM classes. The patient was therefore referred to our department for a full immunologic examination, which verified the hypogammaglobulinemia (IgG 4.5 g/l, IgA 0.5 g/l and IgM 0.2 g/l), significantly decreased levels of specific postvaccination antibodies (tetanus-specific antibodies 0.01 IU/ml, mumps-specific antibodies 0.89 RU/ml and diphtheria-specific antibodies 0.07 IU/ml) and increased IgE levels (1,250 IU/ml). The allergen-specific IgE results corresponded to a polyvalent allergy diagnosis (i.e. allergies to molds, tree and grass pollen, dust mites and cats). Spirometry did not show any pathologic ventilation parameters. Additionally, an autoantibody panel was negative (i.e. the expected result in a patient with humoral deficiency and impaired antibody production). An examination of cellular immunity, including B lymphocyte subpopulations (table 2), along with the hypogammaglobulinemia and impairment of specific-antibody production findings, led to a diagnosis of type II CVID via the Freiburg classification (fig. 1). Regular intravenous immunoglobulin substitution therapy was thus initiated.

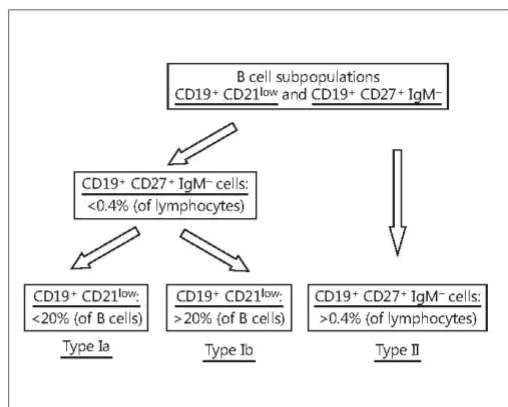


Fig. 1. Freiburg classification of CVID.

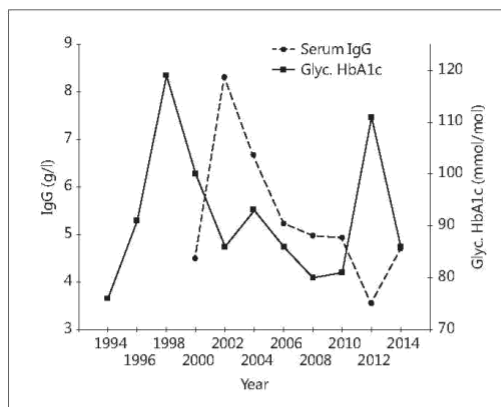


Fig. 2. Serum IgG and glyc. HbA1c levels in patient 1. Progression of glyc. HbA1c levels since T1D diagnosis in 1994 were compared with serum IgG levels after the CVID diagnosis in 2000 and the adjustment of immunoglobulin substitution to 10 g (164 mg/kg) per month in 2012.

Table 2. B cell subsets in our 2 patients

| B cell subset | Characteristics | Patient 1 | Patient 2 | Reference values ^a |
|---|--|-----------|-----------|-------------------------------|
| CD21 ^{low} , CD38 ^{low} | CD19+, CD21 ^{low} , CD38 ^{low} | 7.34 | 2.31 | 4.4% (1.6–10) of B cells |
| Plasmablasts | CD19+, CD27+, CD38+ | 0.922 | 1.18 | 1.1% (0.4–2.4) of B cells |
| Switched-memory | CD19+, CD27+, IgM-, IgD- | 0.4▼ | 0.9▼ | 2.0% (1.1–3.3) of lymphocytes |
| Marginal zone-like | CD19+, CD27+, IgM+, IgD+ | 14.5 | 13.7 | 11.1% (7.0–23.8) of B cells |
| Transitional | CD19+, CD27-, CD24+, CD38+ | 7.26▲ | 17.1▲ | 2.5% (0.9–5.7) of B cells |
| Naïve | CD19+, CD27-, IgD+ | 60.9 | 70.9 | 65.5% (48.4–79.7) of B cells |

This examination was performed in 2013. ▼ Decreased value; ▲ increased value.

^a The median values, i.e. 5–95% percentile range, are shown in parentheses.

Despite this regimen, we did not achieve satisfactory compensation for either the CVID (the IgG levels were repeatedly <4 g/l, with an increased number of infections) or the T1D (glyc. HbA1c values were repeatedly >100 mmol/mol or >11.3%). We therefore gradually increased the total immunoglobulin replacement therapy dose to 10 g (164 mg/kg) per month and the insulin regime to a total daily dose of 71 IU (1.16 IU/kg/day).

This adjustment led to an increase in the serum IgG level, a decreased number of infections and better compensation for the T1D (fig. 2). During the development of the disease, the patient also exhibited decreased numbers of B lymphocytes (fig. 3), along with a significant decrease in IgA and IgM levels. Additionally, the total IgE level normalized, and the specific IgE level decreased.

The current clinical state of our patient is satisfactory, with no long-term infections. There are no signs of progression of his cer-

vical lymphadenopathy or any other complications. The compensation for T1D is satisfactory as well.

Case 2

An 18-year-old male patient who was being treated for T1D was referred to our department for evaluation of hypogammaglobulinemia, which was discovered during the investigation of a nosocomial lower respiratory tract infection that was acquired during his stay in the hospital.

This patient also presented with a significant family medical history. In particular, his grandparents on his father's side were being treated for type 2 diabetes with macrovascular complications and his older sister was being treated for bronchial asthma and autoimmune thyroiditis. The patient's perinatal and postnatal development had been normal. His first health issue appeared

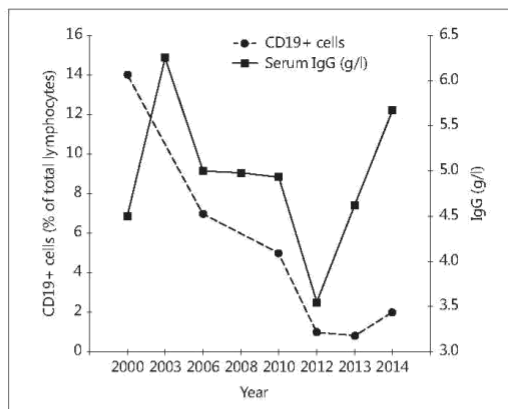


Fig. 3. Serum IgG levels and CD19+ cell numbers in patient 1. Progression of the number of CD19+ cells (% of total lymphocytes) compared with serum IgG levels (g/l) since the diagnosis of CVID in 2000 and adjustment of immunoglobulin substitution to 10 g (164 mg/kg) per month in 2012.

during childhood, when he suffered from recurrent respiratory infections.

At 2 years of age, the patient had been admitted to hospital for severe ketoacidosis and hyperglycemia. Following a laboratory examination, he was diagnosed with T1D with negative T1D-specific antibodies (autoantibodies to GAD and IAA). An intensified insulin regimen was started, with a total daily dose of 57 IU (1.04 IU/kg/day). Despite this regime, satisfactory compensation was not achieved, with glyc. HbA1c values repeatedly >120 mmol/mol, or 13.1%. At 16 years of age, during a regular check-up, he showed signs of renal insufficiency (with an estimated GFR of 0.488 ml/s/1.73 m²), and he was therefore admitted to the hospital for further examination. Laboratory testing (table 1) showed significant proteinuria (1,036 mg/24 h) and hematuria (13,333 erythrocytes/min). As part of the differential diagnosis, a kidney biopsy was performed; this biopsy showed changes that were typical of diabetic glomerulosclerosis/Kimmelstiel-Wilson nephropathy. The patient's stay in the hospital was further complicated by his development of peribronchitis, which required antibiotic therapy. An immunologic examination revealed severe hypogammaglobulinemia in the IgG (0.76 g/l), IgA (0.11 g/l) and IgM (0.04 g/l) classes and lower specific post-vaccination antibodies. An autoantibody panel, cellular immunity and B lymphocyte subpopulations were also examined as part of the differential diagnosis. On the basis of the results (table 2), the patient was diagnosed with type II CVID via the Freiburg classification (fig. 1). Regular intravenous immunoglobulin substitution therapy totaling 10 g (169 mg/kg) per month was started. During the patient's stay in the hospital, his metabolic control of T1D, including glycemic profiles, was satisfactory, and the immunoglobulin substitution was very well tolerated. Since his discharge from the hospital, we have not been able to acquire any new relevant data, as the patient did not attend any follow-up appointments due to noncompliance.

Review of Literature and Data from the ESID Registry Database

Here, we summarize our review of the literature and a targeted search of the ESID Registry Database. A total of 11 case reports involving a combination of T1D and CVID have been published since 1981 [13–22]. T1D was mentioned as a possible autoimmune complication of CVID in only 1 review article [23].

In summary, in most of the reports, the diagnosis of T1D preceded the CVID diagnosis by 7.5 years on average. The mean age at CVID manifestation was 18 years (range 5–39 years). Upper and lower respiratory tract infections were typically found in all patients, and infectious diarrhea and deep-skin infections were less common. In 5 cases (45%), patients had to be treated for severe infections (including sepsis, pneumonia and meningoenophthalitis). Autoimmune diseases other than T1D were found in 4 patients (37%); inflammatory bowel disease in 2 and celiac disease and autoimmune cytopenia in 1 each. Mean age at co-occurrence of T1D manifestation was 11 years (range 11 months to 27 years). Ketoacidosis with hyperglycemia, polyuria with polydipsia, weight loss, fatigue and malaise were typical symptoms that led to the diagnosis of T1D. Similar to the observations in our 2 reported cases, familial occurrence of autoimmune diseases (including T1D) was found in 3 of the case reports published, and primary immunodeficiency (selective immunoglobulin A deficiency, sIgAD) was found in 1 family. T1D-specific antibodies were never detected in 3 previously described patients (27%), and only 1 CVID patient with T1D tested positive for antibodies against islet cells. These antibodies were not assessed in the other patients who were diagnosed before 1982. In all of the published case reports, an intensified insulin regimen and an immunoglobulin replacement therapy were initiated. This complex therapeutic approach led to a reduced number of infections and improvements in metabolic control.

Similarly to CVID, T1D has been described in conjunction with other primary humoral immunodeficiencies, such as sIgAD or Bruton agammaglobulinemia (also known as XLA). The occurrence of T1D in sIgAD has been reported in many studies and varies from 0.5% (500/100,000) in Austria to 1.8% (1,800/100,000) in the UK [24]. Recent data from 2011 show an overall prevalence of T1D among sIgA patients of 1% (1,000/100,000) in a European Caucasian population and a roughly 5-fold-higher prevalence in sIgAD patients compared with the incidence in the general population [25]. In contrast, the association of T1D and XLA has only been described in 1 case report, which described a 14-year-old male patient who developed T1D 11 years after the diagnosis of XLA; this patient had severely impaired antibody production [8].

Based on the findings in the literature, we initiated a targeted search of the ESID Registry database to obtain epidemiological data regarding the occurrence of T1D among CVID patients and to map the current situation. The ESID Registry is a Europe-wide database established in 2004. To date, 19,355 patients with immunodeficiencies documented by 126 collaborating centers have been included. Overall, 1,671 of these patients were registered as having CVID, with 25 having co-occurrence of T1D and CVID. This number is equal to a 1.5% co-occurrence (1,500/100,000). The highest number of patients was reported as being from in the UK (n = 5), the Netherlands (n = 4), Germany (n = 3) and the Czech Republic (n = 3). The remaining countries had fewer than 2 patients.

Discussion

In this report, we describe 2 T1D patients in whom CVID, unrecognized at the onset of the disease, was diagnosed later in its course and the associated autoantibodies were never detected. Our findings are supported by a review of the literature regarding T1D as an autoimmune manifestation of primary humoral immunodeficiency. The search revealed only 11 cases, in total, of co-occurrence of T1D and CVID since 1981 [13–22]. The association between T1D and CVID therefore seems to be uncommon. CVID is typically associated with other forms of autoimmunity, such as immune thrombocytopenic purpura and hemolytic anemia. Apart from above-mentioned case reports, T1D has been mentioned as a possible autoimmune complication of CVID in only 1 review article [23].

We assume that these case reports do not reflect the real incidence of T1D in CVID. In comparison with sIgAD, a humoral immunodeficiency also characterized by immune dysregulation with a higher coincidence of autoimmune diseases, the incidence of T1D is very well-characterized, with a 5-fold increase compared to the incidence in the general population [25]. CVID and sIgAD share some immunological background features, and sIgAD may progress to CVID in some patients; thus, a higher occurrence of T1D can be expected in CVID cohorts [26, 27]. We therefore initiated a targeted search of the ESID registry database, which revealed that 25 of 1,671 listed CVID patients were reported as having T1D, meaning that the co-occurrence of T1D and CVID amounts to 1.5% (1,500/100,000).

Similarly to in our patients, most of the patients described had a substantially delayed diagnosis of CVID, with the average delay between T1D manifestation and CVID diagnosis being 7.5 years. Antibody deficiency was also reflected by missing T1D-associated antibodies. A total of 5/13 patients (38%), including ours, were diagnosed with T1D despite their lack of specific autoantibodies (i.e. anti-GAD, IAA and anti-IA2). In 5 patients diagnosed before 1982, the T1D-related associated autoantibodies were not assessed because autoantibodies to GAD were only discovered and found to be associated with type 1 diabetes in that year [28, 29].

The impaired antibody production with missing specific T1D-associated antibodies caused by the lack of an antigen-specific antibody response in our CVID patients with T1D was accompanied by significant changes in B cell subsets, which were skewed in a fashion that is typical of CVID [30, 31]. In both patients, the B cell subset analysis (table 2) showed a significant reduction in switched-

memory B cells and a slight decrease in plasmablasts. Furthermore, there was increased early maturation of these cells, such as in naïve and transitional B cells. Typical impairment of antibody secretion and maturation defects of B cells, however, does not rule out the possibility that the cells can interact with T lymphocytes. Indeed, impaired T- and B-cell interactions are considered to cause autoimmune complications in CVID.

Our findings confirm experimental data, suggesting that antibodies are not necessary for the development of T1D but indicating the importance of the presence of B lymphocytes [32]. The importance of B lymphocytes in T1D is supported by a demonstration of the positive effect of B lymphocyte depletion in T1D in both mice and humans [33]. Therefore, although the basic function of B lymphocytes, i.e. the secretion of antibodies, only plays a secondary role in T1D pathogenesis by serving as a diagnostic marker, other B lymphocyte functions may be vital for the development of the disease. Chief among these functions is antigen presentation by B lymphocytes and their interaction with CD4+ T lymphocytes, which leads to the proliferation and expansion of T lymphocytes and the T cell-mediated destruction of beta cells [34].

However, a case report showing T1D development on an XLA background with practically no peripheral B lymphocytes present contradicts the necessity of B lymphocytes for T1D development in humans. These findings open up the question about the complexity of immune reactions, including the role of innate immunity, in T1D development. Pathologies in innate immune responses, particularly in dendritic cells, have been described in both CVID and XLA patients [35]. We therefore assume that specific defects both in innate and adaptive immunity combine into a complex immune reaction and contribute to the autoimmune complications associated with CVID which include T1D.

The possibility of CVID and T1D co-occurrence also has clinical importance. The correct diagnosis of CVID and regular immunoglobulin substitution are crucial for immunodeficiency management, although the underlying immunodeficiency in cases of the co-occurrence of T1D and CVID may be overlooked. Less frequent occurrence and a milder clinical course of infections, improvements usually successfully achieved through immunoglobulin replacement therapy, may contribute to better T1D control. However, whether immunoglobulin replacement therapy can also directly influence T1D control is thus far unknown. The basic mechanism underlying the effect of immunoglobulin replacement therapy on CVID is the substitution of immunoglobulins, the pro-

duction of which is impaired due to B lymphocyte defects or impaired B- and T-cell collaboration [36]. The immunomodulatory effect of immunoglobulins on autoimmune processes may also play a role. The main mechanism of immunomodulatory action is the production of anti-idiotypic antibodies that neutralize autoreactive antibodies. Additionally, IVIG can inhibit antibody production and B cell differentiation, induce B cell apoptosis, reduce the production of proinflammatory cytokines, inhibit phagocytosis, increase the number and suppressive function of regulatory T cells or inhibit dendritic cells [37–41]. However, these processes have not yet been clearly documented, especially in connection with T1D as an autoimmune complication of CVID.

To answer these questions, additional investigation is needed. Thus far, we have mapped the current situation through a targeted search of the ESID registry, identifying 25 cases with a CVID and T1D combination. We plan to perform a more detailed study in collaboration with participating centers and to search for the specific immune background that leads to the development of autoimmune T1D in an immunodeficient environment.

Conclusion

Our cases demonstrate a combination of primary immunodeficiency, or CVID, with T1D and, according to our new data from the ESID registry, suggest that T1D is substantially more frequent among CVID patients than

the estimated incidence in the general population. Our findings, supported by a literature review, also confirm that specific T1D-associated antibodies are not crucial for disease development. However, these results present questions regarding the necessity of B cells, their role in T1D pathogenesis as well as the role of innate immunity and the effect of immunoglobulin replacement therapy on T1D development. The possibility of the co-occurrence of T1D and CVID is also important from a clinical standpoint because the correct diagnosis and appropriate treatment of immunodeficiency not only improve the clinical state of the patient and decrease the frequency of concomitant infections, but may also contribute to better control of T1D. Basic immunologic investigations should complement a complex diagnostic process in T1D patients, particularly those with repeated infections.

Acknowledgments

This article was written with contributions from B. Gathmann on behalf of the ESID Registry Working Party and collaborating centers: B. Grimbacher (University College London), T.W. Kuijpers (Academisch Medisch Centrum, Amsterdam), E. Scharbatke (Universitätsklinikum Würzburg), B. Belohradsky (Ludwig/Maximilians Universität, München), A. Helbling (Inselspital, Bern), H. Longhurst (Bartshealth NHS), J. Litzman (University Hospital U Sv. Anny) and C. Bangs (Central Manchester University Hospitals). The study was supported by the Ministry of Health, Czech Republic – conceptual development of research organization, University Hospital Motol, Prague, Czech Republic (00064203).

References

- Liese AD, D'Agostino RB Jr, Hamman RF, et al: The burden of diabetes mellitus among US youth: prevalence estimates from the SEARCH for Diabetes in Youth Study. *Pediatrics* 2006;118:1510–1518.
- Patterson CC, et al: Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989–2003 and predicted new cases 2005–20: a multicentre prospective registration study. *Lancet* 2009;373:2027–2033.
- Herold KC, et al: Type 1 diabetes: translating mechanistic observations into effective clinical outcomes. *Nat Rev Immunol* 2013;13:243–256.
- Cheng-Rui L, Bradley L: The role of Th17 cells in type 1 diabetes. *J Immunol* 2012;188:123–130.
- Lehuen A, et al: Immune cell crosstalk in type 1 diabetes. *Nat Rev Immunol* 2010;10:501–513.
- Notkins AL, Lernmark A: Autoimmune type 1 diabetes: resolved and unresolved issues. *J Clin Invest* 2001;108:1247–1252.
- Atkinson MA, Eisenbarth GS: Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. *Lancet* 2001;358:221–229.
- Martin S, et al: Development of type 1 diabetes despite severe hereditary B-lymphocyte deficiency. *N Engl J Med* 2001;345:1036–1040.
- Jolles S: The variable in common variable immunodeficiency: a disease of complex phenotypes. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2013;1:545–556;quiz 557.
- Bergbreiter A, Salzer U: Common variable immunodeficiency: a multifaceted and puzzling disorder. *Expert Rev Clin Immunol* 2009;5:167–180.
- Deane S, et al: Common variable immunodeficiency: etiological and treatment issues. *Int Arch Allergy Immunol* 2009;150:311–324.
- Cunningham-Rundles C: Autoimmune manifestations in common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol* 2008;28(suppl 1):S42–S45.
- Catassi C, et al: Unresponsive enteropathy associated with circulating enterocyte autoantibodies in a boy with common variable hypogammaglobulinemia and type I diabetes. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1988;7:608–613.
- Conley ME, Park CL, Douglas SD: Childhood common variable immunodeficiency with autoimmune disease. *J Pediatr* 1986;108:915–922.
- Filipovic B, et al: Common variable immunodeficiency associated with inflammatory bowel disease and type I diabetes. *Clin Med Case Rep* 2009;2:67–71.
- Iglesias P, Ferreira A, Diez JJ: Common variable immunodeficiency in an adult woman with IDDM. *Diabetes Care* 1998;21:1029.

- 17 Johnston SL, Virgo PF, Unsworth DJ: Type 1 diabetes mellitus masking primary antibody deficiency. *J Clin Pathol* 2000;53:236–237.
- 18 Lopez Cruz MC, et al: Common variable immunodeficiency, insulin-dependent diabetes mellitus and celiac disease. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2000;28:323–327.
- 19 Metin A, Tezcan I, Ozyurek H: IDDM in an adolescent patient with common variable immunodeficiency. *Diabetes Care* 1997;20:677–678.
- 20 Moffitt JE, et al: Type I diabetes in an adolescent with common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 1989;84:191–196.
- 21 Yamaoka M, et al: A case of long-standing autoimmune type 1 diabetes with common variable immunodeficiency. *Diabetol Int* 2011;3:1.
- 22 Young RJ, et al: Development of insulin-dependent diabetes in adult-onset hypogammaglobulinaemia. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1981;282:1668.
- 23 Bussone G, Mouthon L: Autoimmune manifestations in primary immune deficiencies. *Autoimmun Rev* 2009;8:332–336.
- 24 Acerini CL, et al: Coeliac disease in children and adolescents with IDDM: clinical characteristics and response to gluten-free diet. *Diabet Med* 1998;15:38–44.
- 25 Wang N, et al: Selective IgA deficiency in autoimmune diseases. *Mol Med* 2011;17:1383–1396.
- 26 Aghamohammadi A, et al: Progression of selective IgA deficiency to common variable immunodeficiency. *Int Arch Allergy Immunol* 2008;147:87–92.
- 27 Hammarstrom L, Vorechovsky I, Webster D: Selective IgA deficiency (SigAD) and common variable immunodeficiency (CVID). *Clin Exp Immunol* 2000;120:225–231.
- 28 Baekkeskov S, Lernmark A: Rodent islet cell antigens recognized by antibodies in sera from diabetic patients. *Acta Biol Med Ger* 1982;41:1111–1115.
- 29 Baekkeskov S, et al: Autoantibodies in newly diagnosed diabetic children immunoprecipitate human pancreatic islet cell proteins. *Nature* 1982;298:167–169.
- 30 Al Kindi M, et al: Utility of peripheral blood B cell subsets analysis in common variable immunodeficiency. *Clin Exp Immunol* 2012;167:275–281.
- 31 Vlkova M, et al: Characterization of lymphocyte subsets in patients with common variable immunodeficiency reveals subsets of naive human B cells marked by CD24 expression. *J Immunol* 2010;185:6431–6438.
- 32 Wong FS, et al: Investigation of the role of B-cells in type 1 diabetes in the NOD mouse. *Diabetes* 2004;53:2581–2587.
- 33 Marino E, et al: B cell-directed therapies in type 1 diabetes. *Trends Immunol* 2011;32:287–294.
- 34 Cox SL, Silveira PA: Emerging roles for B lymphocytes in type 1 diabetes. *Expert Rev Clin Immunol* 2009;5:311–324.
- 35 Sochorova K, et al: Impaired Toll-like receptor 8-mediated IL-6 and TNF-alpha production in antigen-presenting cells from patients with X-linked agammaglobulinemia. *Blood* 2007;109:2553–2556.
- 36 Durandy A, et al: Immunoglobulin replacement therapy in primary antibody deficiency diseases – maximizing success. *Int Arch Allergy Immunol* 2005;136:217–229.
- 37 Durandy A, et al: Intravenous immunoglobulins – understanding properties and mechanisms. *Clin Exp Immunol* 2009;158(suppl 1):2–13.
- 38 Ephrem A, et al: Expansion of CD4+CD25+ regulatory T cells by intravenous immunoglobulin: a critical factor in controlling experimental autoimmune encephalomyelitis. *Blood* 2008;111:715–722.
- 39 Kessel A, et al: Intravenous immunoglobulin therapy affects T regulatory cells by increasing their suppressive function. *J Immunol* 2007;179:5571–5575.
- 40 Matusci A, Maggi E, Vultaggio A: Mechanisms of action of Ig preparations: immunomodulatory and anti-inflammatory effects. *Front Immunol* 2014;5:690.
- 41 Paquin-Proulx D, et al: IVIg immune reconstitution treatment alleviates the state of persistent immune activation and suppressed CD4 T cell counts in CVID. *PLoS One* 2013;8:e75199.

3.7.5. CVID a osteoporóza

Osteoporóza je charakterizována ztrátou kostní hmoty, změnami v mikroarchitektuře kosti a zvýšenou lomivostí, které vedou ve svém důsledku ke zvýšenému riziku zlomenin. Snížení odolnosti kosti je spojeno i s dalšími faktory kromě kostní denzity (BMD), jako jsou kostní obrat, geometrie, velikost a tvar kostí a mikroarchitektura kosti. Světová zdravotnická organizace definovala práh pro osteoporózu na základě měření kostní denzity mladých dospělých (T-skóre). Při zjištění snížení BMD Z-skóre (věkové srovnání) je nutné pátrat po sekundárních faktorech [142,199].

Mezi klinicky relevantní rizikové faktory kostních fraktur patří vyšší věk, anamnéza předchozí zlomeniny, zlomenina krčku stehenní kosti u rodičů, nízký body mass index, kuřáctví, nadměrná konzumace alkoholu, revmatoidní artritida a další sekundární faktory, např. hypogonadismus, předčasná menopauza, malabsorpce, chronické jaterní onemocnění zejména ve spojitosti s cholestázou, celiakie, nespecifické střevní záněty

[15,67,104,240].

Glukokortikoidy představují dominující příčinou ztráty kostní denzity indukované léky [116]. Dalšími léky vedoucími ke stejným důsledkům jsou kalcineurinové inhibitory, antiretrovirové léky, selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu, kličková diuretika, heparin, p. o. antikoagulancia, vysoké dávky thyroxinu a inhibitorů protonové pumpy [140].

Z tohoto výčtu je patrné, že u nemocných s CVID najdeme množství kandidátů ohrožených vznikem osteoporózy a potažmo i fraktur. Významné je zjištění tureckých autorů, kteří mezi 23 dospělými pacienty s CVID identifikovali 9 se snížením kostní denzity (3 osteoporóza a 3 osteomalacie), nejčastěji ve spojení s deficitem vitamínu D. U dalších bylo možné vysledovat rizikové faktory ve formě léčby kortikoidů pro lymfom, chronické jaterní a střevní postižení, revmatoidní artritidu. Byly však zachyceny i 2 mladé nemocné (29 a 31 let) bez dalších jasných rizikových faktorů [13]. Alarmující jsou výsledky Barise a kol (Turecko) u mladých CVID nemocných (věkový průměr 16 let), kdy vyšetření DEXA prokázalo osteopenii u 6/22 (27,3 %), osteoporózu u 9/22 (16 %) v oblasti bederní páteře, a osteopenii u 7/19 (37 %) a osteoporózu u 3/19 (16 %) v oblasti krčku femuru. 4 nemocní starší 15 let již měli anamnézu fraktury. Jako rizikové faktory byly identifikovány vyšší věk, snížení ventilačních parametrů, bronchiektázie, nízké sérové koncentrace vitamínu 1,25(OH)₂ D₃, nízký dietní přísun vápníku, nízký počet B-lymfocytů a nízké sérové koncentrace IgG [18].

3.7.6. CVID a nádorová onemocnění

Řada studií udává zvýšenou frekvenci nádorových onemocnění mezi nemocnými s CVID. Obecně lze říci, že se incidence nádorů pohybuje kolem 11 % (4,8-20,7 %) (tab. č. 1). Obvykle jsou diagnostikovány mezi 4. - 6. dekádou s rizikem 5 -12krát vyšším než v obecné populaci. Nejčastějšími typy jsou lymfomy a adenokarcinom žaludku. V incidenci lze vysledovat geografické rozdíly ^[210]. Doposud nebyla k dispozici žádná data pro Českou republiku. Za tímto účelem byla provedena česká celonárodní studie, jejíž výsledky jsou součástí tab. 1.

| Publikace | Populace | Sledované období | Počet nemocných | NHL | HL | Karcinom žaludku | Další nádory | Celkem |
|---|----------------------------|------------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|
| Kinlen, et al ^[107] | Velká Británie | 1957-1981 | 220 | 3 (1,4 %) | | 7 (3,1 %) | 4 (1,8 %) | 14 (6,4 %) |
| Gathmann, et al ^[70] | Evropa (ESID-registr) | 2004-2012 | 902 | 23 (2,5 %) | | 41 (4,5 %) | | 64 (7,1 %) |
| Quti, et al ^[169] | Itálie | 1999-2007 | 224 | 4 (1,8 %) | 2 (0,9 %) | 8 (3,6 %) | 14 (6,25 %) | 28 (12,5 %) |
| Oksenhendler, et al ^[146] | Francie | 2004-2007 | 252 | 16 (6,3 %) | 0 | 26 (9,1 %) | 42 (16,6 %) | 84 (33,3 %) |
| Resnick, et al ^[171] | USA | 1973-2012 | 473 | 34 (7,1 %) | 4 (0,8 %) | 3 (0,6 %) | 31 (6,3 %) | 72 (15,2 %) |
| Kokron, et al ^[110] | Brazílie | 1980-2003 | 71 | 3 (4,2 %) | 1 (1,5 %) | 2 (2,8 %) | 6 (8,4 %) | 12 (16,9 %) |
| Kralickova and Milota, et al | Česká republika | 1997-2016 | 295 | 4 (1,4 %) | 5 (1,7 %) | 6(2%) | 10 (3,4 %) | 25 (8,5 %) |

Tab č. 1: Výskyt nádorových onemocnění ve vybraných studiích a porovnání s výsledky české celonárodní studie.

(NHL – non-Hodgkinův lymfom, HL – Hodgkinova choroba)

Výsledky jsou *in extenso* v publikaci:

Králíčková P, Milota T, Litzman J, Malkusová I, Jílek D, Petanová J, Vydláková J, Zimulová A, Froňková E, Svatoň M, Kanderová V, Bloomfield M, Paráčková Z, Klocperk A, Haviger J, Kalina T, Šedivá A. CVID-Associated Tumors: Czech Nationwide Study Focused on Epidemiology, Immunology, and Genetic Background in a Cohort of Patients With CVID. *Front Immunol* 2019 Jan 22; 9: 3135. **IF=5,511**



CVID-Associated Tumors: Czech Nationwide Study Focused on Epidemiology, Immunology, and Genetic Background in a Cohort of Patients With CVID

Pavlina Kralickova^{1†}, Tomas Milota^{2*†}, Jiri Litzman³, Ivana Malkusova⁴, Dalibor Jilek⁵, Jitka Petanova⁶, Jana Vydakova⁷, Alena Zimulova⁸, Eva Fronkova⁹, Michael Svaton⁹, Veronika Kanderova⁹, Marketa Bloomfield², Zuzana Parackova², Adam Klocperk², Jiri Haviger¹⁰, Tomas Kalina⁹ and Anna Sediva²

OPEN ACCESS

Edited by:

Fabian Hauck,
LMU München, Germany

Reviewed by:

Roshini Sarah Abraham,
Nationwide Children's Hospital,
United States
Jolan Eszter Walter,
University of South Florida,
United States

*Correspondence:

Tomas Milota
tomas.milota@fnmotol.cz

†These authors have contributed
equally to this work

Specialty section:

This article was submitted to
Primary Immunodeficiencies,
a section of the journal
Frontiers in Immunology

Received: 11 September 2018

Accepted: 19 December 2018

Published: 22 January 2019

Citation:

Kralickova P, Milota T, Litzman J,
Malkusova I, Jilek D, Petanova J,
Vydakova J, Zimulova A, Fronkova E,
Svaton M, Kanderova V, Bloomfield M,
Parackova Z, Klocperk A, Haviger J,
Kalina T and Sediva A (2019)
CVID-Associated Tumors: Czech
Nationwide Study Focused on
Epidemiology, Immunology, and
Genetic Background in a Cohort of
Patients With CVID.
Front. Immunol. 9:3135.
doi: 10.3389/fimmu.2018.03135

¹ Department of Allergology and Clinical Immunology, Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital in Hradec Kralove, Hradec Kralove, Czechia, ² Department of Immunology, Second Faculty of Medicine, Charles University and Motol University Hospital, Prague, Czechia, ³ Department of Allergology and Clinical Immunology, Faculty of Medicine, Masaryk University and St Anne's University Hospital in Brno, Brno, Czechia, ⁴ Department of Allergology and Clinical Immunology, Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University and University Hospital Pilsen, Pilsen, Czechia, ⁵ Department of Allergology and Clinical Immunology, Institute of Health, Usti nad Labem, Czechia, ⁶ Institute of Immunology and Microbiology, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague, Prague, Czechia, ⁷ Department of Clinical Immunology and Allergology, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czechia, ⁸ Department of Pneumology, Regional Thomas Bata Hospital, Zlin, Czechia, ⁹ Childhood Leukemia Investigation Prague, Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czechia, ¹⁰ Department of Informatics and Quantitative Methods, Faculty of Informatics and Management, University of Hradec Kralove, Hradec Kralove, Czechia

Background: Common variable immunodeficiency disorder (CVID) is one of the most frequent inborn errors of immunity, increased occurrence of malignancies, particularly lymphomas, and gastric cancers, has long been noted among CVID patients. Multifactorial etiology, including immune dysregulation, infections, chronic inflammation, or genetic background, is suggested to contribute to tumor development. Here, we present the results of the first Czech nationwide study focused on epidemiology, immunology and genetic background in a cohort of CVID patients who also developed tumors

Methods: The cohort consisted of 295 CVID patients followed for 3,070 patient/years. Standardized incidence ratio (SIR) was calculated to determine the risk of cancer, and Risk ratio (RR) was established to evaluate the significance of comorbidities. Moreover, immunophenotyping, including immunoglobulin levels and lymphocyte populations, was assessed. Finally, Whole exome sequencing (WES) was performed in all patients with lymphoma to investigate the genetic background.

Results: Twenty-five malignancies were diagnosed in 22 patients in a cohort of 295 CVID patients. SIR was more than 6 times greater in comparison to the general population. The most common neoplasias were gastric cancers and lymphomas. History of Immune thrombocytopenic purpura (ITP) was established as a potential risk factor, with over 3 times higher risk of cancer development. The B cell count at diagnosis of

lymphoma was reduced in the lymphoma group; moreover, post-treatment B and T cell lymphopenia, associated with poorer outcome, was found in a majority of the patients. Intriguingly, no NK cell depression was observed after the chemotherapy. WES revealed heterogeneous genetic background among CVID patients with tumors, identifying gene variants associated with primary immunodeficiencies (such as CTLA4, PIK3CD, PMS2) and/or increased cancer susceptibility (including BRCA1, RABEP1, EP300, KDM5A).

Conclusions: The incidence of malignancy in our CVID cohort was found to be more than 6 times greater compared to the general population. Gastric cancers and lymphomas were the most frequently diagnosed tumors. ITP was identified as a risk factor for malignancy in CVID patients. WES analysis confirmed a wide genetic heterogeneity among CVID patients. The identified causative or modifying gene variants pointed to errors in mechanisms contributing to both immunodeficiency and malignancy.

Keywords: common variable immunodeficiency, malignancy, lymphoma, gastric cancer, whole exome sequencing

INTRODUCTION

Immune control of tumor development and growth requires a functional immune system capable of complex immune responses necessary for recognition and elimination of malignant cells. As such, inborn errors resulting in immunodeficiencies may convey an increased risk of cancer. In general, the spectrum of malignancies in primary immunodeficiency (PID) patients is clearly biased when compared to malignant diseases in the general population. Malignancies in PIDs tend to be restricted to certain oncological entities, and their pathophysiology is often linked to the mechanism underlying the particular immunodeficiency (1). For example, immunodeficiencies associated with gain-of-function mutations in *PIK3* are associated with a high risk of lymphoma (2). The role of this signaling pathway in cancer genesis and immunodeficiency is validated by therapeutic success of targeted PI3K/mTOR pathway inhibition used in activating *PIK3* syndrome, as well as in malignant diseases (3). Similarly, immunodeficiencies arising from developmental defects of stem cells, myeloid cells or lymphocytes are associated with an increased incidence of leukemia or lymphomas, implying errors in the corresponding pathways (1). Recent advances in understanding of molecular mechanisms underlying primary immunodeficiencies, as well as tumors, has provided evidence for such associations. However, in immunodeficiencies that are not yet precisely defined by their molecular/genetic cause, the situation is more complex. Common variable immunodeficiency disorder (CVID) is one of the most frequent forms of antibody deficiencies; yet, its pathophysiology remains largely unknown. The hallmark of CVID is the impairment of the B cell compartment, typically manifesting as a reduction of mature forms of B cells and expansion of less differentiated stages of B lymphocytes (4). The T cell compartment is also usually skewed in CVID, specifically toward terminally differentiated forms, including senescent cells, typically affecting both CD4 and CD8 T cells, which are crucial for anti-tumor immunity (5). The mechanisms of B cell involvement in anti-tumor

immunity are largely unknown. B cells may promote both pro-tumorigenic responses (e.g., specific subsets of B cells may produce IL-10 or TGF-beta with immunosuppressive properties, B cells may promote tumor genesis and tumor progression by alteration of the angiogenic and proinflammatory microenvironment), as well as anti-tumorigenic responses (e.g., B cells may enhance cytotoxic T cell activity, indirectly mediate antibody dependent cytotoxic mechanisms or serve as professional antigen-presenting cells, initiating the T cell response) (6). Inborn impairment of the B cell lineage, along with T cell dysregulation, may facilitate the genesis of tumors in CVID patients. Furthermore, the immunologic defect is accentuated by recurrent and chronic infections. Chronic viral infections, particularly EBV, are strongly associated with lymphoproliferative diseases and lymphoma (7). Additionally, chronic inflammatory response, *per se*, represents a risk factor for tumor development, especially in patients genetically predisposed to malignancy.

Efforts made to establish the genetic etiology of CVID have thus far been successful in 2–10% of CVID patients (known CVID-associated gene variants are shown in Table 1) (8). Some of the CVID-associated genes represent a clear predisposition to cancer, as described in previously published CVID cohorts; most prominently, these mutations are in genes causing alterations in the NFkB or PI3k pathways or in genes affecting B cell receptors (3, 9, 10).

Overall, the factors contributing to increased incidence of malignancy in CVID are complex, encompassing genetics, immune response dysregulation, infections, inflammation, and perhaps other not yet elucidated mechanisms.

Here, we present the results of a complex study on a Czech national cohort of CVID patients who also presented with malignancy. National epidemiological data were collected, immune profiles were analyzed and, in a subgroup of CVID patients with lymphoma, Whole exome sequencing (WES) was performed.

TABLE 1 | List of genes associated with Common variable immunodeficiency (monogenic causes and modifier genes) and their prevalence, adjusted according to Bogaert et al. (8).

| Gene | Prevalence (%) |
|---|----------------|
| MONOGENIC CAUSE OF CVID: 2–10% | |
| <i>PIK3CD</i> | 26.74 |
| <i>LRBA</i> | 26.74 |
| <i>CTLA4</i> | 6.42 |
| <i>NFKB2</i> | 5.35 |
| <i>TNFRSF7 (CD27)</i> | 4.81 |
| <i>PIK3R1</i> | 4.81 |
| <i>JCOS</i> | 3.74 |
| <i>CD19</i> | 3.74 |
| <i>IL-21R</i> | 3.21 |
| <i>IKZF1 (IKAROS)</i> | 3.21 |
| <i>PRKCD</i> | 2.14 |
| <i>PLCG2</i> | 2.14 |
| <i>NFKB1</i> | 1.6 |
| <i>CR2 (CD21)</i> | 1.7 |
| MODIFIER GENES: UNKNOWN PREVALENCE | |
| <i>TNFRSF13B (TAC1), TNFRSF13C (BAFF-I), MSH2, MSH5, CLECG1, MLH1, RAD50, OPR4L, FCGR2A</i> | |

METHODS

This study was approved by local ethics committee of Motol University Hospital. Written informed consents were obtained from all enrolled patients.

Data Collection

Retrospective clinical and laboratory data of 295 enrolled patients were obtained from medical records of national referral centers for the treatment of adult patients with primary immunodeficiency diseases. The collected data covered the period from 1997 to 2016. They included a total amount and a length of surveillance of all COVID patients fulfilling ESID/PAGID criteria, a number of COVID cancer patients and patient-specific data: year of birth, age at first symptoms associated with COVID and their nature, clinical comorbidities, age at cancer diagnosis, type of cancer, therapeutic regimens, survival rates, cause of death (if applicable), and specific details of cancer diagnostics.

A more detailed set of clinical data was obtained from 11 COVID patients with cancer and from 160 randomly selected cancer-free COVID patients, who represented the reference group. This cohort included 95 females and 65 males with a median age of 48 years (range 19–88). Czech general population data on occurrence of malignancy were obtained from the Czech National Cancer Registry and covered the period from 1994 to 2014 (the last available reports).

Epidemiology

Prevalence and SIR were calculated to express the probability of cancer diagnosis in a COVID cohort compared to the general population. RR was used to assess the significance

of comorbidities in COVID patients with cancer. Confidence intervals (95% CIs) were determined for both parameters. All results for which number 1 was beyond the 95% CI were accepted as statistically significant (11).

Immunophenotyping

Serum levels of IgM, IgG, IgA were evaluated by nephelometric method using Image 800 systems (Beckman-Coulter, Brea, CA, USA). Basic lymphocyte subpopulations, including T cells, T helper cells, T cytotoxic cells, B cells and NK cells, were distinguished by FACS based on the expression of specific cell surface membrane markers using fluorochrome-conjugated monoclonal antibodies CD3-FITC, CD4-PE/Cy, CD8-APC/Cy, CD19-APC, CD16-PE, CD56-PE; KOMBITEST, Exbio, Prague, Czech Republic. B cell subpopulations (including CD21low, naive, transitional, marginal zone-like, class-switched cells, and plasmablasts) and T cell subpopulations (recent thymic emigrants-RTE, naive, central memory-CM, effector memory-EM, effector memory expressing CD45RA-TEMRA, activated T cells) were performed using antibody-fluorochrome conjugates: CD45-APC-H7, CD3-APC, CD4-PerCP-Cy5.5, CD16-PE, CD56-PE, TCRgd-PE-Cy7, CD38-FITC, CD21-APC, IgM-FITC, CD8-Horizon V-500, CD45RA-PE-Cy7 (BD Biosciences, San Jose, CA, USA), CD5-PE, CD8-FITC, CD27-Brilliant Violet 421, IgM-Brilliant Violet 510, IgD-PerCP-Cy5.5, CD4-Brilliant Violet 510, CD62L-Brilliant Violet 421, HLA-DR-PerCP-Cy5.5 (BioLegend, San Diego, CA), CD19-PE-Cy7, CD24-PE, CD24-APC-Alexa Fluor 750, CD8-APC-Alexa Fluor 750 (Beckman Coulter, Miami, FL, USA), CD27-Pacific Blue, CD38-Alexa Fluor 700, CD45RO-FITC, CD31-PE, CD4-Alexa Fluor 700 (Exbio, Vestec, Czech Republic), CCR7-PE (MiltenyiBiotec, BergischGladbach, Germany), CD3-PerCP-Cy5.5 (Affymetrix eBioscience, ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA), and IgD biotin (SouthernBiotech, Birmingham, AL, USA) followed by Streptavidin-Qdot 605 (Invitrogen, ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA).

The absolute and relative counts were assessed for all subpopulations. Examinations of the basic subpopulations and immunoglobulin levels were performed at the time of diagnosis of COVID and at the time of diagnosis of lymphoma. The B and T cell subpopulations were measured prior to the genetic testing. All parameters were compared to the control cohort of 20 randomly selected COVID patients without lymphoma. All obtained data were statistically evaluated. A non-parametric Mann-Whitney test was used to compare independent samples, and a non-parametric Wilcoxon matched-pairs signed rank test was used to compare dependent samples; differences of $p < 0.05$ were regarded as significant. Median and 95% CIs were calculated for all analyzed parameters.

CTLA-4 Expression

CTLA-4 expression was assessed in patient with novel mutations using FACS. Intracellular CTLA-4 was detected 16h following anti-CD3/CD28 stimulation (Dynabeads, Thermo Fisher Scientific, MA, USA) using CTLA4-APC antibody together with the FOXP3 Fix/Perm Buffer set (BioLegend, San Diego, CA, USA) in CD4+CD127dimCD25+ T regulatory cells (Tregs).

CD45-APC-H7, CD4-Brilliant Violet 510, and CD127-Brilliant Violet 421 (BD Biosciences, San Jose, CA, USA), CD25-PE-Cy7 and CD8-FITC (Exbio, Vestec, Czech Republic) antibodies were used for detection of Tregs.

Whole Exome Sequencing

Sequencing libraries were prepared using a SureSelectXT Human All Exon V6+UTR kit (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) from DNA isolated from patients' peripheral blood with a QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany). Sequencing was performed by our facility on the NextSeq 500 (Illumina, San Diego, CA) instrument according to the manufacturer's protocols. The reads in resulting Fastq files were aligned against the human reference genome hg19 with BWA (12). Genomic variants were called with samtools and VarScan (13). Variant annotation was performed using SnpEff (14). Variant filtering was performed with Ingenuity® Variant Analysis™ (IVA) software (www.qiagen.com/Ingenuity, QIAGEN). Only variants with read depths of at least 10 and allele frequencies of at least 0.3 were evaluated. Common variants with allele population frequencies of more than 0.1% or homozygous counts of 5 or more in the ExAC or gnomAD databases were filtered out unless reported as disease-causing in the HGMD® (BIOBASE GmbH) or dbSNP databases (15, 16). Variants predicted to have low impact by at least 2 out of 3 scores calculated by SIFT, PolyPhen2, or CADD and present in population databases were also discarded (17–19). Remaining variants were manually evaluated in Integrative Genomics Viewer (<http://www.broadinstitute.org/igv>) to exclude variants in reads with low mapping quality (20). The analysis was then focused on variants in genes reported as causative for inborn errors of immunity in the last International Union of Immunological Societies (IUIS) guidelines, cancer-predisposition genes in children and in-house lists of genes possibly leading to immune dysregulation based on recent publications and close interactions with causative genes reported by IUIS (21, 22).

RESULTS

Epidemiology and Clinical Manifestation

Our cohort of patients included 295 patients followed for 3,070 patient/years in total. The average ages at the first CVID-related symptoms and at the time of CVID diagnosis in a subgroup of CVID patients with malignancy were 34.2 and 38.3 years, respectively. A total of 25 malignancies were found in 22 patients (7.4% of all included patients) with SIR 6.3 (95% CI: 4.08–9.31). These cases included 6/25 (24.0%) gastric carcinoma (GC); SIR 5.7, 95% CI: 2.08–12.32, 4/25 (16.0%), B cell Non-Hodgkin lymphoma (B-NHL); SIR 5.5, 95% CI: 1.50–14.09, 5/25 (20.0%), Hodgkin lymphoma (HL); SIR 30.0, 95% CI: 9.73–69.93 and 10/24 (41.7%) other cancers (SIR 5.0, 95% CI: 2.40–9.16). These were two cases of spinocellular carcinoma, basocellular carcinoma, and T-cell lymphoma, and a single case each of tonsillar carcinoma, breast carcinoma, renal carcinoma and urine bladder cancer. Cancer duplicity was observed in 3 patients (gastric and tonsillar carcinoma, breast cancer and urothelial

carcinoma, spinocellular, and gastric carcinoma). Malignancies were diagnosed in 16 males and 6 females; the average age at diagnosis was 52.3 years (15 years after the diagnosis of CVID and 19 years after the first symptoms). The average ages of manifestation of GC, B-NHL, and HL in CVID cancer group were 55–59, 35–39, and 40–44 years, respectively.

Autoimmune cytopenias, including Immune thrombocytopenic purpura (ITP) and Autoimmune hemolytic anemia (AIHA), were the most common complications in CVID both with and without malignancy. They were found in 8/22 (36.4%) and 27/160 (16.9%), respectively. Interestingly, a strikingly increased risk of malignancy was detected in a subgroup of CVID patients with a history of ITP (RR 3.52, 95% CI 1.42–7.26). Cumulative risk (RR 4.53, 95% CI 1.23–11.59) observed for B-NHL and HL together was similar. However, no risk increase was observed for isolated HL, B-NHL, and GC, probably due to the small number of cancer events and because the direct association with other documented CVID-related comorbidities was not significant (data not shown).

As mentioned above, lymphomas and GC represent the most frequent malignancies diagnosed in CVID patients in our cohort. While five out of six patients with GC (4 males, 2 females) underwent surgery, one received palliative chemotherapy with FLOX regimen (fluorouracil, leucovorin, oxaliplatin) due to highly progressed disease at the time of diagnosis. Five out of six patients had deceased before the study initiation, 2/6 (33.3%) due to disease progression, 2/6 (33.3%) passed away after achieving more than 10 years survival, and one patient died because of malnutrition due to severe enteropathy 2 years after the diagnosis of lymphoma. All patients suffered from various gastrointestinal complications related to CVID, and the majority of them also had splenomegaly.

All 5 patients (4 males, 1 female) with HL received chemotherapy. The following chemotherapeutic regimens were used: R-CHOP (rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone) in 2/5 (40%) of patients, BEACOPP (bleomycine, etoposide, doxorubicin, cyclophosphamide, vincristine, procarbazine, prednisone), eBEACOPP respectively, in 2/5 (40%) and DBVE-PC (adriamycin, bleomycine, vincristine, etoposide, prednisone, cyclophosphamide) in 1 patient (20%). No therapy-associated deaths or unexpected toxicities were noted. One patient died 3 years after treatment because of severe enteropathy, and 4/5 (80%) patients are still surviving today. All patients had previously described splenomegaly, and 3/5 (60%) had lymphadenopathy described prior to cancer diagnosis.

Similarly, all 4 patients (3 males, 1 female) with B-NHL received chemotherapy; no therapy-associated deaths or unexpected toxicities were noted. The following chemotherapeutic regimens were used: R-CHOP/CHOP [rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone] in 3/4 (75%) patients—2 with DLBCL (Diffuse large B-cell lymphoma) and in 1 patient with MALT (Mucosa-associated lymphoid tissue) lymphoma. A GMALL (German multicenter ALL) regimen was used in 1 patient with Burkitt lymphoma. Two of these patients had been regularly followed even prior to the diagnosis of B-NHL for lymphadenopathy and previously reported splenomegaly. All patients are still

alive. T-NHL was diagnosed in 2 patients. The clinical features of CVID patients in whom lymphomas were diagnosed are summarized in Tables 2, 3. In this cohort, WES and detailed immunophenotyping were performed as part of further investigation (results presented further).

Immunophenotype

Parameters of cellular immunity were investigated, including T cell (CD4 T helpers as well as CD8 T cytotoxic cells), B cell and NK cell counts. No significant differences were registered between the absolute counts of T cells, T helper cells and T cytotoxic cells at the time of diagnosis of CVID in a cohort of patients with lymphoma compared to those without lymphoma. The T cell counts were also well within the normal reference ranges (T cells 0.8–2.10E9/l, T helper cells 0.3–2.8E9/l, T cytotoxic cells 0.2–1.0E9/l). Unsurprisingly, the chemotherapeutic regimens for lymphoma led to skewing of T cell numbers (median 0.65E9/l, 95% CI 0.46–0.75 vs. 1.22E9/l, 95% CI 1.07–1.47, $***p = 0.0004$), specifically T helper cells (median 0.34E9/l, 95% CI 0.14–0.36 vs. 0.56E9/l, 95% CI 0.53–0.76, $***p = 0.0004$) and T cytotoxic cells (0.26E9/l, 95% CI 0.14–0.36 vs. 0.54E9/l, 95% CI 0.41–0.64, $**p = 0.006$).

The number of total B cells at the diagnosis of CVID did not differ significantly from the control group of CVID patients without lymphoma and from normal ranges. No significant difference was noted in the serum levels of IgG in the group of CVID patients with lymphoma (median 2.88 g/l, 95% CI 1.83–3.91, normal values 7.65–13.6 g/l) compared to the CVID control group (median 2.02 g/l, 95% CI 1.63–3.24). In contrast, the number of total B cells at the diagnosis of lymphoma was reduced in the lymphoma group (median 0.01E9/l, 95% CI 0–0.13 vs. 0.195E9/l, 95% CI 0.16–0.29, $**p = 0.006$). Absolute B cell counts were further depleted by the chemotherapy (median 0.11E9/l, 95% CI 0–0.46 vs. 0.08E9/l, 95% CI 0.03–0.197, $*p = 0.02$). Post-therapeutic B cell lymphopenia (B cells count ≤ 0.03 E9/l) was found in 6 patients. A complete total B cell count reconstitution was achieved in only 3 patients (median 0.33E9/l, range 0.137–0.654); however, mature forms of B cells, including marginal zone-like, class-switched cells and plasmablasts, remained reduced in these subjects (mean interval after chemotherapy 102 months, range 6–204). The remaining 3 patients failed to re-establish their B cell populations and continued to maintain severely reduced B cell compartments (mean 0.02E9/l, range 0.001–0.08; mean interval after chemotherapy 39 months, range 4–145). Concerning NK cells, their absolute counts were similar to CVID patients without lymphoma and the general population (normal range 0.05–1.0 E9/l) and remained unchanged throughout the disease course. Curiously, no NK cell depression was observed after the chemotherapy. The immunophenotype profiles are summarized in Figure 1, and the B cell subpopulations are shown in detail in Table 4 and Figure 2.

Whole Exome Sequencing

WES was performed in 10 out of 11 CVID patients with lymphoma in whom biological material for genetic testing was available. The WES results were divided into 5 groups.

TABLE 2 | Characteristics of the cohort of 11 CVID patients with lymphoma (M, Male; F, Female; LYM, Lymphadenopathy; SPLE, Splenomegaly; ITP, Idiopathic thrombocytopenic purpura; RTI, Respiratory tract infections; DBLCL, lymphoma, Diffuse large B-cell lymphoma; MALT lymphoma, Mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma; PTCL, Peripheral T-cell lymphoma; N/A, not applicable; Y, Yes; N, No; chemotherapeutic regimens are described in the results).

| Patient Nr. | Gender | Age at diagnosis of CVID | Manifestation | IgG serum level | Age at diagnosis of lymphoma | Type of lymphoma | Cause of death | Survival interval | Staging | Therapy |
|-------------|--------|--------------------------|---------------|-----------------|------------------------------|------------------|----------------|-------------------|---------------------|-----------------------|
| 1 | M | 35 years | RTI | 1.9 g/l | 57 years | T lymphoma | Infection | 0 month | Died before staging | Died before treatment |
| 2 | M | 53 years | LYM, SPLE | 1.15 g/l | 64 years | HL | Enteropathy | 36 months | IVB | BEACOPP |
| 3 | F | 41 years | ITP | 3.89 g/l | 58 years | HL | Alive | 4 months | IIA | R-CHOP |
| 4 | M | 18 years | RTI | 2.48 g/l | 45 years | DBLCL lymphoma | Alive | 9 months | IIA | R-CHOP |
| 5 | M | 39 years | LYM, SPLE | 0.03 g/l | 35 years | DBLCL lymphoma | Alive | 96 months | IVB | R-CHOP |
| 6 | M | 37 years | ITP | 4.1 g/l | 40 years | HL | Alive | 12 months | IVA | R-CHOP |
| 7 | M | 36 years | RTI | 4.1 g/l | 42 years | HL | Alive | 6 months | IIIB | eBEACOPP |
| 8 | M | 26 years | ITP | 4.88 g/l | 36 years | Burkitt lymphoma | Alive | 25 months | IIIA | B-NHL GMALL |
| 9 | F | 25 years | RTI | 2.88 g/l | 36 years | MALT lymphoma | Alive | 145 months | IVA | R-CHOP |
| 10 | M | 11 years | RTI | 4.48 g/l | 11 years | HL | Alive | 204 months | IIIA | DBVE-PC |
| 11 | M | 25 years | RTI | 1.76 g/l | 30 years | PTCL | Infection | 9 months | IVA | CHOP |

TABLE 3 | Characteristics of CVID-related complications in a cohort of 11 patients with lymphoma (ITP, Immune thrombocytopenic purpura; AIHA, Autoimmune hemolytic anemia; RA, Rheumatoid arthritis; LIPS, Lymphocytic interstitial pneumonia; BE, Bronchiectasis; ACOS, Asthma-COPD overlap syndrome; EAA, Exogenous allergic alveolitis; NLH, Nodular lymphoid hyperplasia; IBD, Intestinal bowel disease; CG, Chronic gastritis; Y, Yes; N, No).

| Patient Nr. | Autoimmunity | Chronic lung disease | Enteropathy | Granulomatous complications | Lymphadenopathy | Splenomegaly |
|-------------|----------------|----------------------|---------------------|-----------------------------|-----------------|--------------|
| 1 | AI thyroiditis | LIPS | NLH | N | N | Y |
| 2 | N | BE | Celiac-like disease | N | Y | Y |
| 3 | ITP | BE | N | N | Y | Y |
| 4 | ITP, AIHA | LIPS | Celiac-like disease | N | Y | Y |
| 5 | N | N | N | N | Y | Y |
| 6 | ITP | N | N | N | N | Y |
| 7 | RA | N | N | N | N | Y |
| 8 | ITP, psoriasis | ACOS | N | N | N | Y |
| 9 | N | EAA | IBD-like disease | N | Y | N |
| 10 | N | BE, NLH | NLH, CG | N | Y | Y |
| 11 | N | BE | NLH | N | Y | N |

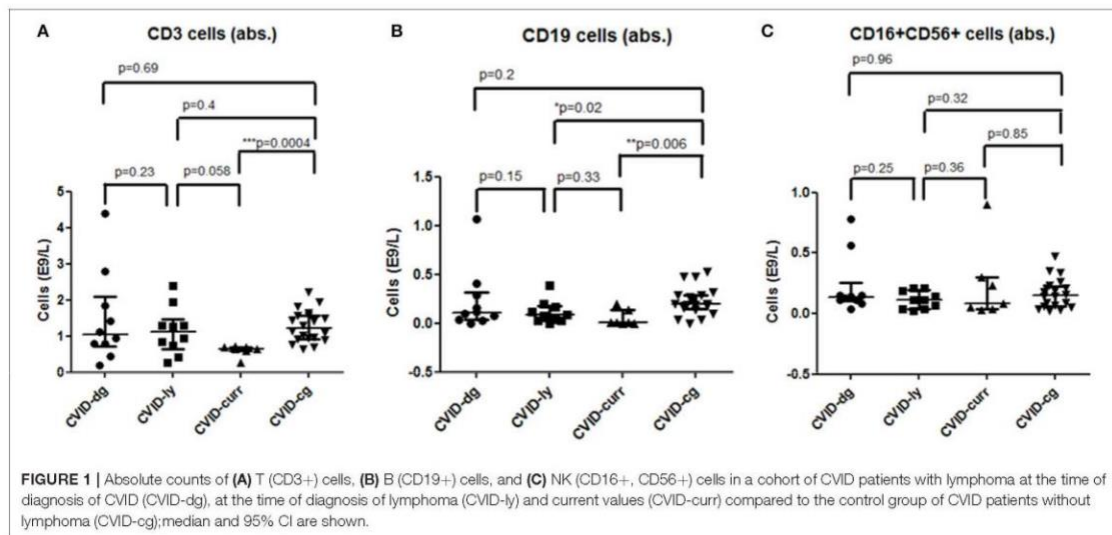


FIGURE 1 | Absolute counts of (A) T (CD3+) cells, (B) B (CD19+) cells, and (C) NK (CD16+, CD56+) cells in a cohort of CVID patients with lymphoma at the time of diagnosis of CVID (CVID-dg), at the time of diagnosis of lymphoma (CVID-ly) and current values (CVID-curr) compared to the control group of CVID patients without lymphoma (CVID-cg); median and 95% CI are shown.

Gene variants previously described in association with CVID or in patients with inborn error of immunity (Group 1) were found in 4 patients. A novel heterozygous missense variant in *CTLA4* was identified in patient Nr. 9, who developed B-NHL (MALT) at the age of 36 years. She was also followed and treated for lymphadenopathy and enteropathy (with features of IBD-like disease), which is in concordance with the expected phenotype of *CTLA4* deficiency. The deleterious effect of the mutation was verified by determination of decreased basal and stimulated (CD3/CD28) expression of *CTLA4* protein in the patient's T regulatory cells (CD4+CD127dimCD25+) (Supplementary Figure 1).

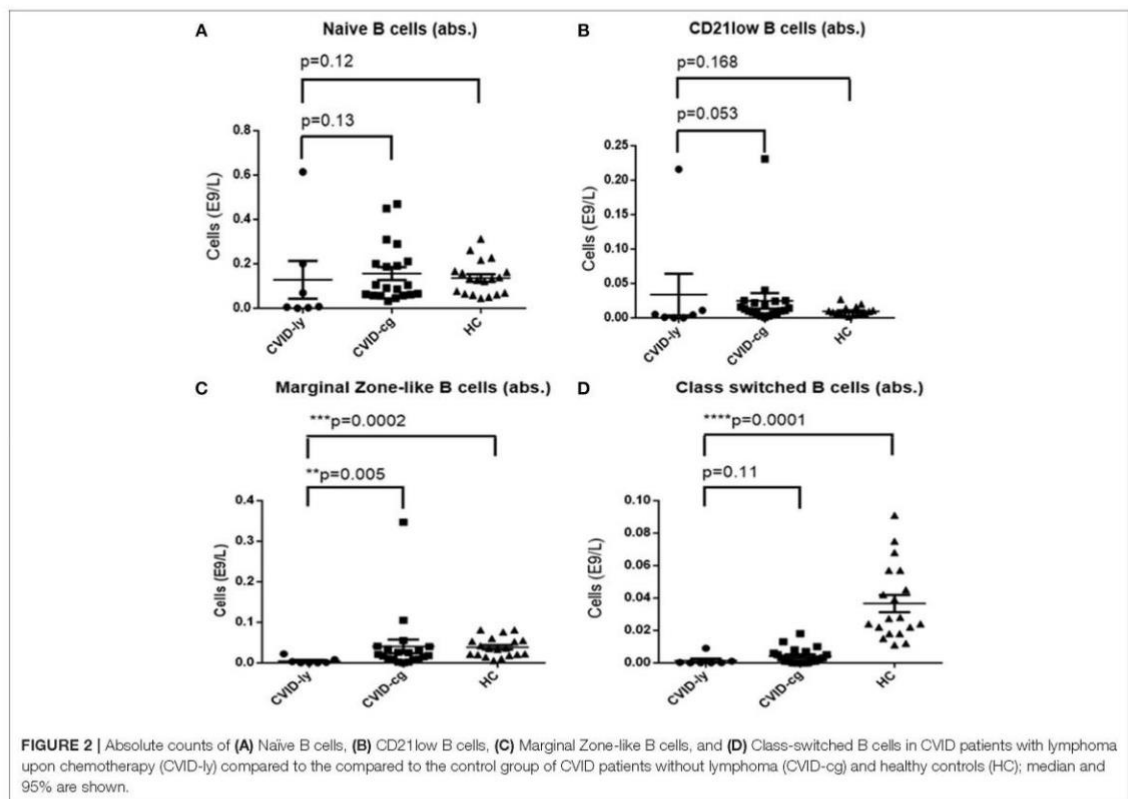
Another type of B-NHL (DBLCL) was diagnosed in patient Nr. 4 at the age of 45 years. A genetic variant in *PMS2* was found, which has an important role in the mismatch

repair system and class switch recombination (23, 24). In addition to the lymphoma, the patient also manifested with a broad spectrum of non-infectious complications, including autoimmune cytopenias (both AIHA as well as ITP), celiac-like disease and generalized lymphoproliferation, including lymphadenopathy, splenomegaly, and lymphocytic interstitial pneumonia.

The clinical manifestation of patient Nr. 10, who was found to harbor a *PIK3CD* mutation, corresponded with the previously described APDS (activated PI3K-delta syndrome) phenotype due to an activating mutation (2). He has been followed for generalized lymphadenopathy, splenomegaly, and nodular lymphoid hyperplasia (NLH) of the lungs and gastrointestinal tract since his childhood. This patient developed Hodgkin lymphoma at the age of 11 years.

TABLE 4 | B cell subpopulations in CVID patients with lymphoma post-chemotherapy (absolute counts in E9/L; reference values for general population in brackets; (↓), decreased count; (↑), increased count; N/A, value not available).

| Patient Nr. | CD21low (0.01–0.02) | Naïve (0.06–0.47) | Transitional (0.0–0.03) | MZ-like (0.01–0.08) | Class-switched (0.02–0.09) |
|-------------|---------------------|-------------------|-------------------------|---------------------|----------------------------|
| 1 | N/A | N/A | N/A | N/A | N/A |
| 2 | 0.0252 (↑) | 0.069 | 0.004 | 0.009 (↓) | 0.002 (↓) |
| 3 | N/A | N/A | N/A | N/A | N/A |
| 4 | 0.001 (↓) | 0.005 (↓) | 0.002 | 0 (↓) | 0 (↓) |
| 5 | 0.216 (↑) | 0.614 (↑) | 0.137 (↑) | 0.022 | 0.001 (↓) |
| 6 | 0 (↓) | 0 (↓) | 0 | 0 (↓) | 0 (↓) |
| 7 | 0.005 (↓) | 0.2 | 0.045 (↑) | 0.003 (↓) | 0 (↓) |
| 8 | 0.004 (↓) | 0.0076 (↓) | 0 | 0.0013 (↓) | 0 (↓) |
| 9 | 0.0002 (↓) | 0.002 (↓) | 0 | 0 (↓) | 0 (↓) |
| 10 | 0.011 | 0.069 (↓) | 0.059 (↑) | 0.008 (↓) | 0.009 (↓) |



Nodular lymphoid hyperplasia and lymphocytic interstitial pneumonia were also noted in patient Nr. 1, who was followed and treated for splenomegaly and autoimmune thyroiditis before the diagnosis of T cell lymphoma, which developed at the age of 57. A gene variant in *TNFRSF13B* (*TACI*), known to increase susceptibility to CVID, was found. *TACI* variants are not regarded as disease-causing but rather as modifying (Group 2) (8).

Furthermore, several heterozygous variants were identified in genes associated with known primary immunodeficiencies that are inherited in an autosomal recessive manner, such as *LYST*, *LRBA*, *RAG1*, *EXTL3*, and *STX11* (Group 4). The clinical phenotype of these patients did not match the respective disease; nevertheless, we report these variants because of their rarity in the healthy population and their potentially damaging character predicted by *in silico* tools. Functional assays, which would

elucidate the impact of these variants on protein function, were not performed, as they exceeded the scope of this study. The tumor DNA was not available for analysis of somatic “second-hit” mutations, which might explain the pathogenesis of some of the malignancies.

Variants in genes previously described in association with cancer susceptibility or as likely to increase the risk of cancer development, such as *BRCA1*, *RABEP1*, *EP300*, *KDM5A*, and others, were found in 6 out of 10 patients. They were divided into variants reported as pathogenic (Group 3) and variants of unknown significance and novel variants predicted as damaging *in-silico* (Group 5). The summary of WES results and a detailed description of the gene variants is presented in Table 5 and in Supplementary Table 1.

DISCUSSION

Immune dysregulation associated with primary immunodeficiencies represents an increased risk of cancer development. We aimed to search for the occurrence of malignant diseases in a nationwide cohort of CVID patients, taking into account relevant epidemiology, immunophenotype, and the genetic background of the patients.

Similarly to published studies, we detected a higher incidence of malignancies among our CVID cohort (25–30). Also in alignment with previous reports, we noted a distinct spectrum of tumors in CVID patients, with Hodgkin and Non-Hodgkin lymphomas and gastric cancers being the most prevalent malignancies (Table 6 and Supplementary Table 2). The overall risk of malignancy was more than 6 times greater in comparison to the general population, while the specific risk of HL was as much as 30 times greater. Curiously, an over 3 times greater risk of malignancy was determined in a subgroup of CVID patients with a history of ITP. Moreover, we noted that the diagnosis of GC (average age 55–59 years vs. 70–74 in general population) and B-NHL (35–39 years vs. 65–69) was established at a much younger age compared to the Czech general population, while HL developed later in life compared to the healthy population (40–44 years vs. 30–34).

Patients with CVID present with a characteristic immunophenotypic profile that is reflected in the diagnostic criteria of CVID. In this context, we specifically searched for potential differences between CVID patients with tumors and CVID patients who did not develop a malignant disease. Malignant hematologic diseases may, in general, reduce lymphocyte counts in up to 60% of patients, and lymphoma in particular may affect an entire spectrum of lymphocyte subpopulations, including CD4+, CD8+, CD19+, and CD56+ cells (31, 32). Nevertheless, in our cohort of CVID patients, we did not observe any significant differences between absolute or relative counts of CD3+, CD4+, CD8+, and CD56+ cells measured at the time of diagnosis of immunodeficiency and those measured at the time of diagnosis of lymphoma. Furthermore, the values of all T cell subpopulations and NK cells were similar to the control group of CVID patients without malignancy. In contrast, chemotherapy regimens had significant impacts on the

TABLE 5 | Summary of whole exome sequencing results performed in CVID patients with lymphoma.

| Patient Nr. | Chromo- some | Gene symbol | Transcript variant | Protein variant | Geno- type | SIFT function prediction | SIFT score | Polyphen-2 function prediction | CADD score | ExAC Freq. | GnomAD Freq. | HGMD accession |
|--|--------------|---------------|--------------------|-----------------|------------|--------------------------|------------|--------------------------------|------------|------------|--------------|----------------|
| GROUP 1: VARIANTS IN IUIS-CLASSIFIED GENES WITH LINKS TO CVID | | | | | | | | | | | | |
| 4 | 7 | <i>FMS2</i> | c.1687C>T | p.R583* | Het | | | | 34.000 | 0.002 | 0.001 | CM102799 |
| 9 | 2 | <i>CTLA4</i> | c.515C>G | p.S172W | Het | Damaging | 0.00 | Possibly Damaging | 28.700 | | | |
| 10 | 1 | <i>PIK3CD</i> | c.3061G>A | p.E1021K | Het | Tolerated | 0.07 | Probably Damaging | 31.000 | | 0.000 | CM067447 |
| GROUP 2: MODIFIER GENES | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 17 | <i>TAC1</i> | c.310T>C | p.C104R | Het | Damaging | 0.00 | Probably Damaging | 25.900 | 0.321 | 0.346 | CM052924 |
| GROUP 3: CANCER SUSCEPTIBILITY GENES | | | | | | | | | | | | |
| 3 | 17 | <i>BRCA1</i> | c.547+14delG | | Het | | | | 0.424 | 0.012 | 0.009 | CD176513 |
| 6 | 17 | <i>BRCA1</i> | c.5268_5264insC | p.O652fs*74 | Het | | | | 35.000 | 0.016 | 0.016 | C1941841 |

TABLE 6 | Summary of tumor prevalence and SIR (Standardized Incidence Ratio, median and 95% Confidence Intervals (CIs) shown) in a cohort of 295 COVID patients.

| Tumor | Prevalence | SIR (95% CI) |
|-----------------------------|---------------|-------------------|
| All tumors | 25/295 (8.5%) | 6.3 (4.08–9.31) |
| B cell lymphoma (all types) | 9/295 (3.0%) | 10.1 (4.61–19.12) |
| B cell non-Hodgkin lymphoma | 4/295 (1.4%) | 5.50 (1.50–14.09) |
| Hodgkin lymphoma | 5/295 (1.7%) | 30.0 (9.73–69.93) |
| Gastric cancer | 6/295 (2.0%) | 5.70 (2.08–12.32) |
| Other types of cancer | 10/295 (3.4%) | 5.0 (2.40–9.16) |

CD4+ and CD8+ cell counts. A similar observation has already been published in patients with lymphomas without underlying primary immunodeficiencies who underwent chemotherapy with an R-CHOP protocol. In the study, a reduction of CD4+ absolute counts to values $<0.343 \times 10^9/l$ was declared an independent negative prognostic factor with a significant impact on 5-year progression-free survival and overall survival (33). Indeed, in our COVID cohort with lymphoma, the median level of post-chemotherapy absolute numbers of CD4+ was very low, $0.343 \times 10^9/l$, 95% CI 0.14–0.36 (R-CHOP being the regimen used in 5 out of 11 patient), which implies that a COVID population treated with chemotherapy should be prognostically regarded as a higher risk group. Quite unexpectedly, NK cell counts were not affected by the chemotherapy. However, the B cell compartment was profoundly depleted in all COVID patients who underwent chemotherapy. The total B cell count normalized in only 3/10 patients. However, even in those, selective reductions of mature forms (including class-switched, marginal zone-like B cells and plasmablasts) persisted. This observation was in striking contrast to patients with autoimmune diseases receiving anti-CD20 therapy (rituximab), in whom the reconstitution is achieved within 5–9 months in up to 90% of patients (34).

B cell deficiency seems to be the hallmark in COVID patients with lymphoma, as they presented with reduced B cell count even at the time of diagnosis of lymphoma, which decreased and remained persistently lower after chemotherapy. Despite this, neither B cell nor T cell detailed immunophenotyping provided a strong enough predictive tool for assessment of the cancerogenic predisposition of COVID patients. Therefore, we set out to search for possible genetic causes of malignancies in COVID using massive parallel sequencing. Out of 10 patients who were available for testing, we identified gene variants previously classified as associated with COVID in 4 patients, namely, *CTLR4*, *PIK3CD*, *PMS2*, and *TNFRSF13B*. It is noteworthy that mutations in *CTLA4* and *PIK3CD*, which account for the majority of currently known molecular causes of COVID (8), were both found among our small cohort of COVID patients.

CTLA4 heterozygous mutation was first described as a cause of COVID-like syndrome that displayed a significant overlap with COVID phenotype, including hypogammaglobulinemia, low B cell counts and immune dysregulation with variable organ involvement (35). The clinical and laboratory spectra

of *CTLA4* haploinsufficiency were described in detail in a recently published cohort of 133 patients. In this cohort, 8 mutation carriers developed lymphoma, and 3 had gastric cancer. Thus, our finding of a single *CTLA4* mutation among our small cohort corresponds well with this report. Furthermore, this particular patient also presented with IBD-like gastrointestinal disease that was retrospectively reclassified as a *CTLA4*-related gastrointestinal presentation. Interestingly, the spectrum of tumors found in the above mentioned *CTLA4* study was limited to lymphomas and gastric carcinomas, which also correlates with our findings.

PIK3CD is a well-established genetic cause of APDS, activated PI3K-delta syndrome. Similarly to *CTLA4*, the clinical presentation of APDS overlaps significantly with the COVID phenotype, and a number of patients originally diagnosed with COVID were found to harbor mutations in *PIK3CD*. A large study including 53 patients with APDS reported lymphoma occurrence in 13% of patients (36). Furthermore, somatic mutations of *PIK3* were found in several types of HL and NHL, thus suggesting the role of PI3K signaling in tumorigenesis.

Finally, the *PMS2* protein is involved in complex mechanisms of DNA repair. As such, mutations in *PMS2* are directly associated with an increased risk of cancer (37). At the same time, mutations in *PMS2* were also implicated in class-switch recombination defects and impaired immunoglobulin production (36). Therefore, our finding of *PMS2* mutation among COVID patients with lymphoma corresponds well with these reports.

Overall, we suggest that each of these COVID-associated genes may also convey a predisposition to tumor development.

The role of the *TNFSF13B* molecule, also known as *TACI*, in COVID has long been discussed. *TACI* variants have been found to be associated with autoimmune complications in COVID (38). Moreover, given the involvement of *TACI* in B cell activation, its mutations might contribute to immune dysregulation and lymphoma development (39). However, *TACI* variants are regarded as modifier genes rather than a monogenic cause of COVID.

Apart of the above mentioned genetic findings, we identified several variants in genes involved in lymphogenesis and immune system regulation. Although sufficient data to postulate their role in immune deficiency or tumorigenesis are lacking, we report them along with our results for the sake of completeness, reflecting the previously described roles of heterozygous mutations in PID and possible epistatic roles of various genes in immune dysregulation (40–42).

Finally, we also detected several variants in genes involved in tumor surveillance in our cohort, such as *BRCA1* and others listed in **Supplementary Table 1**. These variants were previously reported in patients with a broad spectrum of solid tumors (including breast, ovarian, colorectal cancer, and others) and may therefore represent another contributory mechanism of malignant susceptibility.

CONCLUSION

Malignancies belong to the most severe non-infectious complications of common variable immunodeficiency disorder. The prevalence of malignancy in our COVID cohort was found to be more than 6 times greater than in the general population. The spectrum of cancers was characteristically narrow, involving mostly gastric cancers and lymphomas. Moreover, ITP was elucidated as a novel risk factor for malignancy in COVID patients. Post-treatment T and B cell lymphopenias, associated with poorer prognosis, were found in a majority of COVID patients who received chemotherapy. Surprisingly, NK cells remained unaffected. WES analysis illustrated a wide heterogeneity of potential genetic background of the oncogenic predisposition among COVID patients and identified several causative or contributing gene variants, pointing toward immune system dysregulation. In the future, modern genetic analytic approaches applied on larger cohorts of COVID patients, along with the use of oncogenomic tools, will undoubtedly enable the identification of other COVID-associated genes with increased risk of cancer and elucidate their roles in tumorigenesis.

REFERENCES

- Hauck F, Voss R, Urban C, Seidel MG. Intrinsic and extrinsic causes of malignancies in patients with primary immunodeficiency disorders. *J Allergy Clin Immunol.* (2018) 141:59–68.e4. doi: 10.1016/j.jaci.2017.06.009
- Coulter TI, Chandra A, Bacon CM, Babar J, Curtis J, Screaton N, et al. Clinical spectrum and features of activated phosphoinositide 3-kinase delta syndrome: a large patient cohort study. *J Allergy Clin Immunol.* (2017) 139:597–606.e4. doi: 10.1016/j.jaci.2016.06.021
- Dorman GL, Burke JE. Molecular mechanisms of human disease mediated by oncogenic and primary immunodeficiency mutations in class IA phosphoinositide 3-kinases. *Front Immunol.* (2018) 9:575. doi: 10.3389/fimmu.2018.00575
- Warnatz K, Schlesier M. Flowcytometric phenotyping of common variable immunodeficiency. *Cytometry B Clin Cytom.* (2008) 74:261–71. doi: 10.1002/cyto.b.20432
- Wong GK, Huissoon AP. T-cell abnormalities in common variable immunodeficiency: the hidden defect. *J Clin Pathol.* (2016) 69:672–6. doi: 10.1136/jclinpath-2015-203351
- Tsou B, Katayama H, Ostrin EJ, Hanash SM. The emerging role of B cells in tumor immunity. *Cancer Res.* (2016) 76:5597–601. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-0431
- Latour S, Winter S. Inherited immunodeficiencies with high predisposition to Epstein-Barr virus-driven lymphoproliferative diseases. *Front Immunol.* (2018) 9:1103. doi: 10.3389/fimmu.2018.01103
- Bogaert DJ, Dullaers M, Lambrecht BN, Vermaelen KY, De Baere E, Haerynck F. Genes associated with common variable immunodeficiency: one diagnosis to rule them all? *J Med Genet.* (2016) 53:575–90. doi: 10.1136/jmedgenet-2015-103690
- Fliegau M, Bryant VL, Frede N, Slade C, Woon ST, Lehnert K, et al. Haploinsufficiency of the NF-kappaB1 subunit p50 in common variable immunodeficiency. *Am J Hum Genet.* (2015) 97:389–403. doi: 10.1016/j.ajhg.2015.07.008
- Hildebrand JM, Luo Z, Manske MK, Price-Troska T, Ziesmer SC, Lin W, et al. A BAF-R mutation associated with non-Hodgkin lymphoma alters

AUTHOR CONTRIBUTIONS

PK and TM conceived and designed the study, collected data, and drafted manuscript. JL, IM, DJ, JP, JV, AZ, MB, ZP, and AK collected and provided primary patient data. EF and MS performed analysis and interpretation of data from genetic testing (Whole exome sequencing). VK performed analysis and interpretation of immunophenotyping data. JH provided statistical analysis of the obtained data and its interpretation. TK and AS provided critical revisions of the manuscript and final approval of the version to be published.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by grants from the Grant Agency Charles University in Prague (GAUK) nr. 2120217 and the Czech Health Research Council (AZV) nr.NV18-05-00162.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

The Supplementary Material for this article can be found online at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2018.03135/full#supplementary-material>

TRAF recruitment and reveals new insights into BAF-R signaling. *J Exp Med.* (2010) 207:2569–79. doi: 10.1084/jem.20100857

- Ressing M, Blettner M, Klug SJ. Data analysis of epidemiological studies: part 11 of a series on evaluation of scientific publications. *Dtsch Arztebl Int.* (2010) 107:187–92. doi: 10.3238/arztebl.2010.0187
- Li H, Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics* (2009) 25:1754–60. doi: 10.1093/bioinformatics/btp324
- Li H, Handsaker B, Wysoker A, Fennell T, Ruan J, Homer N, et al. The sequence alignment/map format and SAMtools. *Bioinformatics* (2009) 25:2078–9. doi: 10.1093/bioinformatics/btp352
- Cingolani P, Patel VM, Coon M, Nguyen T, Land SJ, Ruden DM, et al. Using *Drosophila melanogaster* as a model for genotoxic chemical mutational studies with a new program, SnpSift. *Front Genet.* (2012) 3:35. doi: 10.3389/fgene.2012.00035
- Lek M, Karczewski KJ, Minikel EV, Samocha KE, Banks E, Fennell T, et al. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature* (2016) 536:285–91. doi: 10.1038/nature19057
- Sherry ST, Ward MH, Kholodov M, Baker J, Phan L, Smigielski EM, et al. dbSNP: the NCBI database of genetic variation. *Nucleic Acids Res.* (2001) 29:308–11. doi: 10.1093/nar/29.1.308
- Adzhubei IA, Schmidt S, Peshkin L, Ramensky VE, Gerasimova A, Bork P, et al. A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nat Methods* (2010) 7:248–9. doi: 10.1038/nmeth0410-248
- Kircher M, Witten DM, Jain P, O’Roak BJ, Cooper GM, Shendure J. A general framework for estimating the relative pathogenicity of human genetic variants. *Nat Genet.* (2014) 46:310–5. doi: 10.1038/ng.2892
- Ng PC, Henikoff S. SIFT: predicting amino acid changes that affect protein function. *Nucleic Acids Res.* (2003) 31:3812–4. doi: 10.1093/nar/gkg509
- Thorvaldsdóttir H, Robinson JT, Mesirov JP. Integrative Genomics Viewer (IGV): high-performance genomics data visualization and exploration. *Brief Bioinform.* (2013) 14:178–92. doi: 10.1093/bib/bbs017
- Picard C, Bobby Gaspar H, Al-Herz W, Bousfiha A, Casanova JL, Chatila T, et al. International union of immunological societies: 2017 primary immunodeficiency diseases committee report on inborn errors of immunity. *J Clin Immunol.* (2018) 38:96–128. doi: 10.1007/s10875-017-0464-9

22. Zhang J, Walsh MF, Wu G, Edmonson MN, Gruber TA, Easton J, et al. Germline mutations in predisposition genes in pediatric cancer. *N Engl J Med*. (2015) 373:2336–46. doi: 10.1056/NEJMoa1508054
23. Hendriks YM, Jagmohan-Changur S, van der Klift HM, Morreau H, van Puijenbroek M, Tops C, et al. Heterozygous mutations in PMS2 cause hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma (Lynch syndrome). *Gastroenterology* (2006) 130:312–22. doi: 10.1053/j.gastro.2005.10.052
24. Nicolaidis NC, Papadopoulos N, Liu B, Wei YF, Carter KC, Ruben SM, et al. Mutations of two PMS homologues in hereditary nonpolyposis colon cancer. *Nature* (1994) 371:75–80. doi: 10.1038/371075a0
25. Gathmann B, Mahlaoui N, Gérard L, Oksenhendler E, Warnatz K, et al. Clinical picture and treatment of 2212 patients with common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol*. (2014) 134:116–26. doi: 10.1016/j.jaci.2013.12.1077
26. Kinlen LJ, Webster AD, Bird AG, Haile R, Peto J, Soothill JF, et al. Prospective study of cancer in patients with hypogammaglobulinaemia. *Lancet* (1985) 1:263–6. doi: 10.1016/S0140-6736(85)91037-2
27. Kokron CM, Errante PR, Barros MT, Baracho GV, Camargo MM, Kalil J, et al. Clinical and laboratory aspects of common variable immunodeficiency. *An Acad Bras Cienc*. (2004) 76:707–26. doi: 10.1590/S0001-37652004000400007
28. Oksenhendler E, Gérard L, Fieschi C, Malphettes M, Mouillot G, Jausaud R, et al. Infections in 252 patients with common variable immunodeficiency. *Clin Infect Dis*. (2008) 46:1547–54. doi: 10.1086/587669
29. Quinti I, Soresina A, Spadaro G, Martino S, Donnanno S, Agostini C, et al. Long-term follow-up and outcome of a large cohort of patients with common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol*. (2007) 27:308–16. doi: 10.1007/s10875-007-9075-1
30. Resnick ES, Moshier EL, Godbold JH, Cunningham-Rundles C. Morbidity and mortality in common variable immune deficiency over 4 decades. *Blood* (2012) 119:1650–7. doi: 10.1182/blood-2011-09-377945
31. Plonquet A, Haioun C, Jais JR, Debard AL, Salles G, Bene MC, et al. Peripheral blood natural killer cell count is associated with clinical outcome in patients with aaPI 2-3 diffuse large B-cell lymphoma. *Ann Oncol*. (2007) 18:1209–15. doi: 10.1093/annonc/mdm110
32. Tadmor T, Bari A, Marcheselli L, Sacchi S, Aviv A, Baldini L, et al. Absolute monocyte count and lymphocyte-monocyte ratio predict outcome in nodular sclerosing hodgkin lymphoma: evaluation based on data from 1450 patients. *Mayo Clin Proc*. (2015) 90:756–64. doi: 10.1016/j.mayocp.2015.03.025
33. Kusano Y, Yokoyama M, Terui Y, Nishimura N, Mishima Y, Ueda K, et al. Low absolute peripheral blood CD4+ T-cell count predicts poor prognosis in R-CHOP-treated patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood Cancer J*. (2017) 7:e561. doi: 10.1038/bcj.2017.43
34. Worch J, Makarova O, Burkhardt B. Immunoreconstitution and infectious complications after rituximab treatment in children and adolescents: what do we know and what can we learn from adults? *Cancers* (2015) 7:305–28. doi: 10.3390/cancers7010305
35. Kuehn HS, Ouyang W, Lo B, Deenick EK, Niemela JE, Avery DT, et al. Immune dysregulation in human subjects with heterozygous germline mutations in CTLA4. *Science* (2014) 345:1623–7. doi: 10.1126/science.1255904
36. Péron S, Metin A, Gardès B, Alyanikian MA, Sheridan E, Kratz CP, et al. Human PMS2 deficiency is associated with impaired immunoglobulin class switch recombination. *J Exp Med*. (2008) 205:2465–72. doi: 10.1084/jem.20080789
37. ten Broeke SW, Brohet RM, Tops CM, van der Klift HM, Velthuisen ME, Bernstein I, et al. Lynch syndrome caused by germline PMS2 mutations: delineating the cancer risk. *J Clin Oncol*. (2015) 33:319–25. doi: 10.1200/JCO.2014.57.8088
38. Romberg N, Virdee M, Chamberlain N, Oe T, Schickel JN, Perkins T, et al. TNF receptor superfamily member 13b (TNFRSF13B) hemizyosity reveals transmembrane activator and CAML interactor haploinsufficiency at later stages of B-cell development. *J Allergy Clin Immunol*. (2015) 136:1315–25. doi: 10.1016/j.jaci.2015.05.012
39. Meinel E, Thaler FS, Lichtenthaler SF. Shedding of BAFF/APRIL receptors controls B cells. *Trends Immunol*. (2018) 39:673–6. doi: 10.1016/j.it.2018.07.002
40. Abraham RS, Recher M, Giliani S, Walter JE, Lee YN, Frugoni F, et al. Adult-onset manifestation of idiopathic T-cell lymphopenia due to a heterozygous RAG1 mutation. *J Allergy Clin Immunol*. (2013) 131:1421–3. doi: 10.1016/j.jaci.2012.09.016
41. Sic H, Speletas M, Cornacchione V, Seidl M, Beibel M, Linghu B, et al. An activating janus kinase-3 mutation is associated with cytotoxic T lymphocyte antigen-4-dependent immune dysregulation syndrome. *Front Immunol*. (2017) 8:1824. doi: 10.3389/fimmu.2017.01824
42. Ameratunga R, Koopmans W, Woon ST, Leung E, Lehnert K, Slade CA, et al. Epistatic interactions between mutations of TAC1 (TNFRSF13B) and TCF3 result in a severe primary immunodeficiency disorder and systemic lupus erythematosus. *Clin Transl Immunol*. (2017) 6:e159. doi: 10.1038/cti.2017.41

Conflict of Interest Statement: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2019 Kralickova, Milota, Litzman, Malkusova, Jilek, Petanova, Vydakova, Zimulova, Fronkova, Svaton, Kanderova, Bloomfield, Parackova, Klopcerk, Haviger, Kalina and Sediva. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

3.7.7. CVID a gravidita

Problematika fertility a eventuálně komplikací v průběhu těhotenství a porodu žen s CVID, zdravotní stav novorozence a zmapování infekčních komplikací v průběhu prvního roku věku nebyla doposud komplexně zpracována.

Naše originální data podrobně shrnutá v následující publikaci:

Králíčková P, Kuřecová B, Andrýs C, Krčmová I, Jílek D, Vlková M, Litzman J. Pregnancy Outcome in Patients with Common Variable Immunodeficiency. J Clin Immunol 2015 Aug; 35(6): 531-7. **IF=3,094**

3.7.8. CVID a preventivní programy

Doposud nepanuje jednotný konsensus s ohledem na rozsah a frekvenci screeningových vyšetření u nemocných s CVID [214]. Mezi pravidelně doporučované metody k odhalení poškození plic jsou zařazeny jak HRCT plic, tak i celkové funkční vyšetření včetně difúze. Jejich frekvence je otázkou diskuse a zvyklostí jednotlivých pracovišť. Na našem ústavu se u dospělých pacientů kloníme ke vstupnímu vyšetření HRCT plic a celkového funkčního vyšetření vč. difúze, které opakujeme v ročních intervalech. Ke kontrolnímu HRCT přistupujeme individuálně dle nálezu, vždy však při zjištění či progresi ventilační poruchy. S ohledem na zvýšenou radiosenzitivitu chromozómů, indikujeme kontrolní vyšetření po zralé úvaze [4,222].

Stejně tak by mělo být v úvodu nemocnému doporučeno gastroscopické vyšetření. Frekvence následných kontrol je závislá na histologickém nálezu a klinických symptomech. Je vhodné pravidelně sledovat sérové koncentrace železa, feritinu, vitamínu B12 a kyseliny listové. Důraz je kladen na včasnou eradikaci při pozitivitě *H. pylori*. Neinvazivní diagnostika této infekce je založena na průkazu nejlépe pomocí stanovení přítomnosti antigenu ve stolici, či dechového testu [48].

Do screeningových vyšetření je vhodné zařadit i kostní denzitometrii, s následnými kontrolami dle závažnosti nálezu, a v případě výskytu rizikových faktorů (léčba kortikoidy, střevní onemocnění vedoucí k malabsorbci, chronická cholestáza, nízký BMI a další).

3.7.9. CVID a aktivní imunizace

Mezinárodní doporučení povolují použití neživých vakcín jako součást diagnostického postupu před zahájením substituční léčby imunoglobuliny. U nemocných se zachovalou reziduální tvorbou protilátek je možné provést očkování neživými vakcínami, vhodně 2 týdny před další aplikací i.v. imunoglobulinů, nicméně s poučením, že odpověď nemusí být adekvátní. Naopak, tam kde není přítomna reziduální tvorba protilátek, nemá aktivní imunizace význam pro neefektivitu. Použití živé poliovakcíny je přísně kontraindikováno včetně vakcinace rodinných příslušníků [176]. Mohlo by dojít nejen k dlouhodobému vylučování vakcinačního kmene, ale i závažným klinickým projevům, tj. akutní paralýze či meningoencefalitidě, s popsány úmrtími [65,182,195]. Ani plně substituovaní nemocní nemusí být zcela mimo riziko s ohledem na zjištěné snížené množství protilátek proti poliovirům v jejich sérech [42].

Obecně je doporučováno pravidelně provádět vakcinaci proti sezónní chřipce, s ohledem na její potenciální závažnost a riziko bakteriálních komplikací. Hodnocením vakcinačního potenciálu u nemocných s CVID se doposud zabývalo jen malé množství studií na malém počtu účastníků. I když jsou data poměrně konfliktní, význam by mohla mít buněčná odpověď na vakcinaci, kdy byla prokázána pozitivní odpověď ve dvou ze tří studií [14,80,159]. Protilátková odpověď je jednoznačně snižena. Největší doposud publikovaná studie Gardulfa a kol., která zahrnovala 48 nemocných, zjistila pozitivní protilátkovou odpověď prokázanou hemaglutinačně inhibičním testem, cutt-off více než, či rovno 1:40 u 16 % účastníků, preferenčně u nemocných s fenotypem dle EUROCLASS SmB-Tr norm21norm, tj. s více než 1 % B lymfocytů, méně než 2 % „class-switch“ B lymfocytů, méně než 10 % CD21“low“ B lymfocytů a méně než 9 % „transitional“ B lymfocytů. Vakcinace probíhala vč. boostovací dávky s odstupem 1 měsíce [68].

3.7.10. Léčba CVID

3.7.10.1. Substituční léčba CVID

Základní léčbou CVID je substituční léčba imunoglobuliny. Historicky první podání imunoglobulinů se substitučním záměrem proběhlo v roce 1952 pod vedením O. C. Brutona. Zajímavostí je, že se pravděpodobně jednalo o podkožní aplikaci. Osmiletý chlapec s agamaglobulinémií byl léčen dávkou 3,2 g imunoglobulinů měsíčně a po celý rok neprodělal závažnější infekci [34].

Od té doby substituční léčba imunoglobuliny prošla řadou radikálních změn. Intramuskulární podávání v padesátých až sedmdesátých letech 20. století bylo prováděno v řadě případů nežádoucími místními i celkovými reakcemi, vznikajícími mimo jiné i v důsledku zvýšené přítomnosti agregátů IgG. Aplikace byla významně limitována omezeným objemem, který bylo možné podat. Typická dávka činila 100 mg/kg každé 3 týdny.

Od osmdesátých let bylo možné začít využívat intravenózní imunoglobulinové infúze (IVIG), které byly provázeny významně nižším procentem nežádoucích reakcí. Původní doporučení substituční dávky imunoglobulinů 100 mg/kg/měsíc bylo na základě klinických studií navýšeno na více než 400 mg/kg/měsíc^[52], což umožnilo dosáhnout vyšších plazmatických hladin IgG při současném dalším významném poklesu frekvence infekcí.

Myšlenka podkožního podávání imunoglobulinů byla rozvíjena od devadesátých let, kdy s dobrými výsledky Gardulf et al. podávala v rychlé podkožní infúzi (17–20 ml/hodinu)

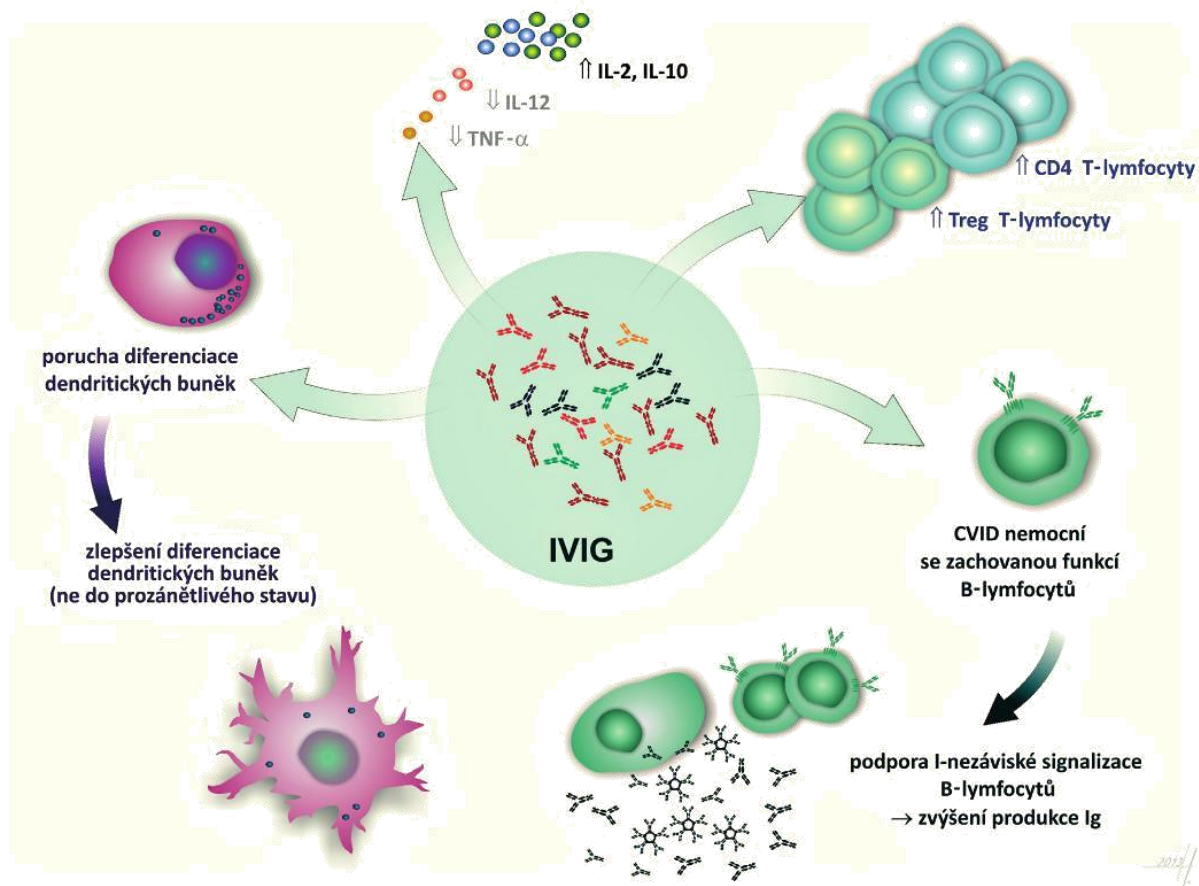
16 % preparát původně určený k intramuskulárnímu podání ^[67]. Dokonce při dalším navýšení rychlosti na 40 ml/hodinu nebylo pozorováno zvýšení frekvence nežádoucích účinků ^[82]. K zásadnímu zlomu došlo o 10 let později, kdy byl vyvinut a klinicky úspěšně vyzkoušen imunoglobulinový preparát určený cíleně k podkožnímu podání (SCIG, SubCutaneous ImmunoGlobuline) v podobě, jaké používáme dnes v běžné klinické praxi. Poslední inovací je s.c. podání imunoglobulinů potencované využitím rekombinantní hyaluronidázy, umožňující podkožní podání větších objemů zahrnující plánovanou dávku pro celý měsíc v jednom sezení ^[226].

Při substituční léčbě nemocných s primárními imunodeficiencemi je v současné době doporučován ryze individuální koncept optimalizace cesty, dávky i intervalu jednotlivých podání. Každý nemocný má tak svoji individuální optimální dávku a interval, který významně redukuje frekvenci závažných infekčních komplikací ^[118]. Italská studie prokázala významný protektivní vliv před vznikem pneumonie při dosažení sérové koncentrace minimálně 4 g/l s tím, že není jasná korelace mezi cílovými hladinami IgG a mírou rizika pneumonie ^[167]. Metaanalýza zahrnující celkem 17 studií s celkovým počtem nemocných 676 a obdobím sledování 2127 patientských let prokázala, že zvýšení hladiny IgG o 1,21 g/l (což přibližně odpovídá dávce i. v. 100 mg/kg/měsíc), vede ke snížení výskytu pneumonií o 27 %. Při cílové hladině IgG 10 g/l v porovnání s 5 g/l dochází k pětinasobnému poklesu výskytu pneumonií ^[151]. Zatím chybí dostatek informací ke zhodnocení SCIG. Nicméně, i zde metaanalýza provedená J. S. Oranem et al., zahrnující celkem 13 studií, potvrzuje fakt, že zvýšení subkutánně podané dávky imunoglobulinů vede k dalšímu zlepšení léčebných výsledků. Zdá se však, že zejména v důsledku snížené biologické dostupnosti SCIG je zvýšení dávky imunoglobulinů o 100 mg/kg/měsíc provázeno zvýšením sérové hladiny IgG pouze o 0,84 g/l. Nejsou dostatečně dostupná data, která by porovnávala mezi sebou preparáty o koncentraci 10%, 16% a 20% ^[149].

Substituční léčba imunoglobuliny má i svoje limitace. Nepodařilo se zatím přesvědčivě dokázat, že významně snižuje frekvenci infekcí horních cest dýchacích a že zabraňuje progresi funkčních a morfoloických změn plicního parenchymu a dýchacích cest. Stejně tak nebyl prokázán její pozitivní vliv na komplikace neinfekčního původu, především postižení zažívacího traktu a lymfocytární intersticiální pneumonitidu ^[17,73].

Na imunoglobulinovou léčbu nelze pohlížet jako na čistě pasivní přenos protilátek. I při substitučních dávkách byla popsána řada modulačních změn. IVIG indukuje proliferaci B lymfocytů a syntézu protilátek, což poukazuje na možnost, že externě dodané imunoglobuliny

napravují signální defekt B lymfocytů, který běžně poskytují T lymfocyty. Dále bylo popsáno zlepšení maturace dendritických buněk, aniž by převažoval jejich prozánětlivý fenotyp^[53]. K protizánětlivým účinkům IVIG přispívá i možnost snížené exprese TNF α ^[194] a zvýšení podílu CD4⁺ T lymfocytů a T regulačních lymfocytů Treg^[105]. Souhrnně prezentujeme imunomodulační působení IVIG v obr. č. 8.



Obr. č. 8: Modulační mechanismy i.v. podávání imunoglobulinů u nemocných s primárními imunodeficity

Formy substituční léčby imunoglobuliny:

V současné době jsou dostupné tyto formy aplikace imunoglobulinů: intravenózní (IVIG), klasická podkožními preparáty (SCIG) a facilitovaná podkožní (fSCIG).

Zvolená forma léčby by měla vždy vycházet ze společného konsenzu mezi lékařem a nemocným za současného přispění zdravotních sester, které mají nezastupitelnou úlohu v edukaci pacientů. Při volbě formy imunoglobulinové léčby je třeba uvážit řadu skutečností: kvalitu žilního přístupu, komorbiditu nemocného, např. závažná interní onemocnění, renální a kardiální insuficience, chronické průjmy, nutrice, stav pokožky, probíhající antikoagulační léčba či závažnost eventuálně trombocytopenie, sociální zázemí nemocného, např. mobilitu, vzdálenost bydliště, charakter zaměstnání. Nelze opomenout ani jeho zručnost či ochotu spolupráce, jeho předchozí zkušenosti s imunoglobulinovou léčbou.

V průběhu léčby je doporučeno řídit se několika obecnými pravidly. V roce 1999 vydala FDA závazné doporučení, kdy je nezbytné na jednotlivé imunoglobulinové preparáty pohlížet jako na originální přípravky. Nelze tedy s nimi zacházet jako s generiky a zaměňovat je bez závažného důvodu [55]. Liší se svým výrobním postupem, mají rozdílnou osmolaritu, obsah sodíku, použitý stabilizátor, množství IgA. Každý nemocný má svoji optimální individuální rychlost podání. Navíc může tolerovat pouze jeden konkrétní preparát.

Intravenózní léčba probíhá v České republice převážně ambulantně, na stacionářích specializovaných imunologických center. Interval mezi jednotlivými podáními bývá 3-4 týdny. Podávání IVIG může být spojeno s řadou nežádoucích účinků. Jedná se o celé spektrum od lehkých projevů typu zimnice, bolestí hlavy, svalů, kloubů, únavy či horečky. Ty obvykle mizejí maximálně do několika hodin po podání. Může se jednat až o vystupňovanou těžkou anafylaktoidní reakci provázenou těžkou hypotenzí. Většina nežádoucích reakcí je spojena s aktivací prozánětlivé odpovědi. Ve studiích byly pozorovány tyto přechodné změny: leukocytóza, aktivace komplementu (tvorba C3a, terminálního komplexu C5b-C9), vzestup prozánětlivých cytokinů (TNF α , IL-8, IL-6), IL-1Ra a solubilního receptoru pro TNF α . K normalizaci změn docházelo v průběhu 24 hodin [203]. Rizikovou skupinu představují nemocní s přítomností protilátek třídy IgG anti IgA protilátkám [88]. Nicméně k závažné reakci může dojít i v jejich nepřítomnosti. Zvýšenou frekvenci nežádoucích reakcí můžeme očekávat v období zahájení substituční léčby, při prodloužení intervalu mezi infúzemi nebo v případě probíhající infekční epizody. Pokud nežádoucí reakce přetrvávají, je možná premedikace nesteroidními antirevmatiky, antihistaminiky či kortikoidy. V případě opakované intolerance je vhodná změna i. v. preparátu či převedení na podkožní cestu substituce.

Vzácnější bývají závažné komplikace tromboembolické, renální insuficience, zhoršení projevů kardiální dekompenzace, syndrom aseptické meningitidy či hemolytická anémie. Při léčbě moderními preparáty se s nimi setkáváme jen velmi výjimečně. První tři jmenované provázejí komplikující interní onemocnění. Renální insuficience bývá někdy spojována s pomocnými látkami v preparátu, např. sacharózou, maltózou. Syndrom aseptické meningitidy se objevuje v časovém rozmezí od několika hodin až po 2 dny od zahájení léčby IVIG. Vyšetření mozkomíšního moku často vykazuje pleiocytózu o hodnotách několik tisíc buněk na μl , zejména z granulocytární řady a zvýšené hladiny proteinů až na několik set mg/dl. Tato komplikace byla čteněji zaznamenána po použití vysokých dávek imunoglobulinů (2 g/kg)

[203].

Při aplikaci imunoglobulinů dochází k přechodnému vzestupu pasivně přenesených dárcovských protilátek, a tím ke vzniku zavádějících pozitivních výsledků u řady sérologických testů. Pasivní přenos protilátek proti erytrocytárním antigenům, např. A, B, D může vést k falešné pozitivitě přímého antiglobulinového testu (přímý Coombsův test). Na druhou stranu je nezbytné neopomenout možnost skutečné hemolytické příhody [164].

Subkutánní substituce imunoglobulinů představuje pro naše nemocné možnost komfortního podávání v domácím prostředí, zatíženého významně nižším procentem nežádoucích reakcí v porovnání s nitrožilním, při současném evidentním vzestupu kvality života [2,141]. Nižší výskyt nežádoucích reakcí může být vysvětlován pomalou difúzí z podkoží přes lymfatický systém do krevního řečiště. A tak často nemocní, kteří vyžadovali premedikaci před IVIG, nevyžadují žádných speciálních opatření před SCIG. Převažují zde pouze lokální reakce typu erytému, edému, indurace či bolestivosti, které ve většině případů odeznívají do 24 hod a během týdnů obvykle mizí zcela [77,186]. Celkové reakce hlášené po s. c. podání jsou velmi řídké. Závažné anafylaktoidní reakce nebyly doposud zaznamenány ani u nemocných s přítomným titrem anti IgA protilátek a současnou anamnézou závažné reakce po IVIG.

Podávaná antikoagulační či antiagregační léčba není kontraindikací k podkožnímu podávání a bývá nemocnými dobře tolerována [204]. Klinické zkušenosti ukazují, že koncentrace trombocytů nad $50 \times 10^{12} /\text{l}$ je bezpečná. Nutno však přihlídnout i ke stupni eventuálně trombocytopenie či další medikaci s antikoagulačními účinky. Těhotenství není na překážku v podkožní aplikaci. Spíše pro pohodlí nemocných je v pozdějších fázích těhotenství doporučováno změnit aplikační místa na oblast stehen. V této lokalizaci jsou však častěji tolerovány nižší objemy kolem 10ml na jeden vpich [69]. U obézních nemocných

nebyla zjištěna rozdílná biologická dostupnost 16% i 20% preparátů vůči neobézním jedincům [185]. V případě obézních nemocných je doporučováno se spíše orientovat podle klinického efektu léčby než dle hodnoty body mass indexu [87].

Celková měsíční dávka u SCIG je rozdělena tak, že aplikace probíhají obvykle 1-3krát týdně. Aplikovat lze všude tam, kde je dostatečné množství podkožní tkáně (obr. č. 9A). Ke snížení výskytu lokálních nežádoucích reakcí je vhodné vyhýbat se místům v oblasti jizev či strií a imunoglobuliny aplikovat dostatečně hluboko do podkoží. Pacientům je třeba opakovaně připomínat kontrolu, zda nehrozí riziko aplikace do cévy. Podávání je možné buď za pomoci infúzního dávkovače, či přímým podáním metodou „rapid push“, kdy si podání řídí nemocný sám, dle tolerance podkoží. Délka podání bývá obvykle kratší než při použití pumpy. Rychlost aplikace se pohybuje kolem 1-2 ml za minutu [77]. Při podávání infúzní pumpou je doporučováno dodržovat počáteční aplikační rychlost 10 ml/h, při každé následující infúzi lze rychlost zvýšit o 1ml/h. Doporučená maximální rychlost je 20 ml/hod na jednu pumpu. Některé typy pumpy umožňují přerušované podávání při významně vyšších základních rychlostech, někdy nazývané „řízená forma rapid-push“. Všechny možnosti aplikace jsou zcela rovnocenné.

Hyaluronidázou facilitované s. c. infúze (fSCIG) představují nejnovější způsob léčby. Podkožní extracelulární matrix představuje bariéru pro podkožně aplikované tekutiny při jejich průniku do nitrožilního prostoru. Jedná se o viskózně-elastickou, gelu podobnou substanci, která je tvořena převážně kolagenními vlákny, elastinem, keratinem a glykosaminoglykany. Glykosaminoglykany tvoří významnou část zmiňované bariéry, v důsledku které je redukována biologická dostupnost IgG do systémového oběhu minimálně o jednu třetinu [213].

Přirozeným enzymem, který fragmentuje polymer kyseliny hyaluronové, která je základním stavebním kamenem glykosaminoglykanů z gelu na tekutou formu, je enzym hyaluronidáza. Její léčebné použití umožňuje také fakt, že je velmi rychle metabolizována. Nemá tedy žádné systémové účinky a její efekt na podkoží trvá maximálně 48 hodin [29].

Ve studiích byly použity hyaluronidázy ovčího a hovězího původu. Díky kontaminaci testikulárními proteiny, zvyšujícími imunogenicitu preparátu, včetně vzniku alergických reakcí, nebylo možné uskutečnit jejich dlouhodobé používání. Pouze lidská rekombinantní hyaluronidáza rHUPH20, purifikovaný glykoprotein o 447 aminokyselinách, produkovaná buňkami vaječníku čínského křečička rekombinantní technologií, splnila daná očekávání. Je

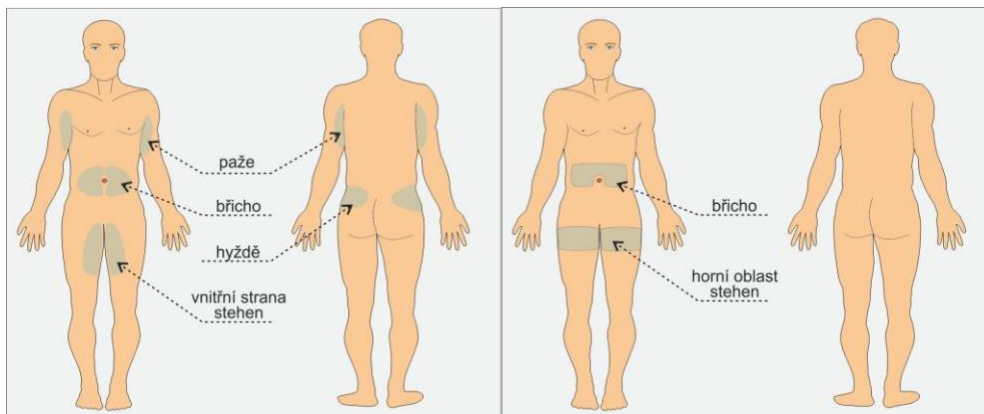
vysoce specifická k vazbě beta 1-4 glykosaminoglykanů. Naopak, nemá žádný vliv na N-vázané glykany či polypeptidy základního řetězce, stejně tak i na strukturu molekuly IgG [226].

Aplikace probíhá prakticky tak, že je nejprve do podkoží aplikována celá dávka hyaluronidázy rychlostí 100 ml/min, do 10 min je třeba do stejného místa zahájit infúzi 10 % imunoglobulinového preparátu. Rychlost podání je postupně zvyšována á 10 min od 10 ml/h až do maximálně tolerované rychlosti, obvykle 300ml/hod. Jednotlivá podání obvykle probíhají jedenkrát za 3 či 4 týdny, ve stejné dávce, jak je zvykem u i. v. substituce (obr. č. 9B a 10).

Výsledky studií III. fáze (pilotní studie 160603 a extendovaná studie 160902) prokazují vysoký stupeň bezpečnosti, tolerability a účinnosti. Bioekvivalence stojí mezi IVIG a SCIG. Délka trvání infúze je paradoxně o něco kratší v porovnání s i. v. Nejčastější nežádoucí účinky mají lokální charakter ve formě erytému či edému, obvykle rychle mizí v průběhu několika hodin. Celkové nežádoucí účinky jsou málo četné, nejčastěji bolest hlavy a únava, méně zvýšená teplota, nevolnost. Závažné nebyly zaznamenány [225,226].

Ve vztahu k fertilitě není k dispozici dostatečné množství údajů. Ve studiích na myších a králíčích modelech nebyly shledány žádné negativní vlivy na březost či vývoj plodu. Preparát již byl povolen i v dětské populaci (0-18 let) s pravidly shodnými pro dospělé pacienty.

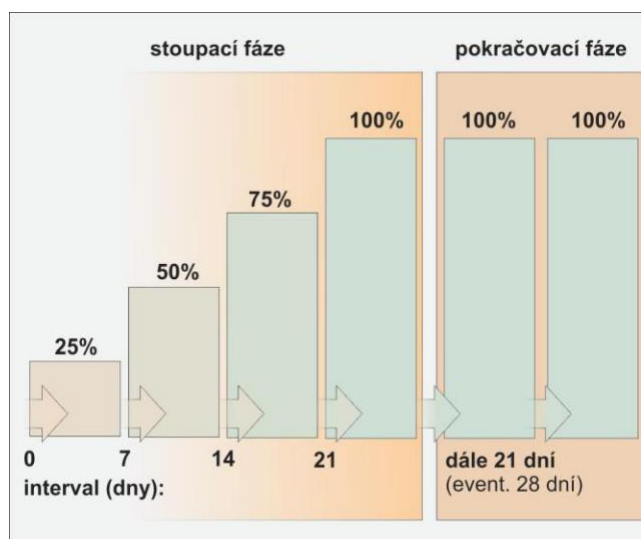
Lidská hyaluronidáza nejeví homologii s hyaluronidázou hmyzí, proto není třeba mít obavy z rizika možné anafylaxe. Ve studii byla zaznamenána u 13 pacientů z celkového počtu 83 tvorba protilátek schopných se vázat na rekombinantní hyaluronidázu. Tyto však neměly neutralizační schopnosti a nebyly vázány na vyšší výskyt nežádoucích reakcí [226].



(A)

(B)

Obr. č. 9: Aplikační místa vhodná k subkutánnímu podání (A) SCIG, (B) fSCIG.



Obr. č. 10: Zahájení léčby hyalorunidázou facilitovaného podávání. Po úvodní stoupací fázi s postupně se zvyšující dávkou a prodlužujícím se intervalem následuje fáze udržovací v intervalu 21-28 dní. U pacientů pravidelně substituovaných i. v. imunoglobuliny je doporučováno léčbu zahájit jeden týden po poslední aplikaci.

3.7.10.2. CVID a profylaxe antibiotiky

Antibiotická profylaxe nachází své místo u nemocných, kteří přes adekvátní substituční léčbu imunoglobuliny trpí recidivujícími infekcemi, s výhodou zejména u pacientů s bronchiektáziemi. Profylaxe může být celoročního charakteru či jen sezonní. Vhodné je nemocné vybavit záložními antibiotiky pro průlomové infekce [98]. Díky svým účinkům imunomodulačním, jsou preferovány makrolidy. Ve volbě preparátu, dávky a intervalu nepanují jednotné názory.

Makrolidy snižují hlenovou hypersekreci, redukují sekreci prozánětlivých cytokinů, což může vést k redukcí akumulace a proliferace neutrofilních granulocytů ve slizniční epitelové vrstvě, a tlumí aktivity lymfocytů. Bylo prokázáno, že claritromycin je schopen redukovat riziko toxického šoku při bakteriální superinfekci při sezónní chřipce [138]. Azitromycin ovlivňuje buňky nespecifické imunity snížením exprese CD80, CD86 a HLA DR na myeloidních dendritických buňkách stimulovaných lipopolysacharidem a produkci IL-12 makrofágy (aktivovanými LPS či IFN γ) se snížením produkce IL-6, 10, 12 a TNF α těmito buňkami. Zvyšuje endocytózu a expresi TLR 2, 4, 9 a snižuje proliferaci CD4+ T lymfocytů a produkci TNF α [207]. Makrolidy podporují i fagocytózu apoptotických epitelových buněk dýchacích cest [86]. Ovlivňují pravděpodobně i remodelaci tkání se snížením proliferace epitelových buněk a migrace fibroblastů [109,187]. V případě infekce *P. aeruginosa* upravují tvorbu biofilmu [72]. Pozitivní efekt mohou mít i u nemocných s gastroesofageálním refluxem, díky jejich prokinetické aktivitě [132].

3.7.10.3. CVID a léčba neinfekčních komplikací

Léčba neinfekčních komplikací se liší dle postiženého orgánu.

Závazným klinickým problémem je GLILD, postihující plíce, který bez léčby může vést k nevratným změnám plicního intersticia vedoucími k poruše difúze s ní spojené respirační insuficienci.

Kauzální léčba GLILD zatím neexistuje. Progrese onemocnění je velmi individuální. Neexistují jednotná doporučení, kdy léčbu zahájit a jakým způsobem ji dále vést. Rizika z nadměrné kumulace imunosupresivní léčby v čase, především ve formě oportunních infekcí, nelze opomíjet [114]. Nejucelenější pohled na diagnostiku a léčbu předkládá britský konsensus

z roku 2017, který doporučuje léčbu zahájit bez ohledu na přítomnost symptomů při prokázaných poklesech funkčních parametrů. V první linii mají být použity kortikoidy v monoterapii. Pro sekundární léčbu byly doporučeny at' již s či bez p. o. kortikoidů: azathioprin, rituximab, mykofenolát mofetil. Ke shodě expertů nedošlo v případě léčby abataceptem, kromě případů s jasně prokázanou genetickou mutací, léčby anti-TNF α , cyklosporinem, hydroxychlorochinem, metotrexátem, sirolimem či takrolimem^[90].

Rituximab představuje chimérickou myší monoklonální protilátku anti CD20. Molekula CD20 je fyziologicky exprimována na B lymfocytech od stádia pre-B lymfocytu až do fáze plasmablastu. Možný mechanismus účinku této protilátky u nemocných s poruchami tvorby protilátek vychází ze skutečnosti, že obecně způsobuje nejen depleci buněk potenciálně produkujících autoprotilátky, které u nemocných s CVID díky podstatě onemocnění nejsou obvykle přítomny, ale zasahuje také do regulací zánětlivých dějů. Na myších modelech revmatoidní artritidy bylo prokázáno, že odstranění B lymfocytů vede ke vzestupu počtu T regulačních lymfocytů diferencovaných z naivních CD4 T lymfocytů s následným utlumením aktivity onemocnění. Důležitou úlohu může hrát i eliminace subsetu B lymfocytů produkujících IFN γ , neboť geneticky upravené myší modely bez schopnosti produkce IFN γ B lymfocyty nebyly schopné rozvinout experimentální proteoglykanem indukovanou revmatoidní artritidu^[147]. Podání rituximabu vedlo u nemocných s revmatoidní artritidou k poklesu CD4 T lymfocytů^[130]. U nemocných léčených pro Sjögrenův syndrom byla léčbou RTX normalizována expanze Tfh buněk^[220]. Jiným mechanismem tlumení autoimunitního zánětu může být i snížení B lymfocytů produkujících IL-6^[19]. Jeho význam však nebyl v podskupině nemocných s dysregulačními komplikacemi v rámci CVID dostatečně objasněn^[215].

Dobrou efektivitu rituximabu u nemocných s CVID podporují i klinické práce^[90,93,157]. Nejrozsáhlejší publikací je práce Chase a kol., která popisuje celkem 7 pacientů. Ti obdrželi intravenózně rituximab v dávce 375 mg/m²/infúzi 4 týdny za sebou v kombinaci s azathioprinem 1-2 mg/kg/den po dobu 18 měsíců. Infúze rituximabu byly opakovány po 4-6 měsících, celkem 3-4krát. Pro intoleranci azathioprinu pro zažívací obtíže dostávali 2 nemocní aktivní metabolit azathioprinu, 6 -merkaptopurin (1,0 – 1,5 mg/kg/den) a jeden mykofenolát mofetil 1 g 2krát denně. Ve všech případech došlo ke zlepšení HRCT obrazu i funkčních parametrů plic a u 3/7 pacientů ke zmenšení splenomegalie^[93].

Kauzální léčba gastrointestinálních komplikací, zejména „celiakia-like“ neexistuje. Imunosupresivní léčba, zejména perorálními kortikosteroidy, zpomaluje průběh onemocnění a

oddálí rozvoj malnutrice. U pokročilých stádií je indikována enterální výživa. Bezlepková dieta u nemocných s CVID asociovanou enteropatií nebývá efektivní [23]. Německá studie prokázala efektivitu bezlepkové diety u 2/4 nemocných s CVID-enteropatií a současnou pozitivitou HLA-DQ2 či DQ8 [218]. Imunoglobulinová substituční léčba taktéž nevede ke zlepšení zdravotního stavu nemocných [125]. U syndromu bakteriálního přerůstání se úspěšně uplatňuje cyklická léčba antibiotiky s omezeným vstřebáváním z trávicího traktu (rifaximin).

V případech „IBD-like“ onemocnění jsou lékem první volby opět perorálně podávané kortikoidy. Při nedostatečném efektu lze použít azathioprin či biologika anti-TNF α [94].

Úvodní stádia nodulární regenerativní hyperplázie nevyžadují léčbu. Při vzniku portální hypertenze lze uvažovat o zavedení TIPS (Transjugular Intrahepatic Portosystemic Shunt) či chirurgické založení spleno-renálního „shuntu“. Ve stádiu „hepatitis-like“ je na místě podání imunosupresivní léčby, např. prednison, azathioprin, event. 6-mercaptopurin. Největší riziko pro nemocného bývají závažné, často smrtelné infekce i přes adekvátní substituční léčbu imunoglobuliny. Otázka splenektomie není jednoznačně dořešena. Její provedení by mělo být zvažováno u nemocných s rizikem spontánní ruptury. Odstranění však nevede k zástavě patologického procesu [124].

Další autoimunitní komplikace jsou řešeny obdobně jako u nemocných bez přítomné imunodeficiency.

3.7.11. Mortalita nemocných s CVID

CVID je spojena s vysokým stupněm morbidit a zvýšenou mortalitou. Doba přežití se zlepšila z 30 % 12 let po stanovení diagnózy (hlášených v roce 1969 z Velké Británie) na 58 % 45 let po diagnóze [91]. Toto zlepšení je spojeno s lepším porozuměním podstaty onemocnění, možností substituční léčby imunoglobuliny, zlepšením antimikrobní terapie, které jsou spojené s poklesem výskytu závažných infekcí. Nejčastěji hlášenými příčinami úmrtí jsou respirační selhání při chronické plicní nedostatečnosti, lymfomy a další nádory [6]. Evropská data ukazují, že mezi lety 2004 a 2014 byla mortalita zvýšena oproti běžné populaci ve věkové kategorii 5-14 let 38 krát, 15-34 9 krát, 35-54 3-5 krát a konečně nad 55 let 0,6-1,9 krát [145]. V porovnání s běžnou populací je ztráta zdravých let pro předčasnou smrt či život s invaliditou odhadována mezi 33 078 až 41 380/100 000 v CVID populaci v. s. 1,3 až 1,7 /100 000 v obecné evropské populaci. Tyto hodnoty jsou porovnatelné se zátěží vyplývající z cévních mozkových příhod (60 247/100 000) či kardiovaskulárních onemocnění (52 953/100 000), a přesahují břímě diabetu či chronické plicní nemoci (10 445/100 000) [145].

3.8. Další primární imunodeficeience s převahou poruchy tvorby protilátek

3.8.1. Syndrom aktivované fosfoinositid 3 -kinázy δ (APDS)

APDS syndrom je relativně novou klinickou jednotkou patřící svou povahou do skupiny kombinovaných primárních imunodeficitů. K manifestaci projevů dochází často již v dětském věku. Klinicky dominují opakující se sinopulmonální infekce (98 %) a reaktivní lymfoproliferace (75 %). Další projevy zahrnují herpetické infekce (49 %), autoimunitní komplikace, cytopenie, glomerulonefritidu, séronegativní artritidu, sklerozující cholangoitidu (34 %) a lymfomy (13 %). Postižení zažívacího traktu se může projevit hepatosplenomegalií, způsobenou jaterní cirhózou, nebo nodulární lymfoidní hyperplázií a chronickými průjmy, způsobenými enteropatií. Laboratorně obvykle nacházíme zvýšené sérové koncentrace IgM, deficit IgG a snížený počet pomocných CD4+ T lymfocytů.

Fenotyp jedinců nesoucích danou mutaci je variabilní od asymptomatických jedinců až po závažné postižení vedoucí k časnému úmrtí či nezbytnosti transplantace kostní dřeně. Léčebně indikujeme antibiotickou, eventuálně antivirovou profylaxi, substituční léčbu imunoglobuliny a imunosupresivní léčbu (rituximab, rapamycin) [11,43].

3.8.2. Deficience molekuly CTLA-4 (CD152)

Molekula CTLA-4 (Cytotoxic T Lymphocytes Antigen-4) T lymfocytů je základním negativním regulátorem imunitní odpovědi. Je konstitučně exprimován na T-regulačních lymfocytech a je zesíleně vyjádřena na aktivovaných T lymfocytech. CTLA-4 inhibuje aktivaci T lymfocytů, hraje významnou úlohu při udržování periferní tolerance. Jeho deficit je u myši příčinou fatálních autoimunitních komplikací. U člověka vykazuje jeho autozomálně dominantně děděný deficit redukovanou penetranci a variabilní míru expresivity. Klinicky se projevuje hypogamaglobulinémií, opakujícími se infekcemi, mnohočetnými autoimunitními komplikacemi a lymfocytárními infiltráty ve vnitřních orgánech. Dle výše frekvence výskytu byly popsány chronické průjmy/enteropatie, granulomatózní lymfocytární intersticiální plicní nemoc, orgánové infiltrace v kostní dřeni, ledvinách, mozku, játrech, splenomegalie, cytopenie, lymfadenopatie, psoriáza, autoimunitní thyreoiditída či artritída. Mezi 184 nositeli CTLA4 mutace (131 symptomatických) bylo zaznamenáno 17 malignit, nejčastěji lymfomy a nádory žaludku, v řadě případů asociovaných s infekcí virem EBV.

Léčebně se snažíme komplikace ovlivnit biologickou léčbou (abatacept, inhibitory mTOR), v nejtěžších případech transplantací kostní dřeně. Nemocné zajišťujeme antibiotickou profylaxi či substitucí imunoglobuliny [51,133,192,193].

3.8.3. Deficience molekuly LRBA

LRBA (Lipopolysaccharide (LPS)-Responsive and Beige-like Anchor protein) je cytosolický protein náležící do proteinové rodiny BEACH-WD40. Je exprimován především na buňkách hematopoetických, nervových, gastrointestinálních a endokrinních. Hraje úlohu při udržování intracelulárních zásob CTLA-4 v T lymfocytech. Jeho deficience se klinicky projevuje přítomností enteropatie charakteru „IBD-like“, autoimunity, nejčastěji cytopenie, imunodeficiencí charakteru kombinované imunodeficience (CVID), či „CVID-like“ s recidivujícími infekcemi a hypogamaglobulinémií. Závažnost klinické manifestace je opět velmi variabilní i u jedinců v rámci jedné rodiny s možností zcela asymptomatického průběhu. K prvním známkám onemocnění dochází často již v dětském věku. Léčebná strategie zahrnuje cílenou antibiotickou léčbu, substituční léčbu imunoglobuliny. Při dominujících dysregulačních komplikacích je indikována léčba abataceptem, biologikem, které neutralizuje molekulu CTLA-4, či transplantace kostní dřeně [9].

4. Sekundární protilátkové imunodeficiencie

Sekundární protilátkové imunodeficiencie představují stavy spojené s kvantitativní a/nebo kvalitativním nedostatkem protilátek vyvolané známou, druhotnou příčinou. Nemají tedy genetický základ, jak tomu je u primárních imunodeficiencí. Klinické projevy mohou být různě závažné, od klinicky němých až po výskyt závažných, zejména bakteriálních infekcí. Obecně lze příčiny rozdělit na poruchy spojené s porušenou tvorbou protilátek, jejich hyperkatabolismem či nadměrnými ztrátami. Přehled ukazují tabulky č. 4 a 5. Specifickou skupinu reprezentují stavy iatrogeně navozené. V některých případech mají dlouhodobý charakter a vyžadují substituční léčbu imunoglobuliny.

| Sekundární hypogamaglobulinémie spojené s dalším onemocněním |
|--|
| lymfoproliferativní onemocnění |
| chronická lymfatická leukemie |
| mnohočetný myelom |
| ztráta proteinů střevní sliznicí (vrozené lymfagiektázie, nespecifické střevní záněty, sekundární srdeční vady či konstriktivní perikarditida) |
| nefrotický syndrom |
| abnormality lymfatického systému |
| stavy spojené s hyperkatabolismem bílkovin |
| Goodův syndrom (hypogamaglobulinémie spojená s thymomem) |
| těžké popáleniny |
| infekční onemocnění: HIV-1, HHV-4 (EBV), kongenitální infekce HHV-5 (CMV), rubeola, toxoplasmosa |
| malnutrice |
| závažná chronická onemocnění (diabetes, urémie, jaterní selhávání) |
| další: některé vrozené metabolické vady, součást obrazu vrozených chromozomálních aberací (trisomie 18,21, delece 18q, monosomie 22) |

Tab č. 4: Přehled sekundárních hypogamaglobulinémií způsobený jinými interními onemocněními

| Sekundární hypogamaglobulinémie indukované léky |
|---|
| Kortikosteroidy |
| mykofenolát mofetil |
| Cyklofosfamid |
| antiCD20 (rituximab, obinutuzumab, ofatumumab), anti CD19 (blinatumumab) |
| antiBAFF (B cell activating factor) (belimumab) |
| další biologická léčiva (imatinib, dasatinib, atacicept) |
| antiepileptika (carbamazepin, phenytoin, valproát, lamotrigin) |
| Sulfasalazin |
| Metotrexát |
| Clozapin |
| další léčiva: soli zlata, D-penicilamin, azathioprin, antimalarika, chlopromazin, fludarabin, melfalan a další chemoterapeutika, captopril, fenclofenac |

Tab č. 5: Přehled sekundárních hypogamaglobulinémií indukovaných léky

4.1. Chronická lymfatická leukemie

Charakteristika onemocnění

Chronická lymfatická leukemie (CLL) představuje nejčastější leukemii v dospělosti, incidence v České republice se pohybuje okolo 6 případů na 100 000 obyvatel a rok. Jedná se obvykle o onemocnění starších pacientů, s mediánem 65–72 let věku při stanovení diagnózy. Lze ji však zachytit i u mladších pacientů, již okolo 30. věku života. CLL je charakterizována progresivní akumulací periferních monoklonálních morfologicky zralých CD5+ B lymfocytů v kostní dřeni, periferní krvi a lymfatických orgánech, kdy základním patofyziologickým defektem je rezistence patologických buněk k apoptóze a rovněž i jejich nekontrolovaná proliferace [129].

Diagnóza CLL je stanovena dle doporučení *International Workshop on CLL (IWCLL)* na základě vyšetření krevního obrazu s mikroskopickým rozpočtem a průtokové cytometrie periferní krve. Diagnostika vyžaduje přítomnost minimálně $5 \times 10^9/l$ B lymfocytů v periferní krvi s průkazem charakteristického fenotypu a klonality stanovením exprese lehkých řetězců imunoglobulinů průtokovou cytometrií. V krevním nátěru jsou nacházeny převážně malé, zralé lymfocyty s úzkým lemem cytoplazmy a kondenzovaným jádrem bez jadérka; může se

vyskytovat příměs větších, atypických lymfocytů s naštípnutým jádrem nebo prolymfocytů, které mohou tvořit až 55 % všech leukemických buněk [131].

Diagnostická kritéria CLL a skórovací systémy dle Raie, Bineta a modifikovaný systém dle Raie jsou uvedeny v příloze č. 1, 2.

Prognostická vyšetření

Vzhledem k mimořádné klinické variabilitě nemocných s CLL, a to i v rámci jednoho klinického stádia, je doporučeno u nemocných, kteří jsou kandidáty intenzivní/cílené léčby, zvážit vyšetření umožňující individuální prognózu zpřesnit. Mezi ně patří zejména: vyšetření genetických aberací fluorescenční *in situ* hybridizací, stanovení mutačního stavu genů pro variabilní část těžkého řetězce imunoglobulinu (IgHV) a vyšetření mutace genu *TP53*. Tyto prognostické faktory mají zásadní vliv na délku období bez léčby, období do progresu a celkové přežití (tab. č. 6) [44,71,129,162].

| Negativní prognostické faktory |
|---|
| difúzní postižení kostní dřeně |
| pokročilý věk |
| delece části chromozómu 11 nebo 17 |
| trisomie 12 |
| vysoká hladina beta2-mikroglobulinu |
| zdvojoovací čas lymfocytů méně než 1 rok |
| zvýšený podíl prolymfocytů |
| 20 a více % CLL buněk exprimujících ZAP-70 či více než 30 % CD38+ buněk |
| nemutovaný gen pro IgHV |
| přítomnost mutovaného TP53 genu |
| Příznivé faktory |
| nedifúzní postižení dřeně (nodulární či intersticiální) |
| delece části chromozómu 13 (bez dalších abnormalit) |
| méně než 20 % CLL buněk exprimujících ZAP-70 či méně než 30 % CD38+ buněk |
| mutovaný gen pro IgHV |

Tab č. 6: Shrnutí příznivých i nepříznivých prognostických faktorů u nemocných s CLL.

CLL, sekundární imunodeficiencie a riziko infekce

Výskyt infekčních komplikací je u nemocných s CLL významně zvýšen. Důvodem je imunodeficit komplexní povahy provázející vlastní onemocnění, imunosuprese navozená léky (tab č. 7) i přítomnost komplikujících interních onemocnění. Komorbidity vyplývají z vyššího věku nemocných a nejčastěji zahrnují diabetes mellitus, chronická ledvinná i kardiovaskulární onemocnění [209].

| Léčivo | Druh imunodeficience | Typy infekcí |
|---|--|--|
| alkylační látky (chlorambucil, cyklofosfamid, bendamustin) | neutropenie lymfopenie (T bb. dysfunkce) | bakteriální (<i>S. aureus</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>K. pneumoniae</i>) mykotické (dlouhodobé podávání) |
| purinová analoga (fludarabine, pentostatin) | neutropenie lymfopenie (T bb. dysfunkce, deplece CD4+, snížení B lymfo a monocytů) | bakteriální oportunní (<i>Listeria monocytogenes</i>) mykobakteriální mykotické (dlouhodobé podávání- <i>Candida spp</i> , |
| antiCD20 (rituximab, ofatumumab, obinatuzumab) | lymfopenie (B bb. dysfunkce) | bakteriální reaktivace hepatitidy B výjimečně další virové infekce (enterovirus, JC |
| antiCD52 (alemtuzumab) | lymfopenie (T i B bb. dysfunkce) | virové (CMV, HSV, VZV), mykotické, <i>Pneumocystis</i> |
| Btk inhibitory (ibrutinib, acalabrutinib) | lymfopenie (B a možná i T-dysfunkce) | hepatitida B reaktivace, mykotické (<i>Aspergillus</i> , <i>Cryptococcus</i> , |
| PI3K inhibitory (idelalisib) | leukopenie, neutropenie lymfopenie | virové (CMV, HSV), <i>Aspergillus</i> , <i>Pneumocystis</i> |
| BCL2 inhibitory (venetoclax) | neutropenie lymfopenie (B-dysfunkce) | bakteriální virové (enterovirus) |

Tab č. 7: Shrnutí nejčastějších léků používaných při léčbě CLL a jejich dopadu na imunitní system [61,84,137].

4.2. Mnohočetný myelom

Mnohočetný myelom (MM) je onemocnění charakterizované klonální proliferací a akumulací neoplasticky transformovaných plazmatických buněk v kostní dřeni, útlakem fyziologické krevetvorby, přítomností monoklonálního imunoglobulinu (paraproteinu) v séru a/nebo v moči a osteolytickým postižením skeletu. Rozvoj onemocnění u pacienta zásadně ovlivňuje jeho genetická výbava, mikroprostředí kostní dřene a exogenní činitele [24]. Mnohočetný myelom patří mezi tři nejčastější krevní nádorová onemocnění s incidencí 4 případů na 100 000 obyvatel [163], medián věku v České republice při diagnóze je 60 let [206]. V současné době je medián celkového přežití (OS) u pacientů schopných podstoupit ASCT 6-8 let, u starších pacientů neschopných podstoupit ASCT je medián OS 4-6 let [179].

Diagnostická kritéria MM, stanovení klinických stádií a prognostického skóre je součástí příloh č. 3-5.

Mnohočetný myelom, sekundární imunodeficience a infekce

Závažné infekce u MM zásadním způsobem ovlivňují přežití nemocných. Příčina vyplývá z povahy vlastního onemocnění s dalším prohloubením úměrnému délce a druhu použité léčby (tab č. 8).

| Léčivo | Druh imunodeficiency | Typy infekcí |
|--|--|--|
| léčebné režimy obsahující melfalan | hypogamaglobulinémie | opouzdřené bakterie, <i>S. aureus</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>P. aeruginosa</i> |
| vysokodávkované kortikoidy | kombinovaný imunodeficit | bakteriální (stejně jako melfalan) virové (CMV, HSV, VZV, respirační viry) <i>Pneumocystis</i> |
| inhibitory proteazómu (bortezomib, carfilzomib) | mírná neutropenie, snížení proliferace T lymfocytů a sekrece cytokinů, snížení počtu a funkce NK buněk a | dominující HSV a VZV infekce |
| imunomodulační látky (thalidomid, lenalidomid, pomalidomid) | mírná neutropenie | záleží na použité kombinaci dalších léčiv (reaktivace HSV, hepatitidy B) |
| bendamustín | myelosuprese | reaktivace hepatitidy B, infekce VZV a CMV, oportunní infekce (<i>Pneumocystis</i>) |

Tab č. 8: Shrnutí nejčastějších léků používaných při léčbě MM a jejich dopadu na imunitní systém [102,144].

Následuje práce zabývající se problematikou protilátkových imunodeficiencí u nemocných s CLL:

Králíčková P, Kúhnová J, Souček O, Vodárek P, Žak P, Šimkovič M, Motýčková M, Smolej L, Malá E, Andrýs C, Krejsek J, Thon V. Antibodies against Pneumococcal Capsular Polysaccharides and Natural Anti-Galactosyl (Alpha-Gal) in Patients with Humoral Immunodeficiencies. *J Immunol Res* 2017; 2017: 7304658. **IF=3,298**

Research Article

Antibodies against Pneumococcal Capsular Polysaccharides and Natural Anti-Galactosyl (Alpha-Gal) in Patients with Humoral Immunodeficiencies

P. Kralickova,¹ J. Kuhnova,² O. Soucek,¹ P. Vodarek,³ P. Zak,³ M. Simkovic,³ M. Motyckova,³ L. Smolej,³ E. Mala,¹ C. Andrys,¹ J. Krejsek,¹ and V. Thon^{4,5}

¹Institute of Clinical Immunology and Allergology, Faculty of Medicine in Hradec Kralove, Charles University and University Hospital Hradec Kralove, Hradec Kralove, Czech Republic

²Department of Mathematics, Faculty of Science, University of Hradec Kralove, Hradec Kralove, Czech Republic

³4th Department of Internal Medicine-Haematology, Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital Hradec Kralove, Hradec Kralove, Czech Republic

⁴Department of Clinical Immunology and Allergy, Faculty of Medicine, Masaryk University, St. Anne's University Hospital, Brno, Czech Republic

⁵RECETOX, Faculty of Science, Masaryk University, Brno, Czech Republic

Correspondence should be addressed to P. Kralickova; pavlina.kralickova@fnhk.cz

Received 18 April 2017; Revised 27 July 2017; Accepted 7 September 2017; Published 17 December 2017

Academic Editor: Senthani R. Selvan

Copyright © 2017 P. Kralickova et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Humoral deficiencies represent a broad group of disorders. The aim of the study was to compare the levels of antibodies against pneumococcal capsular polysaccharides (anti-PCP) and natural anti-galactosyl (anti-Gal) antibodies in (1) patients with chronic lymphocytic leukaemia (CLL), (2) patients with common variable immunodeficiency (CVID), and (3) a healthy population and to explore their diagnostic and prognostic potential. Serum immunoglobulin levels and levels of anti-Gal IgG, IgA, and IgM and anti-PCP IgG and IgG2 were determined in 59 CLL patients, 30 CVID patients, and 67 healthy controls. Levels of IgG, IgA, IgM, anti-Gal IgA, anti-Gal IgM, and anti-PCP IgA were lower in CLL and CVID patients than in healthy controls (p value for all parameters < 0.0001). Decrease in the levels of IgA, IgM, anti-Gal IgA, and anti-PCP IgA was less pronounced in the CLL group than in the CVID group. IgA decline, anti-Gal IgA, anti-PCP IgA, and anti-PCP IgG2 were negatively correlated with CLL stage. We devise the evaluation of anti-Gal antibodies to be a routine test in humoral immunodeficiency diagnostics, even in cases of immunoglobulin substitution therapy. Significant reductions, mainly in anti-Gal IgA, IgM, and anti-PCP IgA levels, may have prognostic importance in CLL patients.

1. Introduction

B cell lymphocytic leukaemia (CLL) is the most common leukaemia in western European adults [1]. CLL is particularly frequent in the elderly population, with an average age at diagnosis of 72 years. The disease course and survival time are widely variable [1, 2]. CLL is characterized by an accumulation of clonal lymphocytes with a specific immunophenotype (CD5⁺, CD19⁺) in the bone marrow,

peripheral blood, and secondary lymphoid organs and leads to organomegaly and suppression of physiological haematopoiesis [2]. Another clinical feature of CLL is complex alterations of the immune system, leading to higher susceptibility to infections, higher incidence of secondary malignancies, and autoimmune phenomena, such as autoimmune haemolytic anaemia and immune thrombocytopenia [3, 4]. Infectious complications are the major cause of morbidity and mortality in more than 50% of all

CCL-related deaths [5, 6]. The most common immune system defect in CLL patients is hypogammaglobulinaemia. Its severity correlates with the duration and stage of disease and is observed even in patients who have never been treated for CLL [7].

The main consequence of hypogammaglobulinaemia is increased frequency of respiratory tract infections caused by encapsulated bacteria (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Staphylococcus aureus*) [8]. CLL patients with antibody failure must be identified based on immunization and monitoring, and patients who are clinically symptomatic should be protected by administration of prophylactic antibiotics and/or immunoglobulin substitution therapy [5, 9–11].

Common variable immunodeficiency (CVID) is a disease (or likely group of diseases) caused by a deficiency in primary antibody production with enormous heterogeneity in clinical presentation. The patients are characterised by decreased IgG levels, accompanied by decreased IgA and/or IgM levels, and highly disturbed specific antibody responses to antigen challenge. Other types of hypogammaglobulinaemia must be distinguished from this type [12]. Recurrent bacterial infections of the respiratory and gastrointestinal tracts are common symptoms. A significant proportion of patients also exhibit different features of immune dysregulation, including autoimmune diseases, lung granulomatous/interstitial inflammation, enteropathy, and malignancy [13, 14]. Adequate long-life immunoglobulin substitution therapy is indicated for all established CVID patients.

Evaluation of antibody production capacity is important in humoral immunodeficiency diagnostics and is a key criterion for the indication of immunoglobulin substitution therapy. Patients with hypogammaglobulinaemia should be examined for responses to T-dependent and T-independent antigens [11, 12]. Evaluation of natural antibodies may also be important.

Anti-galactosyl (anti-Gal) antibodies are the most abundant natural antibodies in humans and are naturally produced in apes and Old World monkeys. The ligand of anti-Gal is a carbohydrate antigen with the structure anti-Gal: α 1-3Gal β 1-4GlcNAc-R [15]. These antibodies can be detected in IgG, IgA, IgM, and IgE. Anti-Gal IgE is produced in some individuals and causes allergies to red meat, bovine gelatin, and cetuximab [16, 17]. Anti-Gal IgM and IgG also mediate rejection of xenografts expressing the α -gal epitope [15].

There is no detectable anti-Gal IgM and IgA in the cord blood of newborns, whereas anti-Gal IgG is present at similar levels in both the neonate and mother because of transplacental transfer during pregnancy. These antibodies are subsequently replaced by anti-Gal antibodies produced by the neonate, and their levels increase significantly during the first two years of life [18]. The plasma concentrations remain mostly stable, with some interindividual variability throughout the patient's life. Bernth-Jensen et al. found lower plasma levels of these antibodies in subjects with blood group B [19].

The aim of the study was to evaluate the diagnostic and prognostic role of antibodies against pneumococcal capsular polysaccharide (anti-PCP) and natural anti-Gal antibodies in

CLL patients with secondary antibody deficiencies and patients with CVID.

2. Material and Methods

2.1. Study Design. The study protocol was approved by the local ethics committee. Participants in this study comprised a Czech population (Caucasian), including 59 patients with CLL (age range, 34–88 years, mean age, 66 ± 10 years; 38 men, 21 women), 30 CVID patients (age range, 18–82 years, mean age, 46 ± 16 years; 12 men, 18 women), and 67 sex- and age-matched healthy individuals (age range, 20–86 years, mean age, 56 ± 17 years; 37 men, 30 women).

The CLL patients did not receive any immunoglobulin replacement therapy or chemotherapy, anti-CD-20, or steroid therapy. Rai stage at the time of blood sample collection was 0, 1, 2, 3, and 4 in 14, 8, 14, 15, and 8 patients, respectively. Other characteristics of the CLL cohort are summarized in Table 1. All CVID patients fulfilled the criteria of the Pan-American Group for Immunodeficiency and European Society for Immunodeficiencies [20]. They were regularly administered intravenous ($n = 21$) or subcutaneous ($n = 9$) immunoglobulins at monthly doses of 368 ± 149 mg/kg (range, 170–940 mg/kg), with intervals between administrations individualized to maintain sufficient IgG trough levels. CVID patients were vaccinated during the diagnostic process for suspected immunodeficiency with the Pneumo 23 vaccine (Polysaccharidum Streptococci pneumoniae type: 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F, 33F, and 25 μ g for each serotype provided by Sanofi Pasteur, Lyon, France) between 2 and 10 years before inclusion in this study. They showed lower than 4-fold increases in anti-PCP IgG 3–4 weeks after immunisation. CLL patients and healthy controls were never vaccinated with any antipneumococcal vaccine.

Before intravenous immunoglobulin administration, blood samples were collected from patients by venipuncture, allowed to clot naturally, and then the serum was separated and stored at -80°C . Each sample was thawed once and tested for total IgG, IgA, and IgM; anti-Gal IgG, IgA, and IgM; and anti-PCP IgG and IgA in all groups. Anti-PCP IgG2 was only assessed in controls and the B-CLL group. The ratio of serum anti-Gal IgG, IgA, and IgM (U/mL) to the corresponding total serum IgG, IgA, or IgM (g/L) in U/mg and ratio of serum anti-PCP IgG and IgA (mg/L) to the corresponding total serum IgG, IgA, or IgM were calculated in mg/L.

2.2. Serum IgG, IgA, and IgM Levels. Serum levels of IgG, IgA, and IgM were determined by immunonephelometry (Immage 800, Beckman-Coulter, Brea, CA, USA). Data were obtained in g/L.

2.3. Serum Anti-Gal IgG, IgA, and IgM Levels. The serum concentration of anti- α Gal was determined by a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), using an ELISA kit for human anti-alpha galactosyl IgG, IgA, and IgM (BioVendor, Laboratorní Medicína a.s., Brno, Czech Republic) according to the manufacturer's instructions. The

TABLE 1: Characteristics of CLL cohort.

| Rai stage | 0 | I | II | III | IV | Total |
|---|--------|-------|--------|-------|-------|----------|
| Patients' number | 14 | 8 | 14 | 15 | 8 | 59 |
| IgVH mutated/unmutated/NA | 10/1/3 | 3/2/3 | 3/9/2 | 1/9/5 | 3/3/2 | 20/24/15 |
| TP53 mutated/unmutated/NA | 0/6/8 | 0/5/3 | 0/12/2 | 1/8/6 | 0/5/3 | 1/36/22 |
| Normal karyotype | 3 | 0 | 1 | 5 | 1 | 10 |
| 13q deletion | 7 | 1 | 4 | 3 | 0 | 15 |
| 12 trisomy | 0 | 1 | 2 | 4 | 3 | 10 |
| 11q deletion | 0 | 2 | 2 | 1 | 2 | 7 |
| 17p deletion | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| Other karyotype changes | 1 | 3 | 4 | 2 | 1 | 11 |
| No cytogenetics available | 3 | 1 | 0 | 0 | 1 | 5 |
| Sinusitis | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 |
| Bronchitis | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| Pneumonia | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 2 |
| Other bacterial infection requiring ATB therapy | 2 | 1 | 1 | 2 | 2 | 8 |
| Hospitalisation due to infection | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 3 |

IgVH: immunoglobulin heavy chain variable region gene; TP53: tumour protein 53; NA: data not available. Only prognostically worst karyotype change is recorded; all infections were recorded in the period of one year before blood sample collection.

range of detection was 3.13–100 U/mL for every kit. Serum samples were diluted 100x, and absorbance was read at 450 nm using a Multiskan RC ELISA reader (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA).

2.4. Serum Anti-PCP IgG, IgG2, and IgA Levels. The serum levels of anti-PCP were determined by ELISA using specific VaccZyme™ ELISA kits for human anti-PCP IgG, IgG2, and IgA (Binding Site, Birmingham, UK), according to the manufacturer's instructions. The range of detection was 3.3–270 mg/L for the IgG kit, 1.1–90 mg/L for the IgG2 kit, and 0–270 U/mL for the IgA kit. Serum samples were diluted 100x, and the absorbance was read at 450 nm using a Multiskan RC ELISA reader (Thermo Fisher Scientific).

2.5. Data Analysis. Nonparametric tests were used to analyse the data because of insufficient numbers of observations and skewed readings. Spearman's rank correlation coefficient was used to determine the dependency of each parameter on age and, for CLL patients, disease stage. The Kruskal-Wallis test was used to compare all groups, followed by the Wilcoxon two-sample rank-sum test to compare each group by two when the Kruskal-Wallis test rejected the null hypothesis. All p values were adjusted using Bonferroni correction, and $p < 0.05$ was considered significant. Statistical analysis and other computations were performed using R language (Core Team, Vienna, Austria, 2016).

3. Results

Descriptive statistical data for all parameters are shown in Tables 2 and 3. There was no statistically significant correlation with age for any parameters in our cohort (data not shown). Comparisons between groups are shown in Table 4 and Figures 1, 2, and 3 using box plots with the median, first

and the third quartiles, and whiskers with 1.5 times the interquartile range marked with the statistically significant pairs.

In the CLL group, we observed a decrease below the normal range for age in at least one of the immunoglobulin classes in 38/59 (64.4%) CLL patients: IgG < 7.3 g/L in 18/59 (30.5%) patients; IgA < 0.8 g/L in 27/59 (45.7%) patients; and IgM < 0.4 g/L 28/59 (47.5%) patients. An IgG level less than 4 g/L was only observed in 4/59 (6.7%) patients. Although, anti-PCP IgG and anti-PCP IgG2 (CLL) did not differ significantly from controls, 15/59 (25.4%) CLL patients had anti-PCP IgG lower than 20 U/mL. The levels of IgA ($p = 0.0118$; $r = -0.4306$), anti-Gal IgA ($p = 0.0286$; $r = -0.3982$), anti-PCP IgA ($p = 0.0085$; $r = -0.4374$), and anti-PCP IgG2 ($p = 0.0363$; $r = -0.3898$) were negatively correlated with disease stage.

The ratio to the serum immunoglobulin level was measured. In CVID patients, the ratio of anti-PCP IgG ($p < 0.00001$) to serum IgG level was significantly higher than that in controls. In the CLL group, the ratios of anti-Gal IgA ($p = 0.0004$) and anti-Gal IgM ($p = 0.0012$) to total IgA/IgM were already lower than those in controls. No significant difference in the anti-Gal IgG to total IgG ratio in all groups and anti-PCP IgG2 and IgA to total IgG/IgA ratios between CLL patients and controls (data not shown). In CVID group, this comparison was not made for IgA and IgM because of the significant number of small values in most parameters in CVID patients.

4. Discussion

Hypogammaglobulinaemia is the most common immunodeficiency in CLL and occurs in more than 85% patients at some point during the disease [5] and in 25% of newly diagnosed patients [21]. Its prevalence and extent correlate with disease duration, advancing stage, and infection frequency [21–26]. Hypogammaglobulinaemia occurs in 10%

TABLE 2: Descriptive statistics (all groups).

| | CLL (<i>n</i> = 59) | | | CVID (<i>n</i> = 30) | | | Controls (<i>n</i> = 67) | | |
|----------------------|----------------------|-------|-------|-----------------------|-------|-------|---------------------------|-------|--------|
| | Median | Q1 | Q3 | Median | Q1 | Q3 | Median | Q1 | Q3 |
| IgG (g/L) | 8.26 | 5.84 | 10.75 | 6.85 | 5.80 | 7.88 | 12.80 | 10.75 | 14.95 |
| IgA (g/L) | 0.82 | 0.48 | 1.69 | 0.07 | 0.07 | 0.14 | 2.58 | 1.96 | 3.12 |
| IgM (g/L) | 0.46 | 0.26 | 0.81 | 0.11 | 0.07 | 0.20 | 1.6 | 0.84 | 1.42 |
| Anti-Gal IgG (U/mL) | 45.88 | 13.69 | 80.21 | 31.60 | 27.50 | 39.50 | 64.01 | 30.80 | 144.90 |
| Anti-Gal IgA (U/mL) | 5.35 | 2.93 | 11.16 | 0.01 | 0.01 | 1.50 | 25.00 | 16.12 | 36.80 |
| Anti-Gal IgM (U/mL) | 5.70 | 1.97 | 11.31 | 1.60 | 0.50 | 6.68 | 27.80 | 14.90 | 48.68 |
| Anti-PCP IgG (mg/L) | 41.10 | 19.9 | 68.17 | 65.05 | 52.70 | 79.47 | 58.30 | 30.76 | 108.70 |
| Anti-PCP IgG2 (mg/L) | 13.73 | 7.5 | 24.49 | — | — | — | 15.24 | 7.26 | 33.10 |
| Anti-PCP IgA (mg/L) | 7.58 | 4.16 | 17.52 | 0.63 | 0.20 | 2.18 | 27.00 | 12.50 | 55.65 |

Because the data were not normally distributed, they are shown as the median, Q1 (first quartile), and Q3 (third quartile).

TABLE 3: Descriptive statistics CLL (Rai staging).

| Stadium (Rai) | 0 | I | II | III | IV | Total |
|----------------------|--------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| IgG (g/L) | 10.14 (8.68; 13.18) | 6.80 (5.36; 8.82) | 8.22 (7.08; 10.07) | 7.94 (6.29; 11.15) | 5.80 (4.15; 7.64) | 8.26 (5.84; 10.75) |
| IgA(g/L) | 1.75 (1.17; 2.09) | 0.43 (0.38; 0.53) | 1.21 (0.76; 1.72) | 0.73 (0.49; 0.91) | 0.45 (0.35; 0.83) | 0.82 (0.48; 1.69) |
| IgM(g/L) | 0.79 (0.57; 0.83) | 0.29 (0.21; 0.45) | 0.43 (0.33; 0.65) | 0.30 (0.20; 0.62) | 0.24 (0.12; 0.47) | 0.46 (0.26; 0.81) |
| Anti-Gal IgG (U/L) | 65.32 (18.73; 132.10) | 35.80 (2.73; 50.51) | 29.70 (0.78; 57.09) | 49.78 (4.38; 85.90) | 10.42 (1.78; 86.15) | 45.88 (13.69; 80.21) |
| Anti-Gal IgA (U/mL) | 11.80 (8.23; 16.39) | 2.37 (1.56; 6.31) | 5.9 (3.05; 8.33) | 4.70 (3.38; 9.19) | 2.84 (1.07; 5.19) | 5.35 (2.93; 11.16) |
| Anti-Gal IgM (U/mL) | 10.22 (6.19; 20.05) | 9.41 (2.42; 13.97) | 3.74 (1.75; 7.57) | 6.87 (1.59; 11.96) | 1.89 (1.25; 3.35) | 5.7 (1.97; 11.31) |
| Anti-PCP IgG (mg/L) | 62.66 (38.18; 89.64) | 45.72 (36.57; 57.67) | 30.4 (15.69; 56.06) | 42.58 (15.42; 73.97) | 20.86 (17.32; 37.50) | 41.10 (19.09; 68.17) |
| Anti-PCP IgG2 (mg/L) | 24.28 (13.96; 29.86) | 19.10 (14.80; 23.43) | 10.86 (5.32; 18.38) | 10.19 (4.48; 21.35) | 7.14 (6.60; 11.43) | 13.73 (7.05; 24.49) |
| Anti-PCP IgA (mg/L) | 15.64 (9.62; 22.58) | 6.41 (4.20; 10.30) | 10.57 (5.65; 24.78) | 6.97 (3.79; 9.37) | 3.74 (3.23; 4.67) | 7.58 (4.16; 17.52) |

Because the data were not normally distributed, they are shown as the median, Q1 (first quartile), and Q3 (third quartile).

TABLE 4: Comparison between groups.

| | CLL × controls | CLL × CVID | CVID × controls |
|---------------|----------------|------------|-----------------|
| IgG | <0.0001 | 1 | <0.0001 |
| IgA | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 |
| IgM | <0.0001 | 0.0001 | <0.0001 |
| Anti-Gal IgG | 0.3303 | 1 | 0.0180 |
| Anti-Gal IgA | <0.0001 | 0.0002 | <0.0001 |
| Anti-Gal IgM | <0.0001 | 0.3504 | <0.0001 |
| Anti-PCP IgG | ND | ND | ND |
| Anti-PCP IgG2 | ND | ND | ND |
| Anti-PCP IgA | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 |

ND: Wilcoxon two-sample rank-sum test was not performed because the *p* value was more than 0.05 in Kruskal-Wallis test.

of patients with Binet stage A [27] and up to 100% of patients with Binet stage C [28]. Its aetiology is multifactorial because of a combination of disease-related immune defects and iatrogenic immunosuppression that affects both humoral and cellular immunity [5, 25].

The prognostic significance of hypogammaglobulinaemia in terms of morbidity, mortality, and overall survival of CLL patients remains controversial. In a study by Rozman et al., the only immunoglobulin class associated with shorter survival in multivariate analysis was IgA [29]. Similarly, in a study by Shvidel et al., IgA was associated with shortened survival, but only in univariate analysis. In multivariate analysis, there was no association between survival and any immunoglobulin class [27]. Andersen et al. described the negative prognostic impact of hypogammaglobulinaemia in

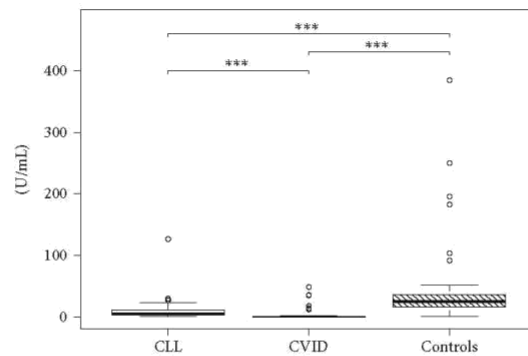


FIGURE 1: Comparison of anti-Gal IgA (U/mL) in peripheral blood. Results are presented as box plots with the median, first and third quartiles, and whiskers with 1.5 times the interquartile range marked with statistically significant pairs of groups. All groups showed significant differences ($p^{***} < 0.001$) for anti-Gal IgA.

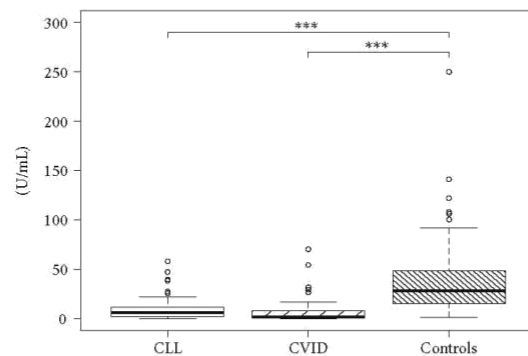


FIGURE 2: Comparison of anti-Gal IgM (U/mL) in peripheral blood. Results are presented as box plots with the median, first and third quartiles, and whiskers with 1.5 times the interquartile range marked with statistically significant pairs of groups. CLL and CVID groups showed significantly lower anti-Gal IgM level than healthy controls did ($p^{***} < 0.001$).

all classes on overall survival. However, the largest study on this topic conducted at the Mayo Clinic revealed no such association (although this study tested only IgG) [21]. Morrison et al. focused not on overall survival but on the frequency of infectious complications. In this study, only the levels of IgA were found to be significant [30].

Whereas immunoglobulin substitution therapy is indicated strictly in all CVIDs, in secondary immunodeficiencies, there is a lack of specific markers for identifying patients at higher risk of infections and for determining preemptive IgG replacement therapy. An Italian multicentre prospective cohort study identified specific CVID clinical phenotype characterised by a high pneumonia risk: low IgG and IgA levels at the time of diagnosis, an IgA level < 7 mg/dL, and bronchiectasis [31]. The same increased risk was identified in poor responders to the 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine in the IgA class [32].

Notably, some CLL patients with sufficient immunoglobulin concentrations suffer from recurrent infections, whereas some with hypogammaglobulinaemia do not. Therefore, not only the quantity of immunoglobulins but also the relative levels of IgG subclasses [33, 34] and the ability potential of B cells to form specific immune response are important [35]. Vinsentin et al. examined the best protective cutoff for each immunoglobulin isotype across disease stages, regardless of the therapy provided, with the following results: 7.44 g/L for IgG, 0.79 g/L for IgA, and 0.21 g/L for IgM [22].

As expected, we observed lower levels of all immunoglobulin classes in CLL patients than in healthy controls. However, most patients had IgG levels within the normal range (69.5%), and only 6.7% had IgG levels below 4 g/L. This was expected because a significant proportion of patients had early or indolent disease, and none had been treated for their disease at the time of blood sample collection.

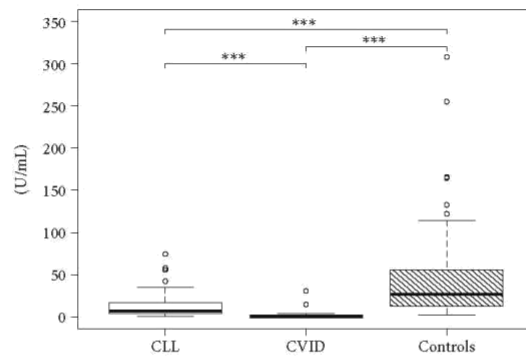


FIGURE 3: Comparison of anti-PCP IgA (mg/L) in peripheral blood. Results are presented as box plots with the median, first and third quartiles, and whiskers with 1.5 times the interquartile range marked with statistically significant pairs of groups. All groups showed significant differences ($p^{***} < 0.001$) in anti-PCP IgA.

Serious bacterial infections (requiring hospitalization and/or administration of intravenous antibiotics) in our CLL cohort were observed only in 3 of 59 (5%) patients. Thus, we considered analysis of the causal link with immunoglobulin levels statistically meaningless. Although the decreased levels of IgG and anti-PCP IgG did not differ from those in healthy controls, only 12 of 59 (20%) CLL patients had been treated with one (9/59, 15%) or more (3/59, 5%) antibiotic courses due to bacterial infection in the last year. Thus, despite their lower IgG levels and higher anti-PCP levels, these patients had fewer infections. In contrast, low levels of pneumococcal antibodies are associated with severe or multiple infections [23].

Antipneumococcal vaccination is recommended in CLL patients because *S. pneumoniae* is considered a dominant pathogen related to humoral immunodeficiency [11]. The response against polysaccharide antigens may not be sufficient in CLL patients, while conjugate vaccines appear to be more effective [36]. Pasiarski et al. found a statistically significant increase in the titres of specific antipneumococcal IgG following administration of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in CLL patients, although the titres were still much lower in the CLL group than in the control group [28]. Previous studies showed that vaccination can suppress disease progression [37, 38]. B-CLL patients in our study were not vaccinated. Their anti-PCP IgG and anti-PCP IgG2 levels were similar to that of healthy controls, but anti-PCP IgG2 was negatively correlated with disease stage. Although anti-PCP IgG reflects immunoglobulin substitution therapy in CVIDs, anti-PCP IgA levels in this group corresponded with primary immunodeficiency.

There may be a very important vaccination response not only in the IgG class but also in IgA. Our original data revealed lower levels of anti-PCP IgA in nonvaccinated CLL patients than in healthy controls. Total IgA and anti-PCP IgA were negatively correlated with disease stage. The post-vaccination response in the IgA class remains unknown. It was not surprising that anti-PCP IgA level in CVID patients

was lower than that in healthy controls and the CLL cohort because of more profound defects in humoral immunity.

Re-evaluation of actual antibody production is limited after initiation of substitution immunoglobulin therapy. Specific anti-PCP IgA responses and measured titres of iso-haemagglutinins (naturally occurring antibodies mainly of IgM isotypes to polysaccharide blood group antigens) may be an alternative clinically relevant method for assessing T cell-independent antibody production in patients who have already been started on IgG therapy [12].

Natural anti-Gal antibodies represent another helpful marker which can be exploited in assessing antibody production ability. The possibility of determining levels of not only anti-Gal IgG, but also IgA and IgM, allows for evaluation in immunoglobulin-substituted patients. In contrast to specific antipneumococcal antibodies produced in relatively low amount, regarding the specificity, anti-Gal is the most abundant natural antibody in humans. As many as 1% of human B cells can produce anti-Gal, and those along the gastrointestinal tract produce this antibody in response to continuous antigenic stimulation by gastrointestinal bacteria [15]. Mucosal stimulation and production of antibodies in classes IgM as well as IgA are important in defence against infections. These antibodies could serve for assessment of specific humoral immune response in immunodeficient patients.

Little is known regarding anti-Gal production in immunodeficient patients. Subjects with defects in T cell-dependent antibody synthesis may have normal levels of xenoreactive natural antibodies, most of which are specific for Gal alpha 1-3 Gal. Parker et al. described the case of one agammaglobulinaemic patient with undetectable anti-Gal IgM concentration, three patients with severe combined immunodeficiency, and four Wiskott-Aldrich patients with the same findings [39].

We present here the first report of a cohort of 30 CVID patients treated with immunoglobulin substitution therapy and 59 CLL nonsubstituted patients with confirmed decrease in anti-Gal IgA and IgM. The decrease likely depended on the

severity of the immunity defect. The level of anti-Gal IgA in the CLL cohort was negatively correlated with disease stage. IgG and anti-Gal IgG levels may be influenced by immunoglobulin substitution therapy. We found no difference between the CVID and CLL groups in the levels of anti-Gal IgM. Our CLL patients were laboratory assessed early after the clinical diagnosis with only low numbers of infections in all clinical stages (Table 1). Therefore, the longer time of follow-up and recruitment of new CLL patients will allow the statistical correlation analysis regarding sinusitis, bronchitis, and pneumonia, thus requiring ATB and the ratio of anti-Gal IgA and IgM to total IgA and IgM, respectively. This is the next point for further investigations.

Moreover, our data suggest that anti-Gal IgA and anti-Gal IgM are highly sensitive markers that can be used to investigate the ability of specific antibody production in patients with primary and secondary immunodeficiency. The results for both isotypes (IgA and IgM) agreed with those for anti-PCP antibodies in immunodeficient patients ([32, 40], Figure 3). Notably, immunization of patients is not required for anti-Gal antibody production, and thus the examination is vaccine-independent and noninvasive.

5. Conclusions

Evaluation of antibody production plays a key role in the diagnosis and management of humoral immunodeficiencies. We suggest the use of anti-Gal antibodies in routine testing as an alternative to isohaemagglutinins for the diagnosis of hypogammaglobulinaemia. Significant reductions mainly in anti-Gal IgA, anti-Gal IgM, and anti-PCP IgA may have prognostic importance in immunodeficiency related to CLL. These tests are suitable even in cases of regular immunoglobulin substitution therapy.

Conflicts of Interest

The authors declare that there are no conflicts of interest regarding the publication of this paper.

Acknowledgments

This work was supported by Charles University in Prague, Faculty of Medicine in Hradec Kralove, Czech Republic, Project "PRVOUK" P37/10 and PROGRES 2017, CETO-COEN PLUS, CZ.02.1.01/0.0/0.0/15_003/0000469 of MEYS (The Ministry of Education, Youth and Sports).

References

- [1] L. Scarfo, A. J. Ferreri, and P. Ghia, "Chronic lymphocytic leukaemia," *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, vol. 104, pp. 169–182, 2016.
- [2] F. Van Bockstaele, B. Verhasselt, and J. Philippé, "Prognostic markers in chronic lymphocytic leukemia: a comprehensive review," *Blood Reviews*, vol. 23, no. 1, pp. 25–47, 2009.
- [3] C. A. Dasanu and D. T. Alexandrescu, "Risk for second nonlymphoid neoplasms in chronic lymphocytic leukemia," *Medscape General Medicine*, vol. 9, no. 4, p. 35, 2007.
- [4] S. Molica, "Infections in chronic lymphocytic leukemia: risk factors, and impact on survival, and treatment," *Leukemia & Lymphoma*, vol. 13, no. 3-4, pp. 203–214, 1994.
- [5] D. Oscier, C. Dearden, E. Eren et al., "Guidelines on the diagnosis, investigation and management of chronic lymphocytic leukaemia," *British Journal of Haematology*, vol. 159, no. 5, pp. 541–564, 2012.
- [6] A. D. Hamblin and T. J. Hamblin, "The immunodeficiency of chronic lymphocytic leukaemia," *British Medical Bulletin*, vol. 87, pp. 49–62, 2008.
- [7] F. Ravandi and S. O'Brien, "Immune defects in patients with chronic lymphocytic leukemia," *Cancer Immunology, Immunotherapy*, vol. 55, no. 2, pp. 197–209, 2006.
- [8] C. Dearden, "Disease-specific complications of chronic lymphocytic leukemia," *Hematology. American Society of Hematology. Education Program*, vol. 2008, pp. 450–456, 2008.
- [9] V. Friman, O. Winqvist, C. Blimark, P. Langerbeins, H. Chapel, and F. Dhalla, "Secondary immunodeficiency in lymphoproliferative malignancies," *Hematological Oncology*, vol. 34, no. 3, pp. 121–132, 2016.
- [10] S. Sanchez-Ramon, F. Dhalla, and H. Chapel, "Challenges in the role of gammaglobulin replacement therapy and vaccination strategies for hematological malignancy," *Frontiers in Immunology*, vol. 7, p. 317, 2016.
- [11] S. Jolles, H. Chapel, and J. Litzman, "When to initiate immunoglobulin replacement therapy (IGRT) in antibody deficiency: a practical approach," *Clinical and Experimental Immunology*, vol. 188, no. 3, pp. 333–341, 2017.
- [12] F. A. Bonilla, I. Barlan, H. Chapel et al., "International Consensus Document (ICON): common variable immunodeficiency disorders," *The Journal of Allergy and Clinical Immunology. In Practice*, vol. 4, no. 1, pp. 38–59, 2016.
- [13] E. S. Resnick, E. L. Moshier, J. H. Godbold, and C. Cunningham-Rundles, "Morbidity and mortality in common variable immune deficiency over 4 decades," *Blood*, vol. 119, no. 7, pp. 1650–1657, 2012.
- [14] B. Gathmann, N. Mahlaoui, CEREDIH et al., "Clinical picture and treatment of 2212 patients with common variable immunodeficiency," *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, vol. 134, no. 1, pp. 116–126, 2014.
- [15] U. Galili, "Anti-Gal: an abundant human natural antibody of multiple pathogenesis and clinical benefits," *Immunology*, vol. 140, no. 1, pp. 1–11, 2013.
- [16] H. Saleh, S. Embry, A. Nauli, S. Atyia, and G. Krishnaswamy, "Anaphylactic reactions to oligosaccharides in red meat: a syndrome in evolution," *Clinical and Molecular Allergy*, vol. 10, no. 1, p. 5, 2012.
- [17] C. H. Chung, B. Mirakhur, E. Chan et al., "Cetuximab-induced anaphylaxis and IgE specific for galactose- α -1,3-galactose," *The New England Journal of Medicine*, vol. 358, no. 11, pp. 1109–1117, 2008.
- [18] M. Hamanova, M. Chmelikova, I. Nentwich, V. Thon, and J. Lokaj, "Anti-Gal IgM, IgA and IgG natural antibodies in childhood," *Immunology Letters*, vol. 164, no. 1, pp. 40–43, 2015.
- [19] J. M. Bernth-Jensen, B. K. Moller, J. C. Jensenius, and S. Thiel, "Biological variation of anti-alpha Gal-antibodies studied by a novel time-resolved immunofluorometric assay," *Journal of Immunological Methods*, vol. 373, no. 1-2, pp. 26–35, 2011.
- [20] M. E. Conley, L. D. Notarangelo, and A. Etzioni, "Diagnostic criteria for primary immunodeficiencies. representing PAGID

- (Pan-American Group for Immunodeficiency) and ESID (European Society for Immunodeficiencies)," *Clinical Immunology*, vol. 93, no. 3, pp. 190–197, 1999.
- [21] S. A. Parikh, J. F. Leis, K. G. Chaffee et al., "Hypogammaglobulinemia in newly diagnosed chronic lymphocytic leukemia: natural history, clinical correlates, and outcomes," *Cancer*, vol. 121, no. 17, pp. 2883–2891, 2015.
- [22] A. Visentin, N. Compagno, F. Cinetto et al., "Clinical profile associated with infections in patients with chronic lymphocytic leukemia. Protective role of immunoglobulin replacement therapy," *Haematologica*, vol. 100, no. 12, pp. e515–e518, 2015.
- [23] H. Griffiths, J. Lea, C. Bunch, M. Lee, and H. Chapel, "Predictors of infection in chronic lymphocytic leukaemia (CLL)," *Clinical and Experimental Immunology*, vol. 89, no. 3, pp. 374–377, 1992.
- [24] I. Ben-Bassat, A. Many, M. Modan, C. Peretz, and B. Ramot, "Serum immunoglobulins in chronic lymphocytic leukemia," *The American Journal of the Medical Sciences*, vol. 278, no. 1, pp. 4–9, 1979.
- [25] V. A. Morrison, "Infectious complications of chronic lymphocytic leukaemia: pathogenesis, spectrum of infection, preventive approaches," *Best Practice & Research. Clinical Haematology*, vol. 23, pp. 145–153, 2010.
- [26] M. A. Andersen, F. J. Vojdeman, M. K. Andersen et al., "Hypogammaglobulinemia in newly diagnosed chronic lymphocytic leukemia is a predictor of early death," *Leukemia & Lymphoma*, vol. 57, no. 7, pp. 1592–1599, 2016.
- [27] L. Shvidel, T. Tadmor, A. Braester et al., "Serum immunoglobulin levels at diagnosis have no prognostic significance in stage A chronic lymphocytic leukemia: a study of 1113 cases from the Israeli CLL study group," *European Journal of Haematology*, vol. 93, no. 1, pp. 29–33, 2014.
- [28] M. Pasiarski, J. Rolinski, E. Grywalska et al., "Antibody and plasmablast response to 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in chronic lymphocytic leukemia patients – preliminary report," *PLoS One*, vol. 9, no. 12, article e114966, 2014.
- [29] C. Rozman, E. Montserrat, and N. Viñolas, "Serum immunoglobulins in B-chronic lymphocytic leukemia. Natural history and prognostic significance," *Cancer*, vol. 61, no. 2, pp. 279–283, 1988.
- [30] P. D. Wadhwa and V. A. Morrison, "Infectious complications of chronic lymphocytic leukemia," *Seminars in Oncology*, vol. 33, pp. 240–249, 2006.
- [31] I. Quinti, A. Soresina, A. Guerra et al., "Effectiveness of immunoglobulin replacement therapy on clinical outcome in patients with primary antibody deficiencies: results from a multicenter prospective cohort study," *Journal of Clinical Immunology*, vol. 31, no. 3, pp. 315–322, 2011.
- [32] F. M. Cavaliere, C. Milito, H. Martini et al., "Quantification of IgM and IgA anti-pneumococcal capsular polysaccharides by a new ELISA assay: a valuable diagnostic and prognostic tool for common variable immunodeficiency," *Journal of Clinical Immunology*, vol. 33, no. 4, pp. 838–846, 2013.
- [33] J. A. Freeman, K. R. Crassini, O. G. Best et al., "Immunoglobulin G subclass deficiency and infection risk in 150 patients with chronic lymphocytic leukemia," *Leukemia & Lymphoma*, vol. 54, no. 1, pp. 99–104, 2013.
- [34] T. Svensson, M. Högglund, and H. Cherif, "Clinical significance of serum immunoglobulin G subclass deficiency in patients with chronic lymphocytic leukemia," *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, vol. 45, pp. 537–542, 2013.
- [35] A. Nosari, "Infectious complications in chronic lymphocytic leukemia," *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*, vol. 4, no. 1, article e2012070, 2012.
- [36] M. Sinisalo, J. Aittoniemi, P. Oivanen, H. Käyhty, R. M. Olander, and J. Vilpo, "Response to vaccination against different types of antigens in patients with chronic lymphocytic leukaemia," *British Journal of Haematology*, vol. 114, no. 1, pp. 107–110, 2001.
- [37] A. Hartkamp, A. H. Mulder, G. T. Rijkers, H. van Velzen-Blad, and D. H. Biesma, "Antibody responses to pneumococcal and haemophilus vaccinations in patients with B-cell chronic lymphocytic leukaemia," *Vaccine*, vol. 19, no. 13–14, pp. 1671–1677, 2001.
- [38] M. Sinisalo, J. Vilpo, M. Itälä, M. Väkeväinen, J. Taurio, and J. Aittoniemi, "Antibody response to 7-valent conjugated pneumococcal vaccine in patients with chronic lymphocytic leukaemia," *Vaccine*, vol. 26, no. 1, pp. 82–87, 2007.
- [39] W. Parker, K. Lundberg-Swanson, Z. E. Holzknicht et al., "Isohemagglutinins and xenoreactive antibodies: members of a distinct family of natural antibodies," *Human Immunology*, vol. 45, no. 2, pp. 94–104, 1996.
- [40] Z. Chovancova, M. Vlkova, J. Litzman, J. Litzman, J. Lokaj, and V. Thon, "Antibody forming cells and plasmablasts in peripheral blood in COVID patients after vaccination," *Vaccine*, vol. 29, no. 24, pp. 4142–4150, 2011.

Koncept navazující práce s tematikou protilátkové odpovědi u nemocných s hematologickými malignitami připravovaný k podání do časopisu s IF:

Riziko infekcí u nemocných s nově diagnostikovanou chronickou lymfatickou leukémií a u nemocných s mnohočetným myelomem v průběhu indukční léčby není spojeno s množstvím antipneumokokových ani antigalaktosylových (alfa-Gal) protilátek.

Úvod

Chronická lymfatická leukemie (CLL) je onemocnění charakterizované progresivní akumulací periferních monoklonálních morfologicky zralých CD5+ B lymfocytů v kostní dřeni, periferní krvi a lymfatických orgánech, kdy základním patofyziologickým defektem je rezistence patologických buněk k apoptóze a rovněž i jejich proliferace [129]. Má heterogenní klinický průběh, který závisí na genetických faktorech [201]. Výskyt infekčních komplikací je u nemocných s CLL významně zvýšen. Důvodem je imunodeficiencie komplexní povahy provázející vlastní onemocnění, imunosuprese navozená léky i přítomností komplikujících interních onemocnění. Komorbidity vyplývají z vyššího věku nemocných, nejčastěji zahrnují diabetes melitus a chronická ledvinná i kardiovaskulární onemocnění [209].

Infekce představují hlavní příčinu morbidit i mortality. Zahrnují 50-60 % všech úmrtí [136]. Hypogamaglobulinémie, která onemocnění provází, predisponuje k repiračním onemocněním nejčastěji způsobených opouzdřenými bakteriemi (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*). V případě septických komplikací jsou nejčastějšími původci *Escherichia coli*, *S. pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus* a viridující streptokoky [108]. Snížení sérových koncentrací jakékoli hlavní třídy imunoglobulinů je ve studiích uváděno mezi 20-70 % [61,175,209]. Závažnost se prohlubuje se stádiem onemocnění [20]. Vztah k riziku rozvoje infekcí, stejně jako k možnosti zkrácené doby přežití zatím zůstávají kontroverzní [10,45,61,208,221].

Mnohočetný myelom (MM) je onemocnění charakterizované klonální proliferací a akumulací neoplasticky transformovaných plazmatických buněk v kostní dřeni, útlakem fyziologické krevetvorby, přítomností monoklonálního imunoglobulinu v séru a/nebo v moči a osteolytickým postižením skeletu [129]. Závažné infekce u MM zásadním způsobem ovlivňují přežití nemocných. Vrchol výskytu infekcí byl zaznamenán 4-6 měsíců po stanovení diagnózy

MM, s druhým vrcholem mezi 64-66 měsícem. Za většinu infekcí (54,5 %) v průběhu indukční terapie jsou odpovědné Gram-pozitivní bakterie, naopak v období progresu onemocnění převažují Gram-negativní druhy (57,7 %). Obecně bývá nejčastěji zachycena *E. coli*, následovaná *S. pneumoniae* (6 % všech závažných bakteriálních infekcí) s mediánem 7,5 měsíce od stanovení diagnózy [211]. Časný výskyt infekce bývá spojován se zkrácením doby přežití [89].

Na základě doporučení EMA představuje zhodnocení schopnosti produkce protilátek (společně se sérovou koncentrací celkového IgG) klíčové kritérium, ke kterému je nezbytné přihlídnout před zavedením substituční léčby imunoglobuliny u symptomatických nemocných se sekundárními protilátkovými imunodeficiencemi [236]. Pomocné ukazatele mohou představovat specifické antipneumokokové protilátky (anti-PCP) v třídách IgA a IgG2 či přirozené protilátky.

Anti-galaktosylové (anti-Gal) protilátky představují u člověka nejvíce zastoupené přirozené protilátky. Přirozeně jsou produkovány lidoopy a opicemi Starého světa. Liganda anti-Gal je tvořena cukerným antigenem o struktuře $\alpha 1-3\text{Gal}\beta 1-4\text{GlcNAc-R}$ [66]. Jsou detekovatelné v třídách IgG, IgA, IgM a IgE. Zatímco v pupečnickové krvi novorozence se nenacházejí v třídách IgA a IgM, třída IgG je přítomna v obdobných koncentracích jak u matky, tak u novorozence díky transplacentárnímu přenosu v průběhu těhotenství. Tyto protilátky jsou následně postupně nahrazovány anti-Gal IgG protilátkami produkovány novorozencem. Významně se zvyšují v průběhu prvních dvou let života a následně zůstávají, s interindividuální variabilitou, poměrně stabilní po celý život [70]. Lidé, kteří jsou nositeli krevní skupiny B, mohou mít koncentrace přirozeně nižší [22].

Cílem studie bylo vyhodnotit diagnostickou a zejména prognostickou roli anti-PCP a anti-GAL protilátek v různých třídách ve vztahu k riziku vzniku infekce u nemocných s CLL a MM s cílem identifikovat podskupinu nemocných s vysokým rizikem, aby u ní mohla být včas zahájena preventivní opatření.

Materiál a metodika

Design studie. Protokol studie byl schválen lokální etickou komisí. Všichni účastníci souhlasili se vstupem do studie a podepsali informovaný souhlas. Celkem se účastnilo 96 nemocných s chronickou lymfatickou leukémií (věkové rozmezí 43-88 let, průměrného věku \pm směrodatná odchylka $66,70 \pm 9,33$; 37 žen a 59 mužů), 23 nemocných s mnohočetným

myelomem (54-70; $61,17 \pm 6,34$; 9 žen a 14 mužů) a 76 zdravých kontrol (41-86, $66,62 \pm 11,11$; 42 žen a 34 mužů).

Nemocní s CLL nebyli doposud léčeni chemoterapií, anti CD-20 ani steroidní terapií. Dle modifikované klasifikace dle Raie (v době odběru vzorku) zahrnovala skupina 22 nemocných s nízkým rizikem, 36 se středním a 38 s vysokým rizikem. Bližší charakteristiky shrnuje tab č. 9.

U nemocných s mnohočetným myelomem proběhl krevní odběr těsně před zahájením autologní transplantace kostní dřeně, po absolvování stejné indukční terapie 4 cyklů á 21 dní chemoterapie VTD ve složení bortezomib 1,3 mg/m² den 1, 4, 8, 15, dexamethason 40 mg den 1, 2, 4, 5, 8, 9, 15, 16 a thalidomid 100 mg denně. V úvodu onemocnění se jednalo o 10 nemocných stádia IIA, 11 stádia IIIA a 2 nemocní stádia IIIB při ISS (International Scoring Systém) 11 nemocných ISS 1, 8 ISS 2 a 4 nemocní ISS 3.

U žádného účastníka studie neprobíhala substituční léčba imunoglobuliny a anamnesticky nebyl vakcinován žádnou antipneumokokovou vakcínou.

Sérové koncentrace a typ paraproteinu v době a diagnózy a době odběru zobrazuje tab č. 10.

| Modifikované stádium dle Raie | Nízké riziko | Střední riziko | Vysoké riziko | Celkem |
|--|---------------------|-----------------------|----------------------|---------------|
| počet nemocných | 22 | 36 | 38 | 96 |
| IgVH mutovaný/nemutovaný/NA | 14/3/5 | 8/21/7 | 10/23/5 | 32/47/17 |
| T53 mutovaný/nemutovaný/NA | 3/28/7 | 0/31/5 | 0/12/10 | 3/71/22 |
| normální karotyp | 4 | 4 | 10 | 18 |
| 13q delece | 13 | 9 | 9 | 31 |
| 12 trisomie | 0 | 7 | 10 | 17 |
| 11q delece | 0 | 6 | 6 | 12 |
| další změny karyotypu | 1 | 9 | 3 | 13 |
| cytogenetické vyšetření neprovedeno | 4 | 1 | 0 | 5 |
| sinusitida | 0 | 1 | 1 | 2 |
| bronchitida | 5 | 11 | 8 | 24 |
| pneumonie | 1 | 0 | 1 | 2 |
| další bakteriální infekce vyžadující ATB | 0 | 2 | 2 | 4 |
| celkem pacientů se sledovanými infekcemi | 6 | 13 | 11 | 30 |
| hospitalizace pro infekci | 0 | 0 | 0 | 0 |

Tab č. 9: Charakteristika CLL kohorty nemocným rozdělená dle modifikovaného stádia dle Raie

IgVH: immunoglobulin heavy chain variable region gene; TP53: tumour protein 53; NA: data nedostupná; Zaznamenány pouze prognosticky závažné změny karyotypu. Všechny infekce byly zaznamenány v časovém období 1 roku před provedeným odběrem krve pro vyšetření protilátek antiGal.

| Typ paraproteinu | Počet nemocných | Sérová koncentrace v době diagnózy [g/l]* | Sérová koncentrace v době odběru (před transplantací) [g/l]* |
|----------------------------|-----------------|---|--|
| IgG lambda | 6 | 40,65 (14,00-65,60) | 1,03 (0-3,90) |
| IgG kappa | 6 | 29,30 (9,20-51,80) | 1,55 (0-3,70) |
| IgA lambda | 2 | 17,70 (2,20-33,20) | 4,85 (0-9,70) |
| IgA kappa | 3 | 38,27 (12,60-55,90) | 5,10 (0-8,50) |
| volné lehké řetězce kappa | 5 | 7,00 (0,64-10,08) | 1,10 (0-5,39) |
| volné lehké řetězce lambda | 1 | 16,00 | 0,38 |

Tab č. 10: Sérové koncentrace a typ paraproteinu v době a diagnózy a době odběru (před BMT) ve skupině MM

* aritmerický průměr (rozsah hodnot)

Metodika

Krevní vzorky získané venepunkcí byly ponechány přirozeně se srazit. Následně bylo separováno sérum, které bylo uskladněno při -80°C . Každý vzorek byl rozmrazen pouze jedenkrát a testován současně s ostatními. Byly stanoveny sérové koncentrace celkového IgG, IgA a IgM; anti-Gal IgG, IgA, IgM; anti-PCP IgG, IgG2 a IgA.

Sérové koncentrace IgG, IgA a IgM. Sérové koncentrace byly stanoveny imunonefelometricky na přístroji Immage 800, Beckman-coulter, Brea, CA, USA. Kvantita udána v g/l.

Sérové koncentrace anti-Gal IgG, IgA, IgM. Sérové koncentrace anti-Gal protilátek byly stanoveny pomocí sendvičového ELISA testu (enzyme-linked immunosorbent assay), za použití kitu pro lidské anti-alfa galaktosy IgG, IgA a IgM (BioVendor, Laboratorní Medicína a.s. Brno, Česká republika) dle pokynů výrobce. Rozmezí pro detekci bylo 3,13 – 100 U/ml pro každý kit. Vzorky séra byly 100x zředěny a absorbance byla čtena na vlnové délce 450nm

za použití Multiskan RC ELISA reader (Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, USA).

Výsledné jednotky U/ml.

Sérové koncentrace anti-PCP IgG, IgG2 a IgA. Sérové koncentrace anti-PCP protilátek byly stanoveny ELISA metodou za použití VaccZyme TM ELISA kitu pro lidské anti-PCP IgG, IgG2 a IgA (Binding Site, Birmingham, UK) dle instrukcí výrobce. Rozsah detelce hodnot byl 3,3-270 mg/l pro IgG kit, 1,1-90 mg/l pro IgG2 kit a 0-270 U/ml pro IgA kit. Vzorky séra byly 100x zředěny a absorbance byla čtena na vlnové délce 450 nm za použití Multiskan RC ELISA reader (Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, USA). Výsledné jednotky mg/l pro anti-PCP IgG a IgG2 a U/ml pro anti-PCP IgA.

Sérové koncentrace paraproteinu a lehkých řetězců. Sérová koncentrace paraproteinu byla stanovena multikapilární elektroforézou na přístroji Capillarys 2 (Sebia, France). Typ paraproteinu byl určen imunofixací za pomoci poloautomatického, multiparametrického systému pro elektroforézu na agarozovém gelu HydrasysSCAN Focusing (Sebia, France), výsledek uváděn g/l.

Kvantita kappa a lambda volných řetězců v séru (FLC) byla stanovena imunoturbidimetricky na automatickém analyzátoru Optilite (Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, USA) pomocí diagnostické soupravy Freelite (The Binding Site Group Ltd., Birmingham, GB) LK018.OPT a LK016.OPT, referenční rozmezí: kappa:3,30 - 19,40 mg/l, lambda: 5,71 - 26,30 mg/l, index kappa/lambda: 0,26 - 1,65.

Statistické zpracování

Všechny uvažované proměnné byly testovány na normalitu pomocí Shapiro-Wilkova testu pro všechny uvažované skupiny. Žádná z proměnných nevykazovala normální rozdělení až na několik výjimek, proto byly dále použity pouze neparametrické testy. Pro zjištění, zda jsou proměnné závislé na věku, byl použit Spearmanův koeficient pořadové korelace. Tento koeficient byl také použit na určení závislosti Kruskalův-Wallisův test byl použit pro porovnání stádií a genetických mutací u pacientů s CLL. Tento test byl také použit pro porovnání pacientů s CLL a MM s kontrolní skupinou. V případě, že byl Kruskalův-Wallisův test statisticky významný, byla pomocí Wilcoxonova testu porovnána kontrolní skupina s jednotlivými skupinami pacientů. Pro porovnání závislosti mezi genetickým profilem a infekcemi a mezi genetickým profilem a IgVH mutací u pacientů s CLL byl použit Fisherův exaktní test. Při opakovaném testování byla použita metoda "False discovery rate" k

úpravě výsledných p-hodnot. Pokud není uvedeno jinak, byla uvažována hladina významnosti 5 %.

Výsledky

Nebyla shledána statisticky významná korelace mezi žádným parametrem a věkem či pohlavím (data neuváděna). Základní statistika jednotlivých sledovaných parametrů pro hlavní skupiny je znázorněna v tabulce č. 11. Základní statistická data pro skupinu CLL rozdělená na základě modifikovaných stádiích dle Raie, karyotypu a mutovaného/nemutovaného IgVH je zobrazena v tabulkách č. 12-14.

Ve skupině nemocných s CLL byla zjištěna negativní korelace mezi většinou sledovaných parametrů (IgG, IgA, IgM, anti-Gal IgA, anti-Gal IgM, anti-PCP IgG, anti-PCP IgG2 a anti-PCP IgA) a stádiem onemocnění, a to bez rozdílu při rozdělení na stádia dle Raie, Bineta či modifikovaných stádií dle Raie (grafy č. 1-9). S vyšším stádiem jednotlivé hodnoty klesají. Rozdíl mezi skupinami nebyl zjištěn pouze v případě anti-Gal IgG (tab č. 15, graf č. 4). Dále nebyl shledán statisticky významný rozdíl při rozdělení nemocných s CLL na základě změn karyotypu, přítomnosti/nepřítomnosti mutace IgVH (data neuváděna).

Nemocní s CLL vykazovali sérové koncentrace všech parametrů (kromě anti-PCP IgG2) statisticky signifikantně nižší než kontrolní skupina zdravých osob (tab č. 16, grafy č. 10-12). Hypogamaglobulinémie (hodnoty IgG <7,3 g/l, IgA <0,80 g/l, IgM <0,40 g/l) minimálně v jedné třídě byla naměřena u 65,7 % pacientů, koncentrace celkového IgG pod hodnotu 4 g/l byla zjištěna u 9,4 % nemocných (tab č. 17, 18). Nedostatečně protektivní hodnoty protilátek anti-PCP IgG se vyskytly u 21,9 % nemocných (bez rozdílu stádia) v porovnání se zdravými (věkově shodného rozložení) kontrolami (15,8 %). U nemocných vysokého a středního rizika dle Raie neprotektivní hodnoty převyšovaly 30 % (tab č. 18). I přes tyto nálezy, nebyl v CLL skupině shledán statisticky významný rozdíl mezi podskupinou s historií infekce v posledním kalendářním roce (sinusitida, bronchitida, pneumonie či jiné závažné bakteriální infekce) a podskupiny bez prodělané infekce (IgG, IgA, IgM, podtřída IgG2, anti-Gal i anti-PCP protilátky, změny karyotypu, přítomnost/nepřítomnost mutace IgVH).

Základní statistická data pro skupinu MM jsou shrnuta v tab č. 11. Ve skupině nemocných s MM byla zjištěna hodnota všech sledovaných parametrů v období před provedením transplantace kostní dřeně významně nižší než u zdravých kontrol, hodnoty hlavních tříd nepostižených imunoglobulinů již v době diagnózy MM byly významně nižší

(tab č. 16, grafy č. 10-12). V porovnání hodnot IgG, IgA a IgM v období diagnózy a v předtransplantačním období se sice statisticky významně nelišily (malý počet zařazených nemocných), ale bylo možné sledovat snížení závažnosti hypogamaglobulinémie. Zatímco v době diagnózy postihovalo snížení sérových koncentrací převážně dvě či tři hlavní třídy (34,8 % resp. 21,7 %), v předtransplantačním období převažovalo postižení pouze jedné třídy (39,1 %) (tab č. 17).

Hypogamaglobulinémie minimálně v jedné třídě byla zaznamenána v době diagnózy MM u 74,3 % a předtransplantačně u 60,8 %. Nепrotektivní hodnoty anti-PCP IgG byly zjištěny u 34,8 % (předtransplantačně). Ani v tomto případě nebyl identifikován faktor, který by charakterizoval nemocné s prodělanou bakteriální infekcí jeden kalendářní rok před transplantací kostní dřeně. Nemocní s prodělanou infekcí v. bez prodělané infekce se vzájemně nelišili v žádném hodnoceném parametru.

| | Zdravé kontroly | | | CLL | | | Mnohočetný myelom | | |
|----------------------|-----------------|-------|--------|--------|-------|-------|-------------------|-------|-------|
| | Medián | Q1 | Q3 | Medián | Q1 | Q3 | Medián | Q1 | Q3 |
| IgG (g/l) | 12,30 | 9,98 | 14,4 | 8,15 | 5,49 | 10,30 | 7,55 | 6,36 | 10,43 |
| IgA (g/l) | 2,53 | 1,80 | 3,10 | 0,80 | 0,46 | 1,44 | 0,89 | 0,55 | 1,37 |
| IgM (g/l) | 1,14 | 0,83 | 1,0 | 0,43 | 0,26 | 0,73 | 0,56 | 0,50 | 0,80 |
| anti-Gal IgG (U/l) | 55,22 | 25,78 | 126,85 | 35,89 | 12,06 | 73,23 | 22,50 | 11,59 | 34,81 |
| anti-Gal IgA (U/ml) | 19,50 | 12,41 | 34,09 | 4,13 | 2,52 | 11,14 | 5,36 | 2,31 | 11,99 |
| anti-Gal IgM (U/ml) | 18,73 | 10,05 | 33,67 | 3,92 | 1,73 | 10,00 | 5,42 | 2,89 | 15,02 |
| anti-PCP IgG (mg/l) | 48,08 | 26,90 | 106,25 | 40,00 | 21,11 | 71,85 | 23,43 | 16,92 | 31,84 |
| anti-PCP IgG2 (mg/l) | 16,95 | 8,72 | 35,21 | 14,57 | 7,36 | 25,06 | 9,81 | 6,13 | 15,41 |
| anti-PCP IgA (U/ml) | 15,81 | 9,70 | 35,20 | 8,58 | 5,13 | 17,30 | 7,31 | 5,63 | 8,50 |

Tab. č. 11: Základní statistická data pro sledované parametry ve skupině nemocných s CLL, s mnohočetným myelomem před transplantací kostní dřeně a u zdravých kontrol.

| | Nízké riziko (n = 22) | | | Střední riziko (n = 36) | | | Vysoké riziko (n = 38) | | |
|----------------------|-----------------------|-------|--------|-------------------------|-------|-------|------------------------|-------|-------|
| | Medián | Q1 | Q3 | Medián | Q1 | Q3 | Medián | Q1 | Q3 |
| IgG (g/l) | 9,86 | 8,22 | 10,70 | 8,51 | 6,75 | 10,15 | 6,14 | 4,43 | 8,18 |
| IgA (g/l) | 1,37 | 1,16 | 1,90 | 0,82 | 0,61 | 1,71 | 0,47 | 0,37 | 0,82 |
| IgM (g/l) | 0,59 | 0,50 | 0,81 | 0,40 | 0,32 | 0,71 | 0,26 | 0,13 | 0,54 |
| anti-Gal IgG (U/l) | 42,07 | 19,93 | 91,71 | 31,70 | 12,47 | 59,12 | 32,49 | 9,33 | 71,79 |
| anti-Gal IgA (U/ml) | 11,16 | 4,71 | 16,39 | 4,66 | 2,70 | 10,76 | 3,07 | 1,35 | 5,10 |
| anti-Gal IgM (U/ml) | 9,07 | 3,98 | 21,05 | 4,28 | 2,20 | 8,68 | 2,07 | 1,09 | 4,66 |
| anti-PCP IgG (mg/l) | 62,67 | 33,90 | 108,47 | 41,01 | 25,58 | 67,86 | 28,46 | 16,30 | 47,22 |
| anti-PCP IgG2 (mg/l) | 24,28 | 13,97 | 53,70 | 18,08 | 8,84 | 24,71 | 9,38 | 6,48 | 17,71 |
| anti-PCP IgA (U/ml) | 12,08 | 8,65 | 22,58 | 10,22 | 6,21 | 20,09 | 5,29 | 3,67 | 8,57 |

Tab. č. 12: Základní statistická data pro sledované parametry ve skupině nemocných s CLL podle modifikovaného stagingu dle Raie

| | del 11q | | | del 13q | | normal karyotyp | | | tri 12 | | | |
|-----------------------------|---------|-------|-------|---------|-------|-----------------|--------|-------|--------|--------|-------|-------|
| | Medián | Q1 | Q3 | Medián | Q1 | Q3 | Medián | Q1 | Q3 | Medián | Q1 | Q3 |
| IgG (g/l) | 8,30 | 7,0 | 9,04 | 8,15 | 5,18 | 10,30 | 6,74 | 4,73 | 10,65 | 7,84 | 6,69 | 10,10 |
| IgA (g/l) | 0,60 | 0,46 | 0,76 | 1,08 | 0,69 | 1,80 | 0,912 | 0,45 | 1,40 | 0,50 | 0,288 | 1,03 |
| IgM (g/l) | 0,44 | 0,34 | 0,74 | 0,51 | 0,32 | 0,77 | 0,38 | 0,15 | 0,64 | 0,26 | 0,205 | 0,74 |
| anti-Gal IgG (U/l) | 42,77 | 20,76 | 56,23 | 34,04 | 10,36 | 63,18 | 28,89 | 5,55 | 71,79 | 28,95 | 18,31 | 83,34 |
| anti-Gal IgA (U/ml) | 3,16 | 2,69 | 4,47 | 5,46 | 3,04 | 16,18 | 4,54 | 2,83 | 9,51 | 2,55 | 1,63 | 19,88 |
| anti-Gal IgM (U/ml) | 3,17 | 2,20 | 3,50 | 4,70 | 1,89 | 10,53 | 2,07 | 1,15 | 26,06 | 4,45 | 1,77 | 7,36 |
| anti-PCP IgG (mg/l) | 31,98 | 21,11 | 43,35 | 40,78 | 28,4 | 72,88 | 30,89 | 15,25 | 76,56 | 44,93 | 25,55 | 78,85 |
| anti-PCP IgG2 (mg/l) | 11,68 | 6,79 | 18,49 | 17,74 | 10,56 | 27,85 | 10,56 | 4,40 | 24,97 | 17,61 | 8,57 | 25,09 |
| anti-PCP IgA (U/ml) | 5,28 | 3,53 | 10,00 | 9,41 | 5,86 | 19,06 | 8,75 | 4,05 | 14,97 | 8,53 | 5,53 | 16,62 |

Tab č. 13: Základní statistická data pro vybrané změny karyotypu

| | Mutovaný IgVH | | | Nemutovaný IgVH | | |
|----------------------|---------------|-------|-------|-----------------|-------|-------|
| | Medián | Q1 | Q3 | Medián | Q1 | Q3 |
| IgG (g/l) | 8,13 | 5,10 | 10,33 | 7,94 | 6,33 | 10,30 |
| IgA (g/l) | 1,13 | 0,53 | 1,61 | 0,701 | 0,45 | 0,91 |
| IgM (g/l) | 0,43 | 0,22 | 0,81 | 0,40 | 0,26 | 0,70 |
| anti-Gal IgG | 32,55 | 11,24 | 70,52 | 36,49 | 12,05 | 78,05 |
| anti-Gal IgA | 5,41 | 3,00 | 15,26 | 3,29 | 2,14 | 6,55 |
| anti-Gal IgM | 4,28 | 2,02 | 13,06 | 3,12 | 1,71 | 7,23 |
| anti-PCP IgG | 36,00 | 25,51 | 67,95 | 40,91 | 17,31 | 65,71 |
| anti-PCP IgG2 | 16,06 | 9,75 | 24,81 | 14,02 | 6,60 | 24,84 |
| anti-PCP IgA | 10,22 | 6,07 | 19,96 | 7,58 | 4,49 | 13,22 |

Tab č. 14: Základní statistická data pro IgVH

| | | IgG | IgA | IgM |
|----------------------------------|---------|------------|------------|------------|
| Modified Rai risk staging | r_s | -0,405 | -0,500 | -0,393 |
| | p-value | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 |
| Rai staging | r_s | -0,402 | -0,489 | -0,403 |
| | p-value | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 |
| Binet staging | r_s | -0,243 | -0,385 | -0,352 |
| | p-value | 0,019 | <0,0001 | 0,001 |

(A)

| | | Anti-Gal IgG | Anti-Gal IgA | Anti-Gal IgM |
|----------------------------------|---------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Modified Rai risk staging | r_s | -0,094 | -0,412 | -0,424 |
| | p-value | 0,360 | <0,0001 | <0,0001 |
| Rai staging | r_s | -0,123 | -0,417 | -0,451 |
| | p-value | 0,234 | <0,0001 | <0,0001 |
| Binet staging | r_s | -0,106 | -0,349 | -0,424 |
| | p-value | 0,305 | 0,001 | <0,0001 |

(B)

| | | Anti-PCP IgG | Anti-PCP IgG2 | Anti-PCP IgA |
|----------------------------------|---------|---------------------|----------------------|---------------------|
| Modified Rai risk staging | r_s | -0,346 | -0,375 | -0,443 |
| | p-value | 0,001 | <0,0001 | <0,0001 |
| Rai staging | r_s | -0,367 | -0,393 | -0,446 |
| | p-value | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 |
| Binet staging | r_s | -0,442 | -0,449 | -0,382 |
| | p-value | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 |

(C)

Tab č. 15 (A-C): Korelace stádia stagovacího systému a sledovaných parametrů. Ve všech případech (kromě antiGal IgG) byla zaznamenána statisticky významná negativní korelace (se zvyšujícím se stupněm stádia, docházelo k poklesu jednotlivých hodnot). U anti-Gal protilátek nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými stadii u všech uvedených skórovacích systémů.

| | Kontroly x CLL | Kontrola x MM v době diagnózy | Kontroly x MM před TKD |
|-----------------------------|---------------------------|--|-----------------------------------|
| IgG (g/l) | <0,0001 | 0,006 | <0,0001 |
| IgA (g/l) | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 |
| IgM (g/l) | <0,0001 | <0,0001 | <0,0001 |
| anti-Gal IgG (U/l) | 0,002 | NA | 0,0014 |
| anti-Gal IgA (U/ml) | 0,002 | NA | <0,0001 |
| anti-Gal IgM (U/ml) | <0,0001 | NA | <0,0001 |
| anti-PCP IgG (mg/l) | 0,0177 | NA | 0,0002 |
| anti-PCP IgG2 (mg/l) | 0,2117 | NA | 0,0135 |
| anti-PCP IgA (U/ml) | <0,0001 | NA | <0,0001 |

*NA (nelze hodnotit)

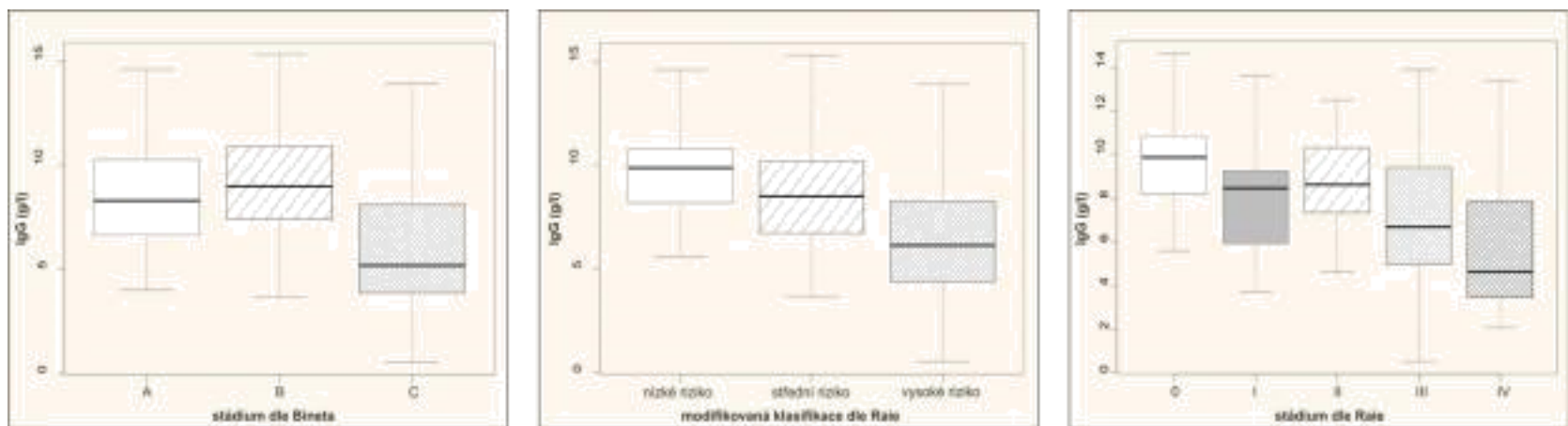
Tab č. 16: Porovnání skupiny nemocných s CLL a MM se skupinou zdravých kontrol. Ve všech sledovaných případech (kromě hodnot anti-PCP IgG2 ve skupině CLL), byly všechny naměřené hodnoty u nemocných s CLL a MM signifikantně nižší než u zdravých kontrol.

| | CLL | Modifikovaný staging dle Raie | | | Mnohočetný myelom | |
|----------------|------------------|-------------------------------|-------------------|-----------------|--------------------|-----------------------|
| snížení Ig | celkem (n=96) | riziko vysoké | střední (n=36) | nízké (n=22) | doba dg. (n=23) | předtranspl (n=23) |
| 3 třídy | 23 (24 %) | 17 (44,7 %) | 6 (16,7 %) | 0 | 5 (21,0 %) | 2 (8,7 %) |
| 2 třídy | 18 (18,8 %) | 8 (21,1 %) | 7 (19,4 %) | 3 (13,6 %) | 8 (34,8 %) | 3 (13,0 %) |
| 1 třída | 22 (22,9 %) | 8 (21,1 %) | 12 (33,3 %) | 2 (9,1 %) | 4 (17,4 %) | 9 (39,1 %) |

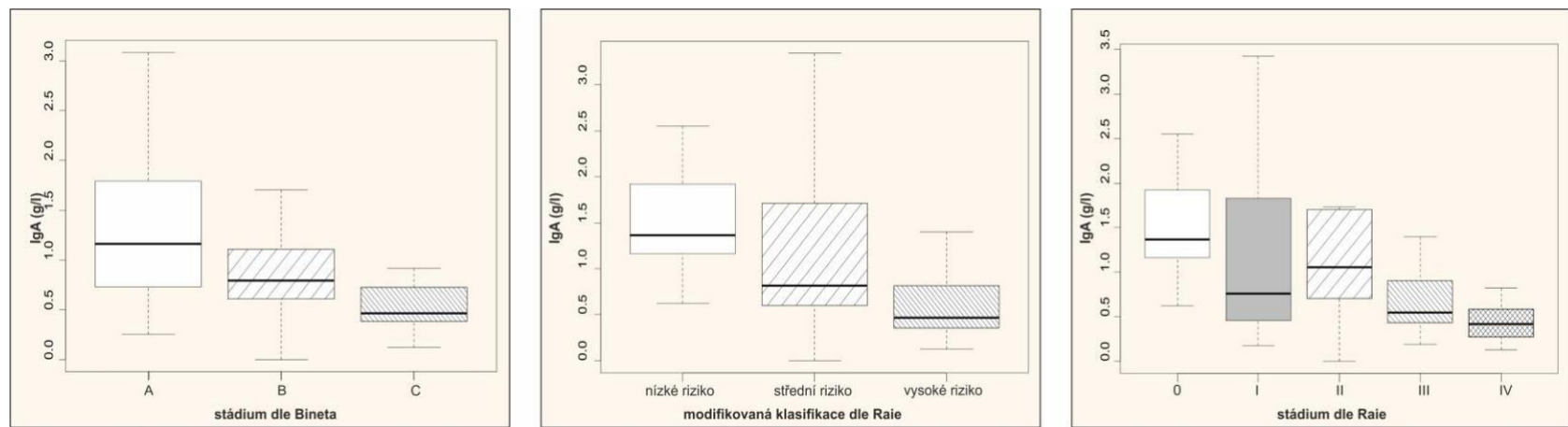
Tab č. 17: Počet nemocných se snížením imunoglobulinů ve 3, 2 a 1 hlavní třídě imunoglobulinů pod dolní hranici referenčního rozmezí.

| | CLL | Modifikovaný staging dle Raie | | | Mnohočetný myelom | | Zdravé kontroly |
|----------------------------|------------------|-------------------------------|-------------------|-----------------|--------------------|------------------------------|--------------------|
| | celkem (n=96) | vysoké (n=38) | střední (n=36) | nízké (n=22) | doba dg. (n=23) | předtransplantačně (n=23) | (n= 76) |
| IgG <4 g/l | 9 (9,4 %) | 8 (21,0 %) | 1 (2,6 %) | 0 | 1 (4,3 %) | 2 (9,1 %) | 0 |
| IgG <7,3 g/l | 36 (37,5 %) | 23 (60,5 %) | 11 (30,5 %) | 2 (3,5 %) | 27 (71,0 %) | 7 (30,4 %) | 3 (3,9 %) |
| IgA <0,8 g/l | 46 (47,9 %) | 27 (71,0 %) | 16 (44,4 %) | 3 (13,6 %) | 14 (60,9 %) | 10 (43,5 %) | 2 (2,6 %) |
| IgM <0,4 g/l | 46 (47,9 %) | 25 (65,8 %) | 18 (50 %) | 3 (13,6 %) | 14 (60,9 %) | 4 (17,4 %) | 0 |
| PCP IgG <20 mg/l | 21 (21,9 %) | 12 (31,6 %) | 7 (31,8 %) | 2 (9,1 %) | NA | 8 (34,8 %) | 12 (15,8 %) |

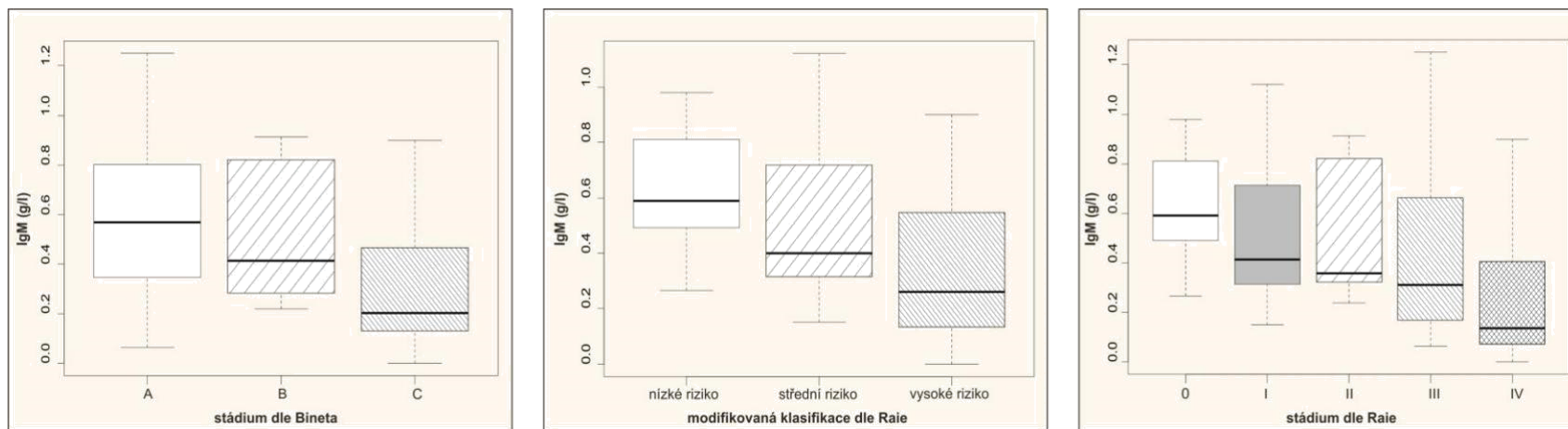
Tab č. 18: Počty nemocných se sérovými koncentracemi imunoglobulinů pod dolní hranicí referenčního rozmezí.



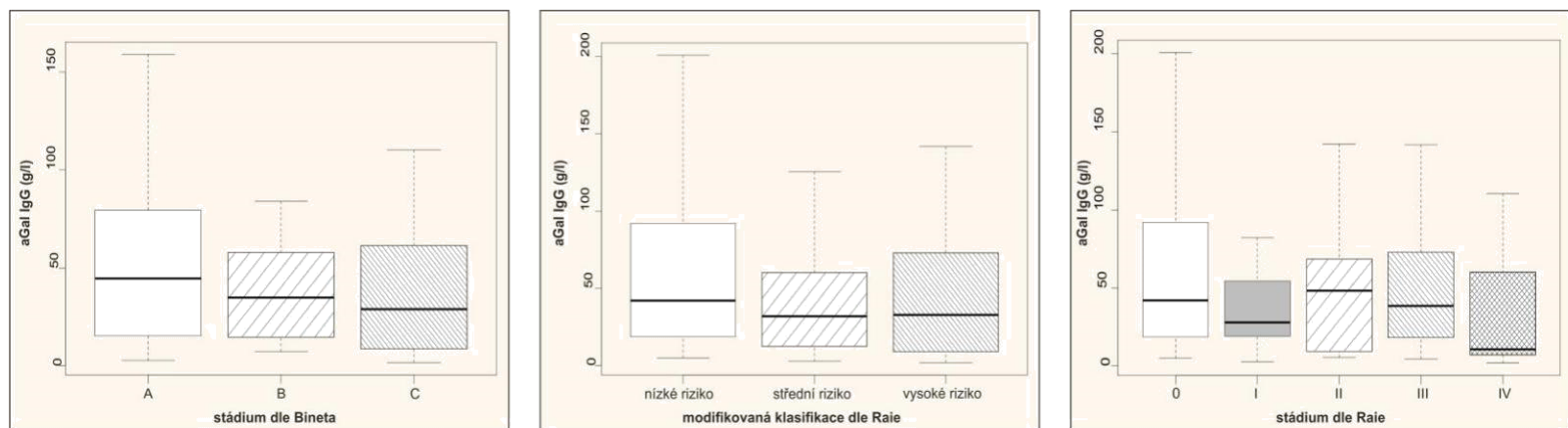
Graf č. 1 (A-C): Porovnání stádií CLL dle Bineta, Raie a modifikované klasifikace dle Raie pro hodnoty IgG ($p=0,019$, $p < 0,001$, resp. $p < 0,001$).



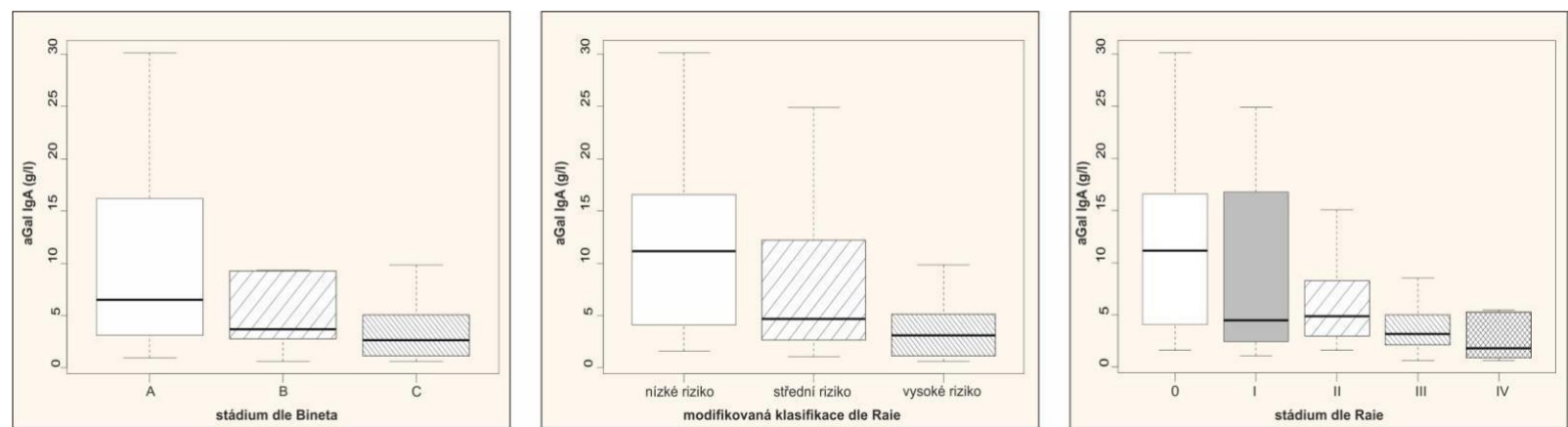
Graf č. 2 (A-C): Porovnání stádií CLL dle Bineta, Raie a modifikované klasifikace dle Raie pro hodnoty IgA (pro všechny parametry $p < 0,001$).



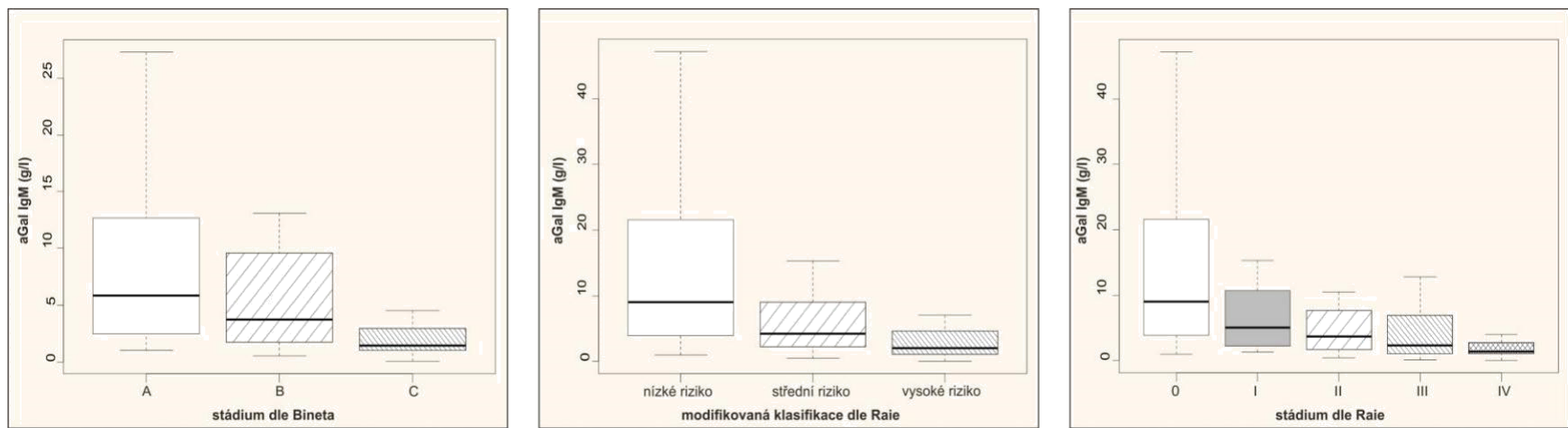
Graf č. 3 (A-C): Porovnání stádií CLL dle Bineta, Raie a modifikované klasifikace dle Raie pro hodnoty IgM ($p=0,001$, $p < 0,001$, resp. $p < 0,001$).



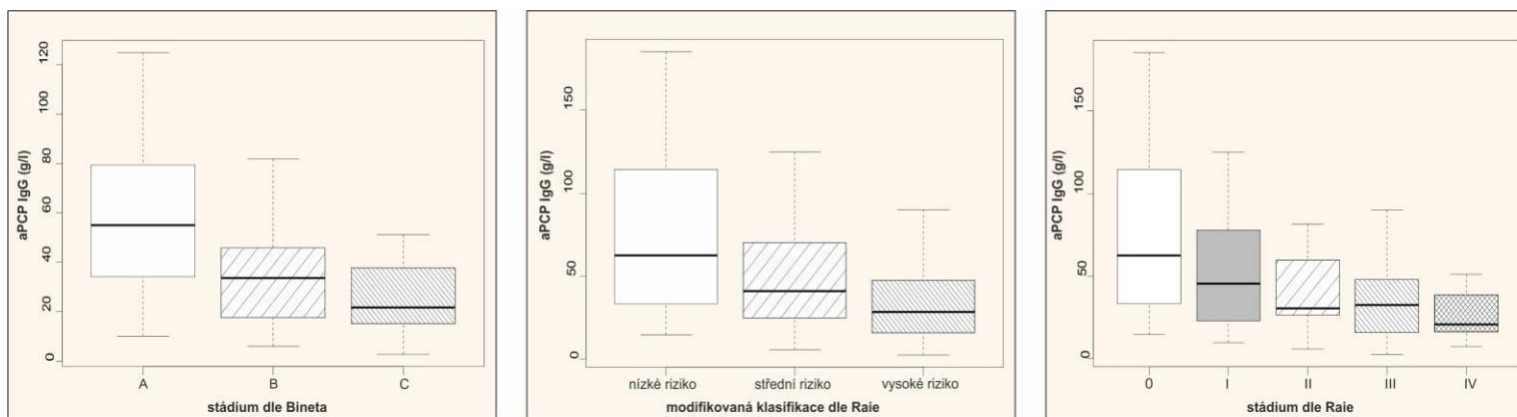
Graf č. 4 (A-C): Porovnání stádií CLL dle Bineta, Raie a modifikované klasifikace dle Raie pro hodnoty alfa-Gal IgG (statisticky nesig. $p > 0,05$)



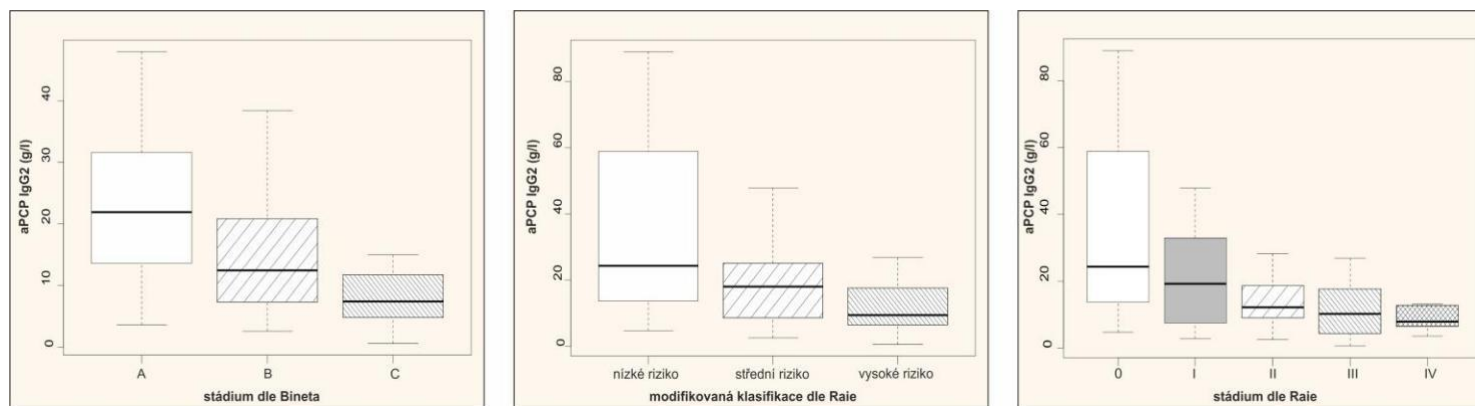
Graf č. 5 (A-C): Porovnání stádií CLL dle Bineta, Raie a modifikované klasifikace dle Raie pro hodnoty alfa-Gal IgA ($p = 0,001$, $p < 0,001$, resp. $p < 0,001$)



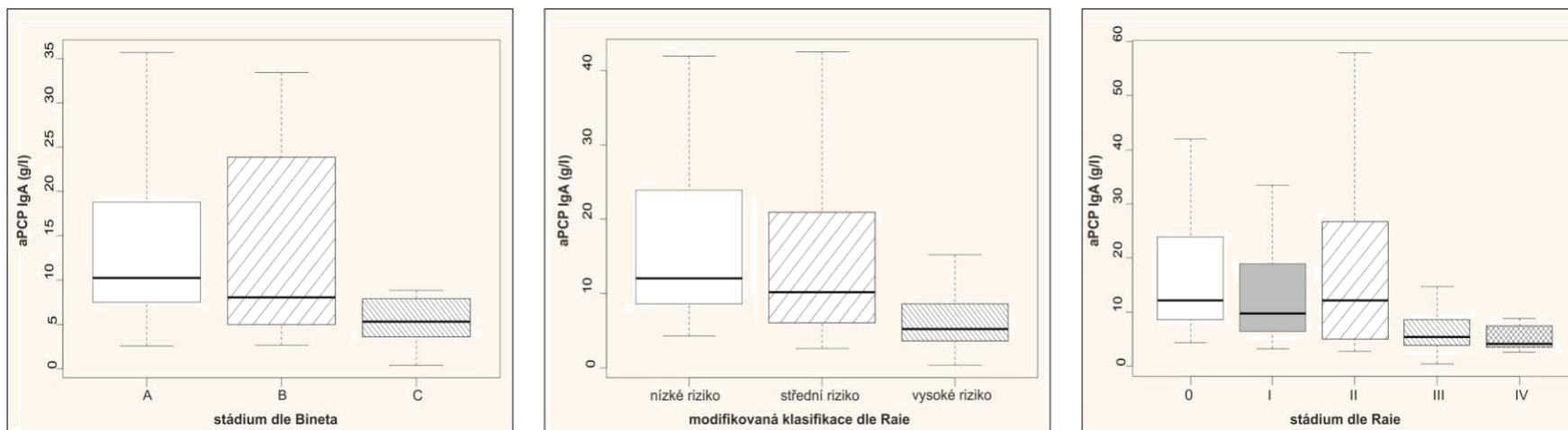
Graf č. 6 (A-C): Porovnání stádií CLL dle Bineta, Raie a modifikované klasifikace dle Raie pro hodnoty alfa-Gal IgM (všechny $p < 0,001$)



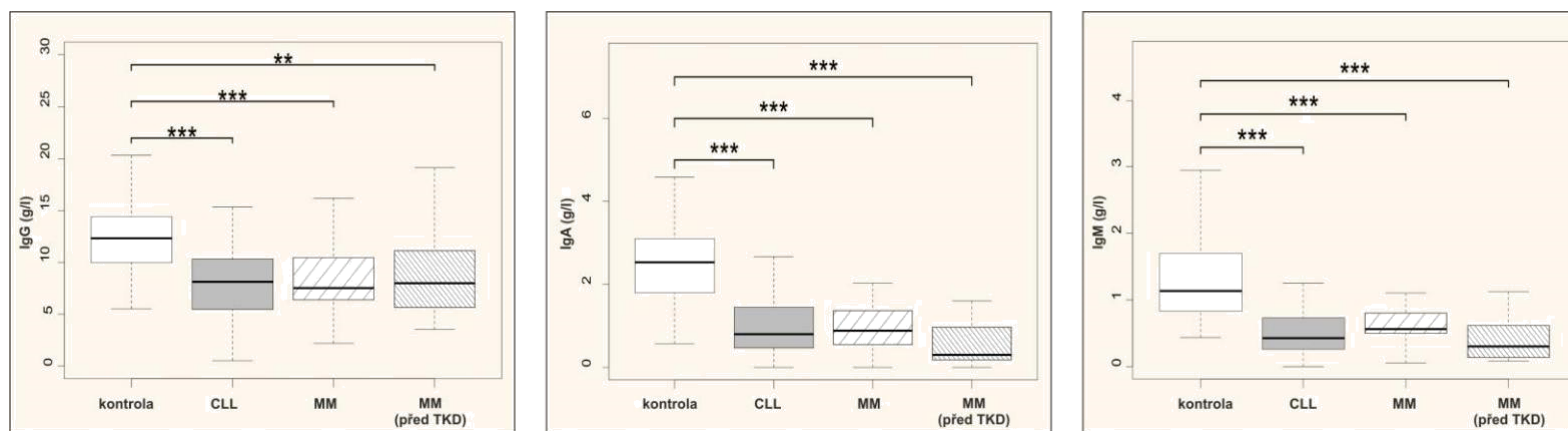
Graf č. 7 (A-C): Porovnání stádií CLL dle Bineta, Raie a modifikované klasifikace dle Raie pro hodnoty anti-PCP IgG ($p < 0,001$, $p = 0,001$, resp. $p < 0,001$).



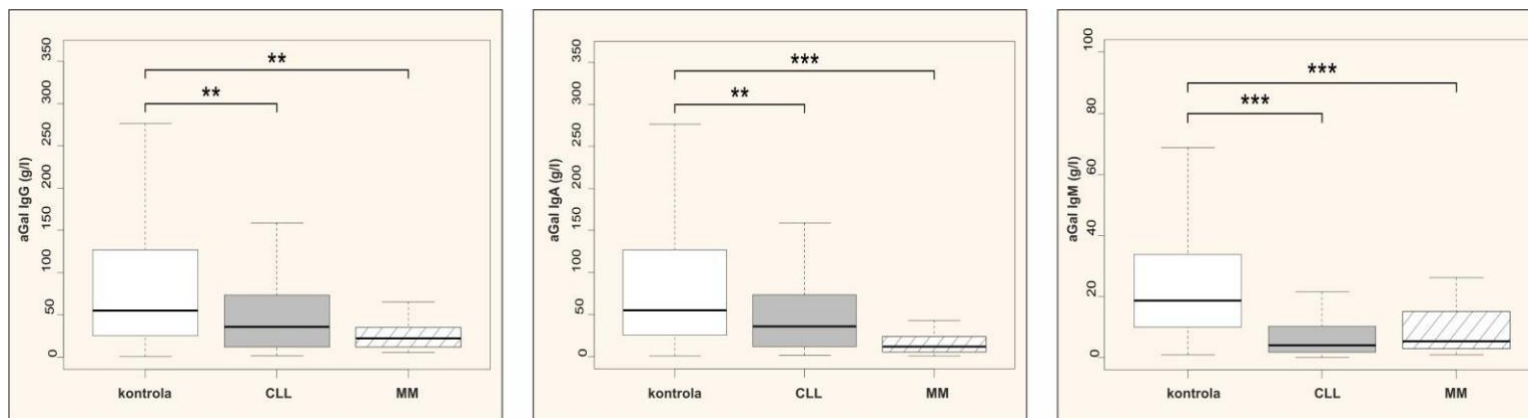
Graf č. 8 (A-C): Porovnání stádií CLL dle Bineta, Raie a modifikované klasifikace dle Raie pro hodnoty anti PCP IgG2 (všechny $p < 0,001$)



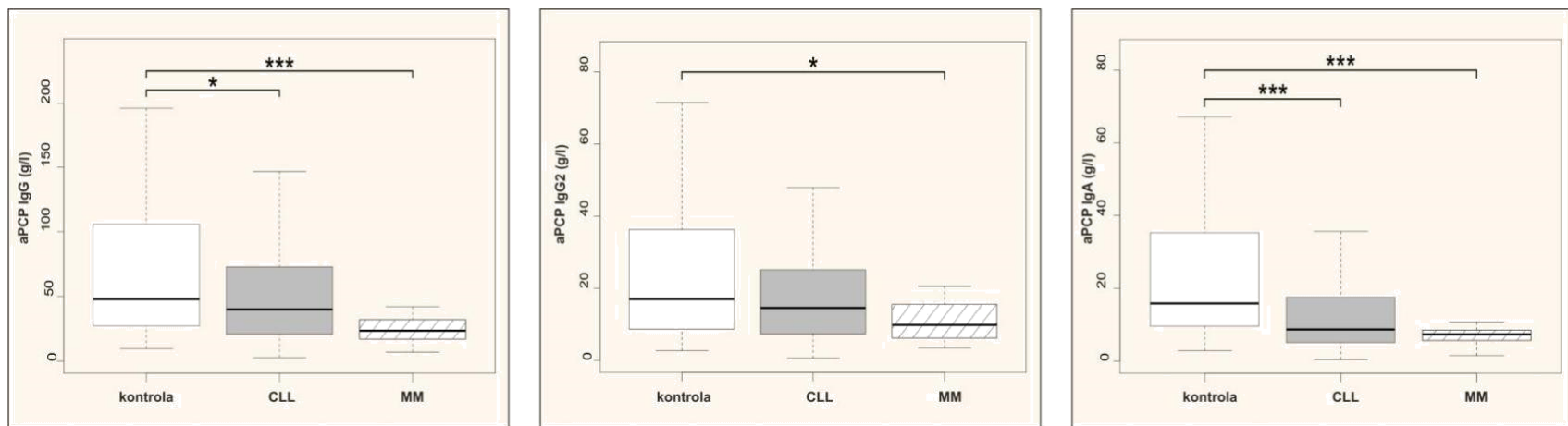
Graf č. 9 (A-C): Porovnání stádií CLL dle Bineta, Raie a modifikované klasifikace dle Raie pro hodnoty anti-PCP IgA (všechny $p < 0,001$).



Graf č. 10 (A-C): Porovnání kontrolní skupiny a skupiny nemocných s CLL a MM v době diagnózy onemocnění a před transplantací kostní dřeně pro hodnoty IgG, IgA a IgM (***) p < 0.001, ** p < 0,01).



Graf č. 11 (A-C): Porovnání kontrolní skupiny a skupiny nemocných s CLL a MM v době diagnózy onemocnění a před transplantací kostní dřeně pro hodnoty anti-Gal protilátek (***) p < 0.001, ** p < 0,01).



Graf č. 12 (A-C): Porovnání kontrolní skupiny a skupiny nemocných s CLL a MM v době diagnózy onemocnění a před transplantací kostní dřeně pro hodnoty anti-PCP protilátek (***) $p < 0.001$, * $p < 0,05$).

Diskuse

Sekundární imunodeficiencie u nemocných s CLL a MM je komplexní povahy a zahrnuje změny v humorální i buňkami zprostředkované imunitě, stejně jako změny systému komplementového i fagocytárního [62,209].

U nemocných s CLL byl opakovaně popsán defekt ve funkci T lymfocytů, NK buněk i dendritických buněk, s převahou studií *in vitro*. Nádorové CLL buňky jsou schopny inhibovat spolupráci mezi T a B lymfocyty, je narušena funkce NK buněk s redukcí exprese aktivačních receptorů a down-regulací transkripčních cytotoxických drah [156]. Defekt NK buněk může mít prognostický význam. Vyšší počet NK buněk je patrný u pacientů v časných stádiích onemocnění, s mutovaným IgHV genem, a vyšší cytolytickou kapacitou, jak tomu je zejména u nemocných s monoklonální B-lymfocytózou [172]. Dendritické buňky vykazují znaky morfologické a imunofenotypové nezralosti (chybění exprese CD83 a CD80) a neschopnost indukce dostatečné proliferační odpovědi s redukcí produkce IL-12 [151].

Důkazem defektu humorální imunity je vysoká incidence snížení sérových koncentrací jakékoli hlavní třídy imunoglobulinů (46-64 % případů) [61,175]. Závažnost se prohlubuje se stádiem onemocnění [20,113]. Nízké koncentrace IgG v době diagnózy byly pozorovány u čtvrtiny až pětiny pacientů, s nárůstem po 6 letech na polovinu [20,154]. V námi sledovaném souboru nově diagnostikovaných nemocných s CLL byly zjištěny hodnoty sérových imunoglobulinů, minimálně v jedné třídě pod dolní hranici referenčního rozmezí u 65,7 % pacientů (se vzestupem z 22,7 % u nemocných s nízkým rizikem na 86,9 % nemocných s rizikem vysokým dle Raie). Snížení celkového IgG po dolní hranici referenčního rozmezí postihlo 37,5 % pacientů a významně nízké hodnoty IgG (méně než 4 g/l), které by mohly být v případě výskytu infekcí impulzem k zahájení substituční léčby imunoglobuliny [236] byly v celé kohortě detekovány u 9,4 % nemocných, převážně se jednalo o nemocné ve vysokém riziku s podílem 21 % v dané skupině.

Kontroverzní stále zůstává vztah nízkých hodnot imunoglobulinů v séru v době diagnózy a kratšího přežití nemocných. Negativním prognostickým markrem by mohla být nízká hodnota sérového IgA. Rozman et al. potvrdili tento předpoklad multivariační analýzou, zatímco Shvidel et al. pouze univariační analýzou [175,190]. Andersen et al popsali negativní prognostický dopad hypogamaglobulinémie na dobu přežití obecně [10]. Největší,

doposud publikovaná studie z Mayo Clinic, která však hodnotila pouze IgG, tento vztah nepotvrdila [154].

Stejně rozporuplné jsou závěry studií ve vztahu sérových koncentrací hlavních tříd imunoglobulinů a riziku vzniku infekcí^[10,61,221]. Významnou prognostickou úlohu by mohl hrát deficit podtříd IgG. Nejčastěji byl popsán deficit IgG3, který byl spojen s pokročilým stádiem onemocnění a kratší dobou do nutnosti zahájení léčby^[45,61]. Vztah k riziku infekcí, není také zcela jasný. Svensson a kol. nepotvrdili riziko výskytu závažných infekcí či sepsi [212], zatímco v souboru Freemana et al. byly popsány opakující se či významné infekce u 16 % CLL pacientů, ze kterých pouze 50 % trpělo hypogamaglobulinémií, avšak 100 % deficitem některé z podtřídy IgG [61].

V našem souboru 96 nově diagnostikovaných nemocných s CLL nebyla potvrzena asociace mezi rizikem bakteriálních infekcí a sérových koncentracích celkového IgG, IgA, IgM, stejně jako podtřídy IgG2, zatímco všechny sledované parametry nabývaly signifikantně nižších hodnot než kontrolní skupina zdravých osob, a současně negativně korelovaly se stádiem onemocnění.

Respirační infekce i sepse způsobené *S. pneumoniae* činí významný podíl všech bakteriálních infekcí u nemocných s CLL obecně. Proočkovanost české populace vakcínou chránící před *S. pneumoniae*, zejména ve věku nad 50 let je poměrně nízká [112]. Ve sledovaném souboru byla zaznamenána u 16 % zdravých kontrol a u 22 % nemocných obecně (s nárůstem z 9 % u nemocných s nízkým rizikem dle Raie na 32 % u nemocných ve středním či vysokém riziku). U nemocných s primárními imunodeficiencemi nízké hodnoty anti-PCP IgA přetrvávající po očkování 23valentní polysacharidovou vakcínou jsou spojeny s častějším výskytem pneumonie a bronchiektáziemi. V souladu s výsledky naší předcházející studie byly nalezeny nižší hodnoty anti-PCP IgA u nemocných s CLL než u zdravých kontrol s prohloubením se zvyšujícím se stádiem onemocnění [113]. Na rozdíl od dalších autorů jsme však vztah k riziku infekce nepotvrdili [75].

Přirozené anti-Gal protilátky představují další možný parametr sledování schopnosti protilátkové odpovědi. Výhodou dostupných analytických souprav je možnost přesné kvantifikace v různých třídách, s využitím i u nemocných s probíhající substituční léčbou imunoglobuliny. Na rozdíl od specifických anti-PCP protilátek, které jsou produkovány v relativně nízkém množství, jsou protilátky antiGal v lidském séru hojně zastoupeny [65]. Údaje o produkci u nemocných s imunodeficity jsou nečetné. Nízké hodnoty příslušných tříd byly zaznamenány u nemocných s CVID, agamaglobulinémií, Wiscott-Aldrichovým

syndromem a těžkou kombinovanou imunodeficiencí ^[113,155]. U nemocných s CLL se zdají nejdéle zachovány anti-Gal třídy IgG, na rozdíl od tříd IgA a IgM, kde jejich koncentrace v séru koreluje se závažností onemocnění.

Riziko infekcí by dále mohl ovlivňovat IgVH status ^[59,198,221]. U nemocných s nemutovaným IgVH genem byl popsán kratší čas do první infekce a vyšší riziko s infekcí spojené mortality než u nemocných s mutovaným IgVH genem (31 vs. 62 měsíců, $p < 0.001$), a to i přes fakt, že koncentrace imunoglobulinů byly v obou sledovaných skupinách srovnatelné ^[59,198].

Druh a počet změn v karyotypu nemocných s CLL významným způsobem ovlivňuje jejich prognózu a případně i odpověď na léčbu. Jako vysoce riziková se jeví nemocní s mnohočetnými změnami karyotypu a delecí části chromozómu 17 a 11, nepřítomností genu TP53, méně pak s trisomií 12. Naopak příznivější vyhlídky mají pacienti s delecí části chromozómu 13 a mutovaným genem pro IgVH ^[78]. Ve sledovaném souboru bylo diagnostikováno u 31 osob z 91 (34 %) delece 13q, u 18/91 (20 %) normální karyotyp, 17/91 (19 %) trisomie 12 a 12/91 (13 %) delece 11q. Další typy mutací již nebyly dostatečně četné, aby mohla být spolehlivě provedena statistická analýza. Mezi těmito skupinami nebyl shledán statisticky významný rozdíl v žádném sledovaném parametru a ani výskyt infekcí nebyl ovlivněn. Lze shrnout, že v našem souboru představoval karyotyp zcela nezávislý faktor. Přítomnost genu TP53 nebyla hodnocena pro nízký počet výskytu.

Imunodeficiencie u nemocných s mnohočetným myelomem je také komplexní povahy. Nejčastěji je spojována s hypogamaglobulinémií, porušenou funkcí lymfocytů, NK i dendritických buněk, či neutropenií způsobenou infiltrací kostní dřeně maligním klonem. Riziko infekcí dále zvyšuje použitá léčba, věk pacientů, interní komorbidity i orgánové komplikace spojené s vlastním onemocněním (renální insuficience, sekundární amyloidóza)

^[62].

Dánská studie zahrnující 2558 nově diagnostikovaných nemocných s MM popsala u 90 % zúčastněných snížení minimálně jedné hlavní, nepostižené třídy imunoglobulinů (u více než 70 % byly postiženy minimálně dvě třídy). U 81 % se jednalo o snížení alespoň o 25 %, u 67 % o minimální snížení hladiny na polovinu a u 32 % o snížení minimálně o 75 % ^[202]. V našem souboru 23 nemocných byl podíl hypogamaglobulinémie nižší. V době diagnózy činil 74 %, minimálně v jedné třídě. V polovině z nich byly postiženy minimálně 2 třídy. V předtransplantačním období, po absolvování indukční terapie se jejich podíl snížil na 61 %, se snížením minimálně ve dvou třídách na pouze 22 %. Závažné snížení IgG pod hranici 4 g/l

bylo zaznamenáno u 4,3 % v úvodu onemocnění v. 9,1 % předtrasplantačně. Nicméně v provedené analýze nebyl rozdíl hladin imunoglobulinů v úvodu a peritransplantačně sledán statisticky významným (malý počet účastníků).

V porovnání se skupinou zdravých osob všechny sledované parametry (hlavní třídy imunoglobulinů, anti-Gal i anti-PCP protilátky) dosahovaly statisticky významně nižších hodnot. Podíl nemocných s neprotektivní hodnotou antipneumokokových protilátek IgG zahrnoval téměř 35 % účastníků.

Vrchol výskytu infekcí u nemocných s MM bývá mezi 4-6 měsícem [211]. Navíc u nemocných s anamnézou závažné bakteriální infekce do 3 měsíců od stanovení diagnózy, bylo Huangem et al zaznamenáno i zhoršení přežití (mortalita 50 % vs. 21 %; $p < 0.001$). Jako nezávislé faktory výskytu infekcí byly identifikovány pokročilé stádium onemocnění (III vs. I a II) a špatný performance status podle Eastern Cooperative Oncology group (≥ 2). Naopak jako nerizikové faktory byly označeny protilátková imunodeficience a nízký počet lymfocytů [89]. V naší kohortě nemocných nebyl výskyt infekcí vázán ani na závažnost protilátkového imunodeficitu (snížení sérových koncentrací imunoglobulinů, anti-Gal, anti-PCP protilátek), ani na stádium onemocnění v době diagnózy či ISS skóre. Dánská studie hodnotila pouze overall survival (OS) a dobu do progresu onemocnění (Progression Free Survival; PFS). V multivariační analýze u nemocných se snížením koncentrací imunoglobulinů minimálně v jedné třídě byl prokázán kratší PFS při nezměněném OS. Zkrácené OS i PFS byly častěji u nemocných vyššího věku, vysokým ISS skórem, vysokou hodnotou laktát dehydrogenázy a IgA typem MM [202].

Shrnutí

Protilátková imunodeficience, zahrnující snížení nejen hlavních tříd imunoglobulinů, ale i přirozených anti-Gal a anti-PCP protilátek, je častým laboratorním nálezem u nemocných s CLL i MM. Naše práce neprokázala vztah mezi výskytem infekčních komplikací a sérových koncentrací sledovaných protilátek. Nebyla ani zjištěna závislost mezi infekcemi a karyotypem či přítomnosti mutovaného/nemutovaného IgVH u nemocných s CLL, ani stádium MM či ISS skóre. Jsou potřeba další studie, které by identifikovaly vhodné markery rizika rozvoje závažných bakteriálních infekcí, aby byla mohla být včas zahájena preventivní opatření a tím snížena morbidita i mortalita nemocných s CLL a MM.

4.3. Transplantace solidních orgánů a hypogamaglobulinémie

Hypogamaglobulinémie představuje jednu z možných komplikací provázejících transplantace solidních orgánů. Může vzniknout v průběhu indukční či udržovací terapie nebo léčby rejekce. Metaanalýza z roku 2014, a zahrnující nemocné po transplantaci srdce a plic, našla hypogamaglobulinémii (IgG méně než 7 g/l) u 45 % transplantovaných. V 15 % pacientů v průběhu prvního roku po transplantaci se jednalo o závažný stupeň (IgG méně než 4 g/l). Nemocní s těžkou hypogamaglobulinémií trpěli 2,46krát častěji infekcemi obecně vůči nemocným s lehkou formou a 3,73krát více než pacienti s normálními sérovými koncentracemi imunoglobulinů. Pro respirační infekce samostatně pak 4.83krát (těžká v. lehká hypogamaglobulinémie). Sérové koncentrace IgG pod 4 g/l byly spojeny s významným rizikem infekce CMV a infekcemi houbami r. *Aspergillus*. Nemocní s těžkou hypogamaglobulinémií jednoznačně vykazovali vysoké riziko úmrtí v prvním roce po transplantaci, téměř 22krát vyšší v porovnání s nemocnými s lehkou formou. Studie nezaznamenala vliv sérové koncentrace imunoglobulinů na pravděpodobnost rejekce [58].

4.4. Transplantace kostní dřeně a hypogamaglobulinémie

Rizikovou skupinou pro vznik hypogamaglobulinémie po alogenní transplantaci kostní dřeně tvoří převážně nemocní s akutní GvHD (*Graft versus Host Disease*). Dalšími rizikovými faktory jsou snížené předtransplantační hodnoty IgG, mladší věk, malignita lymfoidního původu (léčená zejména rituximabem), pacienti s vysokým transplantačním rizikem, progresivním onemocněním v době transplantace, s HLA neshodou a použitím mykofenolátu mofetilu, méně, pokud je použit cyklosporin či metotrexát v profylaxi GvHD

[12,60,143].

Japonská studie zaznamenala hypogamaglobulinémii u 63 transplantovaných z celkového počtu 278 (22,6 %). U 88 % pacientů to bylo v průběhu prvního roku po alogenní transplantaci. Sérové koncentrace IgG se začaly snižovat druhý týden po transplantaci. Minima bylo dosaženo za 6 měsíců a k návratu k původním hodnotám docházelo obvykle na konci prvního roku po transplantaci [12].

V minulosti byla léčba imunoglobuliny paušálně indikována u všech nemocných po transplantaci kostní dřeně nejen k prevenci infekcí, ale i modulaci průběhu GvHD. V současné době není tato rutinní profylaxe již doporučována. Kandidáty jsou nemocní s chronickou GvHD a opakujícími se závažnými bakteriálními infekcemi [159].

4.5. Autoimunitní onemocnění a hypogamaglobulinémie

Autoimunitní onemocnění zahrnují pestrou škálu chorob diagnostikovaných a léčených různými medicínskými obory, revmatologie, gastroenterologie, neurologie, nefrologie, kožní lékařství. V posledních letech došlo k významnému zlepšení kvality života nemocných, se snížením morbidit i mortality, zejména díky rozvíjející se biologické léčbě. Ve vztahu ke vzniku hypogamaglobulinémie se kromě klasických léčiv, jako jsou např. glukokortikoidy, azathioprin, mykofenolát, metotrexát, sulfasalazin, uplatňují léky ovlivňující tvorbu protilátek (anti-CD20, anti-CD19, anti-BAFF). V imunologických ambulancích se poměrně často setkáváme s nemocnými dlouhodobě léčenými různými dávkami kortikoidů. Dominujícím nálezem bývá izolované snížení sérových koncentrací IgG. Při vyšetření buněčné imunity bývá pozorováno snížení počtu cirkulujících naivních a transitorních B lymfocytů při zachování paměťových B lymfocytů, a s tím bývá relativně nižší riziko bakteriálních infekcí [230]. Substituční léčba imunoglobuliny v těchto případech je spíše výjimečná.

Při léčbě riruximabem byla zaznamenána mírně zvýšená frekvence závažných infekcí při léčebných dávkách 2x 1000mg [64]. Naopak nebyl pozorován vzestup oportunních infekcí, tuberkulózy a většiny virových onemocnění. Výjimku tvoří reaktivace viru hepatitidy B, především nemocných HBsAg pozitivních [63]. Údaje o výskytu bakteriálních infekcí ve vztahu k míře a doby deplece B lymfocytů nejsou dostatečně objasněny. Zdá se, že riziko narůstá s dobou trvající deplece a při poklesu IgG pod 3,5 g/l [57,161,173,183]. Rizikové mohou být nemocní s preexistující hypogamaglobulinémií navozených předcházející léčbou (např. cyklofosfamidem) [217]. Vyšší riziko bylo popsáno i u nemocných s ANCA asociovanou vaskulitidou v porovnání s revmatoidní artritidou či onemocněními pojivové tkáně [212]. Nutnost zahájení substituční léčby imunoglobuliny pro infekce je popisována u 4-26% nemocných [27,173,217]. Z doporučení české revmatologické společnosti vyplývá vhodnost stanovení sérových koncentrací IgG, IgA a IgM před zahájením léčby s případnou kontrolou při vzniku infekcí a dále při opakovaných podáních. Nemocní mají být dále vyšetřeni na přítomnost virů hepatitid [235].

4.6. Léčba sekundárních protilátkových imunodeficiencí

Léčba sekundárních protilátkových imunodeficiencí zahrnuje na prvním místě maximální snahu o odstranění vyvolávající příčiny. Tam, kde není toto možné, přichází do úvahy preventivní vakcinace, antibiotická profylaxe a/nebo substituční léčba imunoglobuliny.

4.6.1. Vakcinace

Vakcinace u sekundárních protilátkových imunodeficitů představuje nejen základní diagnostický postup, který usnadňuje rozhodnutí o zahájení substituční léčby imunoglobuliny u symptomatických nemocných [82,196,197], ale je i důležitou součástí preventivních opatření před výskytem závažných, především pneumokokových infekcí a infekcí způsobených virem chřipky, i přes prokázanou sníženou efektivitu [75].

U nemocných s CLL, bez rozdílů stadia a předlécenosti, byla opakovaně popsána snížená vakcinační odpověď, zejména odpověď na pneumokokovou polysacharidovou vakcínu se pohybovala v rozmezí 0-22 % [82,196,197] se zvýšením odpovědi na 35-47 % při použití konjugované vakcíny [296]. Odpovědi na konjugovanou vakcínu *Haemophilus influenzae typ b* byla zaznamenána 27-43 % [82,196], a 24-65% na tetanický toxoid [82,197].

Obdobná situace byla popsána u nemocných s MM. Snížená odpověď byla zaznamenána zejména u nemocných léčených kombinovanou léčbou v porovnání s alkylačními látkami [191]. Ze 60 nemocných vakcinovaných 23-valentní pneumokokovou vakcínou před autologní transplantací kmenových buněk odpověděla jedna třetina, s jasným vztahem mezi stádiem choroby a odpovědí [85].

Klinická doporučení u dospělých nemocných s hematologickými malignitami doporučují každoroční očkování proti chřipce (s výjimkou nemocných, kterým je podávána B-depleční terapie či podstupují intenzivní chemoterapii). Očkování proti pneumokokům má být podáno u nově diagnostikovaných nemocných, v prvním sledu konjugovaná 13valentní vakcína následovaná minimálně za 8 týdnů polysacharidovou 23valentní vakcínou. Živé vakcíny jsou kontraindikovány. Očkovat dále nemocného lze 3 měsíce od ukončení chemoterapie, v případě B-depleční léčby pak minimálně za 6 měsíců [176].

4.6.2. Antibiotická profylaxe

Antibiotická profylaxe je diskutované téma. Klinická praxe je velmi závislá na lokálních zvyklostech. Doposud chybí dostatečné množství randomizovaných studií. Plošně je doporučována při použití léčiv zvyšujících riziko pneumocystové pneumonie

(vysokodávkované kortikoidy, alemtuzumab). Nejčastěji je užíván cotrimoxazol-trimetoprimem 960 mg 3x týdně. Při alergii na sulfonamidy dapson, pentamidin, atovaquone. U nemocných s anamnézou infekcí virem herpes zoster či rizikových léčiv, např. fludarabinu, inhibitorů proteasomu, alemtuzumabu, je na místě prevence acyklovirem (200-800 mg/den) či valacyklovirem (500 mg/d). V případě recidivujících bakteriálních infekcí se současnou hypogamaglobulinémií u nemocných s CLL a MM, je preferována profylaxe levofloxacinem 500 mg denně [84,129,238]. U symptomatických pacientů se současným výskytem chronické obstrukční plicní nemocí a/nebo bronchiektáziemi je ke zvážení prevence makrolidy [33,98], mírným omezením mohou být interakce s cytochromem P450 a některými léčivy používaných v hematologii.

4.6.3. Substituční léčba imunoglobuliny

Dlouhodobá data prokazují efektivitu substituční léčby imunoglobuliny u nemocných se sekundárními protilátkovými imunodeficiencemi [37,92,152,237]. I když se zdá, že sérové koncentrace imunoglobulinů samostatně nemusejí mít dostatečnou prediktivní hodnotu směrem k riziku rozvoje infekce [16,59,83,200].

Zahájení a vedení substituční léčby u nemocných se sekundárními imunodeficiencemi neměla doposud pevná pravidla. Souhrnné údaje o přípravku (SPC) jednotlivých léčivých přípravků se vzájemně lišily na základě různě designovaných studií. Podle těchto pravidel umožňovala pouze imunoglobulinovou léčbu nemocným po alogenní transplantaci kostní dřeně, pacientům s kongenitální infekcí HIV-1 s progresí do AIDS, trpících rekurentními bakteriálními infekcemi a zejména nemocným léčeným pro CLL či MM, kteří trpěli závažnými infekcemi, a současně u nich selhala nebo byla kontraindikovaná profylaktická léčba antibiotiky. Některé přípravky navíc v určitých indikacích, zejména u mnohočetného myelomu, vyžadovaly i prokázanou chabou vakcinační odpověď. Tato doporučení nepokrývala celé spektrum sekundárních protilátkových imunodeficiencí, zejména navozených léčbou rituximabem, v jiných případech. Indikace substituční léčby se tak ve většině případů lišila stát od státu a často záleželo jen na zvyklosti daného pracoviště. Příkladem může sloužit francouzská studie opublikovaná v roce 2018, která zahrnovala 231 substituovaných nemocných (léčených pro MM, CLL, NHL, HL, nebo akutní leukemii). U 195 z nich se pohybovaly sérové koncentrace IgG pod 5 g/l, většina nemocných měla anamnézu rekurujících infekcí. Antibiotika byla převážně podávána až při vzniku infekce. Pouze u 5 % nemocných byla zavedena antibiotická profylaxe (jiná než antivirotiky a trimetoprim/sulfometoxazolem). Polovina byla léčena IVIG a polovina SCIG. Rozhodnutí o

zahájení substituční léčby se obvykle odvíjelo od sérové koncentrace IgG a současné anamnézy infekcí, v menšině byla léčba zahájena preventivně při absenci infekcí [21]. Ve Velké Británii proběhl dotazníkový průzkum cílený na imunology a jejich klinickou praxi ve vztahu k indikaci substituční léčby u nemocných, kteří nenaplní kritéria pro primární imunodeficienci. Oslovení odborníci své rozhodnutí odvíjeli od počtu hospitalizací pro infekce, množství IgG, přítomnosti bronchiectázií, radiograficky prokázanou pneumonií, pozitivních kultivačních nálezů, množství antibiotických kúr a výsledky imunizace. 86 % nemocných bylo před nasazením léčby imunoglobuliny léčeno antibiotickou profylaxií a klinický stav byl přehodnocován mezi 6. až 12. měsícem [50].

Ke sjednocení pravidel došlo v Evropě k 1.1. 2019, kdy agentura EMA (European Medicines Agency) vydala doporučení k substituční léčbě imunoglobuliny u nemocných se sekundárními imunodeficiencemi, bez rozdílu etiologie. Léčba je tedy určena pro všechny nemocné, bez rozdílu věku, kteří prodělali závažné nebo opakující se infekce při nedostatečné efektivitě antimikrobní léčby a mají prokázanou poruchu tvorby specifických protilátek, tj. méně než dvojnásobný vzestup koncentrace IgG protilátek po vakcinaci pneumokokovým polysacharidovým a polypeptidovým antigenem nebo jsou jejich sérové koncentrace IgG nižší než 4 g/l [236].

Substituční léčba imunoglobuliny může probíhat cestou intravenózní či subkutánní. Oba způsoby jsou co do efektivity zcela rovnocenné, vztaženo k redukci počtu a závažnosti bakteriálních infekcí. Pacienti léčení SCIG dosahují vyšších předinfúzních sérových koncentrací IgG za současného lepšího profilu nežádoucích účinků a zlepšení kvality života měřené indexem HRQoL (Health Related Quality of Life) díky redukováným nežádoucím účinkům a nižšímu počtu návštěv ve zdravotnických zařízeních. Farmakoeconomické studie v tomto ohledu dosud chybějí [228]. Používané dávky se nejčastěji pohybují mezi 200 až 400 mg/kg/měsíc s individuální úpravou dle klinického stavu [21,39,170]. Udávaný pokles počtu infekcí při zavedení léčby je ze 77-82 % na 21-25 % [170,180].

I nadále však zůstává otevřená otázka úhrady zdravotními pojišťovnami, pro které není doporučení agentury EMA závazné. Stejně tak není v České republice ujednoceno, kdo má mít tyto nemocné v péči, zda imunolog či specialista oboru (hematolog, revmatolog, neurolog, nefrolog apod.), který se o pacienta kmenově stará či staral. Podle mého názoru může imunolog přispět ke zhodnocení indikace zahájení léčby, eventuálně pomoci s edukací nemocného s technikou podávání. Léčbu by však měla poskytovat odbornost, která má nemocného v péči. Důležité je pravidelné přehodnocování klinického stavu i laboratorních nálezů, s pokusy o eventuelní přerušení substituce. Klíčové místo zaujímají diagnostické využití vakcinace a dlouhodobá antibiotická profylaxe.

5. Závěr

Primární protilátkové imunodeficiencie představují velmi heterogenní skupinu onemocnění. V posledních dekádách v důsledku lepšího pochopení podstaty onemocnění, zlepšení a upřesnění diagnostických metod, stejně jako léčebných možností, došlo k významnému pozitivnímu ovlivnění prognózy nemocných, snížení morbidity i mortality a zlepšení celkové kvality jejich života.

Základem léčby je substituční léčba imunoglobuliny. Důležitá je optimalizace dávky a intervalu podání, která vychází z individuálních potřeb, aby byla zajištěna optimální redukce počtu i závažnosti bakteriálních infekcí. Tam, kde to není z různých důvodů možné, hraje nezastupitelnou úlohu antibiotická profylaxe. Forma substituční léčby je volena na základě individuálních charakteristik nemocného, tj. zdravotní aspekty, socioekonomické zázemí, osobní preference, manuální zručnost a motivace.

Léčba neinfekčních komplikací odrážející vývoj biologické léčby, také významně přispívá ke zlepšení vyhlídek našich nemocných. Výzvou však i nadále zůstává nezbytnost dlouhodobého podávání, vyplývajícího z podstaty onemocnění a s tím i kumulaci rizik, zejména prohloubení stávajícího deficitu a rozšíření deficiencie i na buněčnou složku imunitního systému. Narůstá tak riziko oportunních infekcí s možnými fatálními důsledky.

Počet nemocných se sekundárními protilátkovými imunodeficiencemi strmě narůstá, zejména v onkologii. Důvodem je stále častější aplikace terapie cílená na B lymfocyty. Řada pacientů trpí rekurujícími či závažnými bakteriálními infekcemi vyžadujícími opakovanou antibiotickou léčbu s nárůstem počtu nemocných s indikovanou profylaktickou léčbou antibiotiky či následnou substituční léčbou imunoglobuliny. Varovné jsou zvyšující se ekonomické nároky na plátce zdravotní péče a reálné riziko nedostatku lidských imunoglobulinů jako takových. V tomto ohledu je nezbytná přesná selekce pacientů v riziku a tím optimalizace jejich léčby. Doposud nebyly zcela uspokojivě identifikovány markery, které by umožnily aplikovat preemtivní přístup substituční léčby imunoglobuliny a tím dále redukovat riziko infekčních komplikací.

Ve své práci jsem se snažila poukázat na komplexnost problematiky protilátkových imunodeficiencí, přesahující obor klinické imunologie jako takové. Za klíčové považuji soustředění nemocných s primárními imunodeficiencemi do specializovaných center, kde jsou k dispozici i další zkušení odborníci. Nelze opomenout nezbytnost trpělivé a opakované

edukace našich nemocných a jejich rodinných příslušníků s otevřením problematiky pro širokou veřejnost. Úloha klinického imunologa, v pozici konziliáře, je podle mého názoru nezastupitelná v koordinaci péče o nemocné se sekundárními imunodeficiencemi, zejména v případě indikace substituční léčby imunoglobuliny.

6. Literatura

- [1] ABOLHASSANI, H. et. al. Cohort of Iranian Patients with Congenital Agammaglobulinemia: Mutation Analysis and Novel Gene Defects. *Expert Review of Clinical Immunology*, 2016, vol. 12, no. 4, p. 479–486.
- [2] ABOLHASSANI, H. et. al. Home-based subcutaneous immunoglobulin versus hospital-based intravenous immunoglobulin in treatment of primary antibody deficiencies: systematic review and meta analysis. *Journal of Clinical Immunology*, 2012, vol. 32, no. 6, p. 1180–1192.
- [3] ABRAHAMIAN, F. et. al. Immunological and clinical profile of adult patients with selective immunoglobulin subclass deficiency: response to intravenous immunoglobulin therapy. *Clinical and Experimental Immunology*, 2010. vol. 159, no. 3, p. 344–350.
- [4] AGHAMOHAMMADI, A. et. al. Chromosomal radiosensitivity in patients with common variable immunodeficiency. *Immunobiology*, 2008, vol. 213, no. 5, p. 447–454.
- [5] AGHAMOHAMMADI, A. et. al. Immunologic evaluation of patients with recurrent ear, nose, and throat infections. *American Journal of Otolaryngology*, 2008, vol. 29, no. 6, p. 385–392.,
- [6] AGHAMOHAMMADI, A. et. al. Mortality and morbidity in common variable immunodeficiency. *Journal of Tropical Pediatrics*, 2007, vol. 53, no. 1, p. 32–38.
- [7] AGHAMOHAMMADI, A. et. al. Neutropenia associated with X-linked Agammaglobulinemia in an Iranian referral center. *Iranian Journal of Allergy, Asthma, and Immunology*. 2009, vol. 8, no. 1, p. 43–47.
- [8] AGHAMOHAMMADI, A. et. al. Progression of selective IgA deficiency to common variable immunodeficiency. *International Archives of Allergy and Immunology*, 2008, vol. 147, no. 2, p. 87–92.
- [9] ALKHAIRY, O.K. et. al. Spectrum of Phenotypes Associated with Mutations in LRBA. *Journal of Clinical Immunology*, 2016, vol. 36, no. 1, p. 33–45.

- [10] ANDERSEN, M.A. et. al. Hypogammaglobulinemia in newly diagnosed chronic lymphocytic leukemia is a predictor of early death. *Leukemia & Lymphoma*, 2016, vol. 57, no. 7, p. 1592–1599.
- [11] ANGULO, I. et. al. Phosphoinositide 3-kinase δ gene mutation predisposes to respiratory infection and airway damage. *Science (New York, N.Y.)*, 2013, vol. 342, no. 6160, p. 866–871.
- [12] ARAI, Y. et. al. Risk factors for hypogammaglobulinemia after allo-SCT. *Bone Marrow Transplantation*, 2014, vol. 49, no. 6, p. 859–861.
- [13] ARDENIZ, O. et al. Clinical and immunological analysis of 23 adult patients with common variable immunodeficiency. *Journal of Investigational Allergology & Clinical Immunology*, 2010, vol. 20, no. 3, p. 222–236.
- [14] ASSEN, S. VAN et. al. Cell-mediated immune responses to inactivated trivalent influenza-vaccination are decreased in patients with common variable immunodeficiency. *Clinical Immunology (Orlando, Fla)*, 2011, vol. 141, no. 2, p. 161–168.
- [15] ASSIS, D.N. Chronic Complications of Cholestasis: Evaluation and Management. *Clinics in Liver Disease*, 2018. Vol. 22, no. 3, p. 533–544.
- [16] AUGUSTO, J.-F. et. al. Hypogammaglobulinemia and risk of severe infection in kidney transplant recipients. *Transplant Infectious Disease: An Official Journal of the Transplantation Society*. 2016, vol. 18, no. 5, p. 741–751.
- [17] BARIS, S. et. al. Efficacy of intravenous immunoglobulin treatment in children with common variable immunodeficiency. *Journal of Investigational Allergology & Clinical Immunology*. 2011, vol. 21, no. 7, p. 514–521.
- [18] BARIS, S. et. al. Osteoporosis: an ignored complication of CVID. *Pediatric Allergy and Immunology: Official Publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology*, 2011, vol. 22, no. 7, p. 676–683.
- [19] BARR, T.A. et. al. B cell depletion therapy ameliorates autoimmune disease through ablation of IL-6-producing B cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 2012, vol. 209, no. 5, p. 1001–1010.

- [20] BEN-BASSAT, I. et. al. Serum immunoglobulins in chronic lymphocytic leukemia. *The American Journal of the Medical Sciences*, 1979, vol. 278, no. 1, p. 4–9.
- [21] BENBRAHIM, O. et. al. A French observational study describing the use of human polyvalent immunoglobulins in hematological malignancy-associated secondary immunodeficiency. *European Journal of Haematology*, 2018, vol. 101, no. 1, p. 48–56.
- [22] BERNTH-JENSEN, J.M. et. al. Biological variation of anti- α Gal-antibodies studied by a novel Time-Resolved ImmunoFluorometric Assay. *Journal of Immunological Methods*, 2011, vol. 373, no. 1–2, p. 26–35.
- [23] BIAGI, F. et. al. The significance of duodenal mucosal atrophy in patients with common variable immunodeficiency: a clinical and histopathologic study. *American Journal of Clinical Pathology*, 2012, vol. 138, no. 2, p. 185–189.
- [24] BIANCHI, G. - MUNSHI, N.C. Pathogenesis beyond the cancer clone(s) in multiple myeloma. *Blood*, 2015, vol. 125, no. 20, p. 3049–3058.
- [25] BINET, J.L. et. al. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer*, 1981, vol. 48, no. 1, p. 198–206.
- [26] BOGAERT, D.J.A. et. al. Genes associated with common variable immunodeficiency: one diagnosis to rule them all? *Journal of Medical Genetics*, 2016, vol. 53, no. 9, p. 575–590.
- [27] BOLETO, G. et. al. Predictors of hypogammaglobulinemia during rituximab maintenance therapy in rheumatoid arthritis: A 12-year longitudinal multi-center study. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 2018, vol. 48, no. 2, p. 149–154.
- [28] BONILLA, F.A. et. al. International Consensus Document (ICON): Common Variable Immunodeficiency Disorders. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology. In Practice*, 2016, vol. 4, no. 1, p. 38–59.
- [29] BOOKBINDER, L.H. et. al. A recombinant human enzyme for enhanced interstitial transport of therapeutics. *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society*, 2006, vol. 114, no. 2, p. 230–241.

- [30] BOURSIQUOT, J.-N. et. al. Granulomatous disease in CVID: retrospective analysis of clinical characteristics and treatment efficacy in a cohort of 59 patients. *Journal of Clinical Immunology*, 2013, vol. 33, no. 1, p. 84–95.
- [31] BOUVRY, D. et. al. Granulomatosis-associated common variable immunodeficiency disorder: a case-control study versus sarcoidosis. *The European Respiratory Journal*, 2013, vol. 41, no. 1, p. 115–122.
- [32] BRANIGAN, E.F. et. al. Blood transfusion reaction in a patient with immunoglobulin A deficiency. *Obstetrics and Gynecology*, 1983, vol. 61, no. 3 Suppl, p. 47S-49S.
- [33] BREJCHA, M. [News in the Supportive Care of Chronic Lymphocytic Leukemia]. *Klinická Onkologie: Casopis Ceske a Slovenske Onkologicke Spolecnosti*, 2015, vol. 28 Suppl 3, p. 3S50-54.
- [34] BRUTON, O.C. et. al. Absence of serum gamma globulins. *A.M.A. American Journal of Diseases of Children*, 1952, vol. 84, no. 5, s. 632–636.
- [35] BURNET, F.M. *Self and not-self; cellular immunology, book one*. Carlton, Vic.; [London: Melbourne University Press Cambridge University Press, 1969. ISBN 978-0-522-83928-9.
- [36] CANDORE, G. et. al. Pathogenesis of autoimmune diseases associated with 8.1 ancestral haplotype: a genetically determined defect of C4 influences immunological parameters of healthy carriers of the haplotype. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie*, 2003, vol. 57, no. 7, p. 274–277.
- [37] CARBONE, J. et. al. Restoration of humoral immunity after intravenous immunoglobulin replacement therapy in heart recipients with post-transplant antibody deficiency and severe infections. *Clinical Transplantation*, 2012, vol. 26, no. 3, p. 277-283.
- [38] CARR, T.F. et. al. Characterization of specific antibody deficiency in adults with medically refractory chronic rhinosinusitis. *American Journal of Rhinology & Allergy*, 2011, vol. 25, no. 4, p. 241–244.
- [39] COMPAGNO, N. et. al. Immunoglobulin replacement therapy in secondary hypogammaglobulinemia. *Frontiers in Immunology*, 2014, vol. 5, p. 626.

- [40] CONLEY, M.E. et. al. Diagnostic criteria for primary immunodeficiencies. Representing PAGID (Pan-American Group for Immunodeficiency) and ESID (European Society for Immunodeficiencies). *Clinical Immunology (Orlando, Fla.)*, 1999, vol. 93, no. 3, p. 190–197.
- [41] CONLEY, M.E. et. al. Multifocal adenocarcinoma of the stomach in a child with common variable immunodeficiency. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 1988, vol. 7, no. 3, p. 456–460.
- [42] COSTA-CARVALHO, B.T. et. al. Low Rates of Poliovirus Antibodies in Primary Immunodeficiency Patients on Regular Intravenous Immunoglobulin Treatment. *Journal of Clinical Immunology*, 2018, vol. 38, no. 5, p. 628-634.
- [43] COULTER, T.I. et. al. Clinical spectrum and features of activated phosphoinositide 3-kinase δ syndrome: A large patient cohort study. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2017, vol. 139, no. 2, p. 597- 606.e4.
- [44] CRAMER, P. - HALLEK, M. Prognostic factors in chronic lymphocytic leukemia-what do we need to know? *Nature Reviews. Clinical Oncolog*, 2011, vol. 8, no. 1, s. 38–47.
- [45] CRASSINI, K.R. et. al. Humoral immune failure defined by immunoglobulin class and immunoglobulin G subclass deficiency is associated with shorter treatment-free and overall survival in Chronic Lymphocytic Leukaemia. *British Journal of Haematology*, 2018, vol. 181, no. 1, p. 97–101.
- [46] DANIELS, J.A. et. al. Gastrointestinal tract pathology in patients with common variable immunodeficiency (CVID): a clinicopathologic study and review. *The American Journal of Surgical Pathology*, 2007, vol. 31, no. 12, p. 1800–1812.
- [47] DESAR, I.M.E. et. al. Serum bactericidal activity against *Helicobacter pylori* in patients with hypogammaglobulinaemia. *Clinical and Experimental Immunology*, 2009, vol. 156, no. 3, p. 434–439.
- [48] DHALLA, F. et. al. Review of gastric cancer risk factors in patients with common variable immunodeficiency disorders, resulting in a proposal for a surveillance programme. *Clinical and Experimental Immunology*, 2011, vol. 165, no. 1, p. 1–7.

- [49] DURIE, B.G. - SALMON, S.E. A clinical staging system for multiple myeloma. Correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival. *Cancer*, 1975. Vol. 36, no. 3, p. 842–854.
- [50] EDGAR, J.D.M. et. al. Prescribing Immunoglobulin Replacement Therapy for Patients with Non-classical and Secondary Antibody Deficiency: an Analysis of the Practice of Clinical Immunologists in the UK and Republic of Ireland. *Journal of Clinical Immunology*, 2018, vol. 38, no. 2, p. 204–213.
- [51] EGG, D. et. al. Increased Risk for Malignancies in 131 Affected CTLA4 Mutation Carriers. *Frontiers in Immunology*, 2018, vol. 9, p. 2012.
- [52] EIJKHOUT, H.W. et. al. The effect of two different dosages of intravenous immunoglobulin on the incidence of recurrent infections in patients with primary hypogammaglobulinemia. A randomized, double-blind, multicenter crossover trial. *Annals of Internal Medicine*, 2001, vol. 135, no. 3, p. 165–174.
- [53] ELLURU, S.-R. et. al. Modulation of human dendritic cell maturation and function by natural IgG antibodies. *Autoimmunity Reviews*, 2008, vol. 7, no. 6, p. 487–490.
- [54] EVERHART, J.E. et. al. Seroprevalence and ethnic differences in *Helicobacter pylori* infection among adults in the United States. *The Journal of Infectious Diseases*, 2000, vol. 181, no. 4, p. 1359–1363.
- [55] FDA Blood Products Advisory Committee 62nd Meeting, Bethesda, Maryland, March 26, 1999. Transcript, Miller Reporting Company, Inc. <http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/99/transcpt/3504t2.pdf>.
- [56] FERREIRA, R.C. et. al. Association of IFIH1 and other autoimmunity risk alleles with selective IgA deficiency. *Nature Genetics*, 2010, vol. 42, no. 9, p. 777–780.
- [57] FLEISCHMANN, R.M. Safety of biologic therapy in rheumatoid arthritis and other autoimmune diseases: focus on rituximab. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 2009, vol. 38, no. 4, p. 265–280.
- [58] FLORESCU, D.F. Solid organ transplantation: hypogammaglobulinaemia and infectious complications after solid organ transplantation. *Clinical and Experimental Immunology*, 2014, vol. 178 Suppl 1, p. 54–56.

- [59] FRANCIS, S. et. al. The effect of immunoglobulin VH gene mutation status and other prognostic factors on the incidence of major infections in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Cancer*, 2006, vol. 107, no. 5, p. 1023–1033.
- [60] FRANGOUL, H. et. al. Incidence and risk factors for hypogammaglobulinemia in pediatric patients following allo-SCT. *Bone Marrow Transplantation*, 2013, vol. 48, no. 11, p. 1456–1459.
- [61] FREEMAN, J.A. et. al. Immunoglobulin G subclass deficiency and infection risk in 150 patients with chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia & Lymphoma*, 2013, vol. 54, no. 1, p. 99–104.
- [62] FRIMAN, V. et. al. Secondary immunodeficiency in lymphoproliferative malignancies. *Hematological Oncology*, 2016, vol. 34, no. 3, p. 121–132.
- [63] FUKUSHIMA, N. et. al. Retrospective and prospective studies of hepatitis B virus reactivation in malignant lymphoma with occult HBV carrier. *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology*, 2009, vol. 20, no. 12, p. 2013–2017.
- [64] FURST, D.E. et. al. Updated consensus statement on biological agents for the treatment of rheumatic diseases, 2009. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 2010, vol. 69 Suppl 1, p. 12-29.
- [65] GALAL, N.M. et. al. Poliovirus excretion following vaccination with live poliovirus vaccine in patients with primary immunodeficiency disorders: clinicians' perspectives in the endgame plan for polio eradication. *BMC research notes*, 2018, vol. 11, no. 1, p. 717.
- [66] GALILI, U. Anti-Gal: an abundant human natural antibody of multiple pathogenesis and clinical benefits. *Immunology*, 2013, vol. 140, no. 1, p. 1–11.
- [67] GARDULF, A. et. al. Home treatment of hypogammaglobulinaemia with subcutaneous gammaglobulin by rapid infusion. *Lancet (London, England)*, 1991, vol. 338, no. 8760, p. 162–166.
- [68] GARDULF, A. et. al. Predictive markers for humoral influenza vaccine response in patients with common variable immunodeficiency. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2018, vol. 142, no. 6, p. 1922-31.

- [69] GARDULF, A. et. al. Rapid subcutaneous IgG replacement therapy at home for pregnant immunodeficient women. *Journal of Clinical Immunology*, 2001, vol. 21, no. 2, p. 150–154.
- [70] GATHMANN, B. et. al. Clinical picture and treatment of 2212 patients with common variable immunodeficiency. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2014, vol. 134, no. 1, p. 116–126.
- [71] GHIA, P. et. al. ERIC recommendations on IGHV gene mutational status analysis in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*, 2007, vol. 21, no. 1, p. 1–3.
- [72] GILLIS, R.J. - IGLEWSKI, B.H. Azithromycin retards *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation. *Journal of Clinical Microbiology*, 2004, vol. 42, no. 12, p. 5842–5845.
- [73] GRACIA, J. DE et. al. Immunoglobulin therapy to control lung damage in patients with common variable immunodeficiency. *International Immunopharmacology*, 2004, vol. 4, no. 6, p. 745–753.
- [74] GREIPP, P.R. et. al. International staging system for multiple myeloma. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 2005, vol. 23, no. 15, p. 3412–3420.
- [75] GRIFFITHS, H. et. al. Predictors of infection in chronic lymphocytic leukaemia (CLL). *Clinical and Experimental Immunology*, 1992, vol. 89, no. 3, p. 374–377.
- [76] GUTHRIE, J.R. et. al. Risk factors for osteoporosis: A review. *Medscape Women's Health*, 2000, vol. 5, no. 4, p. e1.
- [77] HAGAN, J.B. et. al. Efficacy and safety of a new 20% immunoglobulin preparation for subcutaneous administration, IgPro20, in patients with primary immunodeficiency. *Journal of Clinical Immunology*, 2010, vol. 30, no. 5, p. 734–745.
- [78] HALLEK, M. Chronic lymphocytic leukemia: 2017 update on diagnosis, risk stratification, and treatment. *American Journal of Hematolog.*, 2017, vol. 92, no. 9, p. 946–965.
- [79] HAMANOVA, M. et. al. Anti-Gal IgM, IgA and IgG natural antibodies in childhood. *Immunology Letters*, 2015, vol. 164, no. 1, p. 40–43.

- [80] HANITSCH, L.G. et. al. Cellular and humoral influenza-specific immune response upon vaccination in patients with common variable immunodeficiency and unclassified antibody deficiency. *Vaccine*, 2016, vol. 34, no. 21, p. 2417–2423.
- [81] HANSEN, S. et. al. Express subcutaneous IgG infusions: decreased time of delivery with maintained safety. *Clinical Immunology (Orlando, Fla.)*, 2002, vol. 104, no. 3, p. 237–241.
- [82] HARTKAMP, A. et. al. Antibody responses to pneumococcal and haemophilus vaccinations in patients with B-cell chronic lymphocytic leukaemia. *Vaccine*, 2001, vol. 19, no. 13–14, p. 1671–1677.
- [83] HENSEL, M. et. al. Disease activity and pretreatment, rather than hypogammaglobulinaemia, are major risk factors for infectious complications in patients with chronic lymphocytic leukaemia. *British Journal of Haematology*, 2003, vol. 122, no. 4, p. 600–606.
- [84] HILAL, T. et. al. Chronic lymphocytic leukemia and infection risk in the era of targeted therapies: Linking mechanisms with infections. *Blood Reviews*, 2018, vol. 32, no. 5, p. 387–399.
- [85] HINGE, M. et. al. Serologic response to a 23-valent pneumococcal vaccine administered prior to autologous stem cell transplantation in patients with multiple myeloma. *APMIS: acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*, 2012, vol. 120, no. 11, p. 935–940.
- [86] HODGE, S. et. al. Azithromycin improves macrophage phagocytic function and expression of mannose receptor in chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2008, vol. 178, no. 2, p. 139–148.
- [87] HODKINSON, J.P. et. al. Therapeutic immunoglobulin should be dosed by clinical outcome rather than by body weight in obese patients. *Clinical and Experimental Immunology*, 2015, vol. 181, no. 1, p. 179–187.
- [88] HORN, J. et. al. Anti-IgA antibodies in common variable immunodeficiency (CVID): diagnostic workup and therapeutic strategy. *Clinical Immunology (Orlando, Fla.)*, 2007, vol. 122, no. 2, p. 156–162.

- [89] HUANG, C.-T. et. al. Risk factors and characteristics of blood stream infections in patients with newly diagnosed multiple myeloma. *BMC infectious diseases*, 2017, vol. 17, no. 1, p. 33.
- [90] HURST, J.R. et. al. British Lung Foundation/United Kingdom Primary Immunodeficiency Network Consensus Statement on the Definition, Diagnosis, and Management of Granulomatous-Lymphocytic Interstitial Lung Disease in Common Variable Immunodeficiency Disorders. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology. In Practice*, 2017, vol. 5, no. 4, p. 938–945.
- [91] CHAPEL, H. et. al. Common variable immunodeficiency disorders: division into distinct clinical phenotypes. *Blood*, 2008, vol. 112, no. 2, p. 277–286.
- [92] CHAPEL, H.M. et. al. Randomised trial of intravenous immunoglobulin as prophylaxis against infection in plateau-phase multiple myeloma. The UK Group for Immunoglobulin Replacement Therapy in Multiple Myeloma. *Lancet (London, England)*, 1994, vol. 343, no. 8905, p. 1059–1063.
- [93] CHASE, N.M. et. al. Use of combination chemotherapy for treatment of granulomatous and lymphocytic interstitial lung disease (GLILD) in patients with common variable immunodeficiency (CVID). *Journal of Clinical Immunology*, 2013, vol. 33, no. 1, p. 30–39.
- [94] CHUA, I. et. al. Anti-tumour necrosis factor-alpha therapy for severe enteropathy in patients with common variable immunodeficiency (CVID). *Clinical and Experimental Immunology*, 2007, vol. 150, no. 2, p. 306–311.
- [95] CHUN, J.-K. et. al. Analysis of clinical presentations of Bruton disease: a review of 20 years of accumulated data from pediatric patients at Severance Hospital. *Yonsei Medical Journal*, 2008, vol. 49, no. 1, p. 28–36.
- [96] INTERNATIONAL MHC AND AUTOIMMUNITY GENETICS NETWORK et al. Mapping of multiple susceptibility variants within the MHC region for 7 immune-mediated diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, vol. 106, no. 44, p. 18680–18685.
- [97] JANEWAY, C.A. Approaching the Asymptote? Evolution and Revolution in Immunology. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 1989, vol. 54, p. 1–13.

- [98] JOLLES, S. et. al. When to initiate immunoglobulin replacement therapy (IGRT) in antibody deficiency: a practical approach. *Clinical and Experimental Immunology*, 2017, vol. 188, no. 3, p. 333–341.
- [99] JORGENSEN, G.H. et. al. Clinical symptoms in adults with selective IgA deficiency: a case-control study. *Journal of Clinical Immunology*, 2013, vol. 33, no. 4, p. 742–747.
- [100] JØRGENSEN, S.F. et. al. A Cross-Sectional Study of the Prevalence of Gastrointestinal Symptoms and Pathology in Patients With Common Variable Immunodeficiency. *The American Journal of Gastroenterology*, 2016, vol. 111, no. 10, p. 1467–1475.
- [101] JØRGENSEN, S.F. et. al. Altered gut microbiota profile in common variable immunodeficiency associates with levels of lipopolysaccharide and markers of systemic immune activation. *Mucosal Immunology*, 2016, vol. 9, no. 6, p. 1455–1465.
- [102] JUNG, S.-H. et al. Lymphocytopenia is associated with an increased risk of severe infections in patients with multiple myeloma treated with bortezomib-based regimens. *International Journal of Hematology*, 2013, vol. 97, no. 3, p. 382–387.
- [103] KAINULAINEN, L. et. al. Viruses and bacteria in bronchial samples from patients with primary hypogammaglobulinemia. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 1999, vol. 159, no. 4 Pt 1, p. 1199–1204.
- [104] KANIS, J.A. et. al. Assessment of fracture risk. *Osteoporosis international: a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 2005, vol. 16, no. 6, p. 581–589.
- [105] KASZTALSKA, K. et. al. Intravenous immunoglobulin replacement therapy in the treatment of patients with common variable immunodeficiency disease: an open-label prospective study. *Clinical Drug Investigation*, 2011, vol. 31, no. 5, p. 299–307.
- [106] KIM, J.-H. et. al. Immunoglobulin G subclass deficiency is the major phenotype of primary immunodeficiency in a Korean adult cohort. *Journal of Korean Medical Science*, 2010, vol. 25, no. 6, p. 824–828.
- [107] KINLEN, L.J. et. al. Prospective study of cancer in patients with hypogammaglobulinaemia. *Lancet (London, England)*, 1985, vol. 1, no. 8423, p. 263–266.

- [108] KJELLANDER, C. et. al. Bloodstream infections in patients with chronic lymphocytic leukemia: a longitudinal single-center study. *Annals of Hematology*, 2016, vol. 95, no. 6, p. 871–879.
- [109] KOHYAMA, T. et. al. Clarithromycin inhibits fibroblast migration. *Respiratory Medicine*, 2008, vol. 102, no. 12, p. 1769–1776.
- [110] KOKRON, C.M. et. al. Clinical and laboratory aspects of common variable immunodeficiency. *Anais Da Academia Brasileira De Ciencias*, 2004., vol. 76, no. 4, p. 707–726.
- [111] KOLLERT, F. et. al. Bronchoalveolar lavage cytology resembles sarcoidosis in a subgroup of granulomatous CVID. *The European Respiratory Journal*, 2014, vol. 43, no. 3, p. 922–924.
- [112] KOZÁKOVÁ, J. et. al. Invazivní pneumokokové onemocnění v České republice v roce 2014, *Zprávy centra epidemiologie a mikrobiologie (SZÚ Praha)*, 2015, vol 24, no. 3, p. 6 .
- [113] KRALICKOVA, P. et. al. Antibodies against Pneumococcal Capsular Polysaccharides and Natural Anti-Galactosyl (Alpha-Gal) in Patients with Humoral Immunodeficiencies. *Journal of Immunology Research*. 2017, vol. 2017, e7304658.
- [114] KRALICKOVA, P. et. al. Cytomegalovirus disease in patients with common variable immunodeficiency: three case reports. *International Archives of Allergy and Immunology*, 2014, vol. 163, no. 1, p. 69–74.
- [115] LEE, P.P.W. et. al. Clinical characteristics and genotype-phenotype correlation in 62 patients with X-linked agammaglobulinemia. *Journal of Clinical Immunology*, 2010, vol. 30, no. 1, p. 121–131.
- [116] LEKAMWASAM, S. et. al. A framework for the development of guidelines for the management of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Osteoporosis international: a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 2012, vol. 23, no. 9, p. 2257–2276.
- [117] LIM, M.T.C. et. al. Specific antibody deficiency in children with chronic wet cough. *Archives of Disease in Childhood*, 2012, vol. 97, no. 5, p. 478–480.

- [118] LUCAS, M. et. al. Infection outcomes in patients with common variable immunodeficiency disorders: relationship to immunoglobulin therapy over 22 years. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2010, vol. 125, no. 6, p. 1354-1360.
- [119] LUDVIGSSON, J.F. et. al. Association between IgA deficiency & other autoimmune conditions: a population-based matched cohort study. *Journal of Clinical Immunology*, 2014, vol. 34, no. 4, p. 444–451.
- [120] LUDVIGSSON, J.F. et. al. IgA deficiency and risk of cancer: a population-based matched cohort study. *Journal of Clinical Immunology*, 2015, vol. 35, no. 2, p. 182–188.
- [121] LUDVIGSSON, J.F. et. al. Risk of Infections Among 2100 Individuals with IgA Deficiency: a Nationwide Cohort Study. *Journal of Clinical Immunology*, 2016, vol. 36, no. 2, p. 134–140.
- [122] MAARSCHALK-ELLERBROEK, L.J. et. al. Outcome of screening endoscopy in common variable immunodeficiency disorder and X-linked agammaglobulinemia. *Endoscopy*, 2013, vol. 45, no. 4, p. 320–323.
- [123] MAFFUCCI, P. et. al. Genetic Diagnosis Using Whole Exome Sequencing in Common Variable Immunodeficiency. *Frontiers in Immunology*, 2016, vol. 7, p. 220.
- [124] MALAMUT, G. et. al. Nodular regenerative hyperplasia: the main liver disease in patients with primary hypogammaglobulinemia and hepatic abnormalities. *Journal of Hepatology*, 2008, vol. 48, no. 1, p. 74–82.
- [125] MALAMUT, G. et. al. The enteropathy associated with common variable immunodeficiency: the delineated frontiers with celiac disease. *The American Journal of Gastroenterology*, 2010, vol. 105, no. 10, p. 2262–2275.
- [126] MANDALIYA, R. et. al. Association between common variable immunodeficiency and collagenous infiltrative disorders of the gastrointestinal tract: A series of four patients. *Indian Journal of Gastroenterology: Official Journal of the Indian Society of Gastroenterology*, 2016, vol. 35, no. 2, p. 133–138.
- [127] MATZINGER, P. The danger model: a renewed sense of self. *Science (New York, N.Y.)*, 2002 vol. 296, no. 5566, p. 301–305.

- [128] MATZINGER, P. Tolerance, danger, and the extended family. *Annual Review of Immunology*, 1994, vol. 12, p. 991–1045.
- [129] MAYER, J. *Léčebné postupy v hematologii: doporučení České hematologické společnosti České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně*, 2016. ISBN 978-80-260-9718-1.
- [130] MÉLET, J. et. al. Rituximab-induced T cell depletion in patients with rheumatoid arthritis: association with clinical response. *Arthritis and Rheumatism*, 2013, vol. 65, no. 11, p. 2783–2790.
- [131] MELO, J.V. et. al. The relationship between chronic lymphocytic leukaemia and prolymphocytic leukaemia. I. Clinical and laboratory features of 300 patients and characterization of an intermediate group. *British Journal of Haematology*, 1986, vol. 63, no. 2, p. 377–387.
- [132] MERTENS, V. et. al. Azithromycin reduces gastroesophageal reflux and aspiration in lung transplant recipients. *Digestive Diseases and Sciences*, 2009, vol. 54, no. 5, p. 972–979.
- [133] MITSUIKI, N. et. al. What did we learn from CTLA-4 insufficiency on the human immune system? *Immunological Reviews*, 2019, vol. 287, no. 1, p. 33–49.
- [134] MODELL, V. et. al. Global study of primary immunodeficiency diseases (PI)--diagnosis, treatment, and economic impact: an updated report from the Jeffrey Modell Foundation. *Immunologic Research*, 2011, vol. 51, no. 1, p. 61–70.
- [135] MOHAMMADI, J. et. al. IgA deficiency and the MHC: assessment of relative risk and microheterogeneity within the HLA A1 B8, DR3 (8.1) haplotype. *Journal of Clinical Immunology*, 2010, vol. 30, no. 1, p. 138–143.
- [136] MOLICA, S. Infections in chronic lymphocytic leukemia: risk factors, and impact on survival, and treatment. *Leukemia & Lymphoma*, 1994, vol. 13, no. 3–4, p. 203–214.
- [137] MORRISON, V.A. Infectious complications in patients with chronic lymphocytic leukemia: pathogenesis, spectrum of infection, and approaches to prophylaxis. *Clinical Lymphoma & Myeloma*, 2009, vol. 9, no. 5, p. 365–370.

- [138] NAMKOONG, H. et. al. Clarithromycin expands CD11b+Gr-1+ cells via the STAT3/Bv8 axis to ameliorate lethal endotoxic shock and post-influenza bacterial pneumonia. *PLoS pathogens*, 2018, vol. 14, no. 4, e1006955.
- [139] NECHVATALOVA, J. et. al. B-lymphocyte subpopulations in patients with selective IgA deficiency. *Journal of Clinical Immunology*, 2012, vol. 32, no. 3, p. 441–448.
- [140] NGUYEN, K.-D. et al. Drug-induced bone loss: a major safety concern in Europe. In *Expert Opinion on Drug Safety*, 2018, vol. 17, no. 10, p. 1005–1014.
- [141] NICOLAY, U. et. al. Measuring treatment satisfaction in patients with primary immunodeficiency diseases receiving lifelong immunoglobulin replacement therapy. *Quality of Life Research: An International Journal of Quality of Life Aspects of Treatment, Care and Rehabilitation*, 2005, vol. 14, no. 7, p. 1683–1691.
- [142] NIH CONSENSUS DEVELOPMENT PANEL ON OSTEOPOROSIS PREVENTION, DIAGNOSIS, AND THERAPY Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *JAMA*, 2001, vol. 285, no. 6, p. 785–795.
- [143] NORLIN, A.-C. et. al. Allogeneic stem cell transplantation: low immunoglobulin levels associated with decreased survival. *Bone Marrow Transplantation*, 2008, vol. 41, no. 3, p. 267–273.
- [144] NUCCI, M. - ANAISSIE, E. Infections in patients with multiple myeloma in the era of high-dose therapy and novel agents. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 2009, vol. 49, no. 8, p. 1211–1225.
- [145] ODNOLETKOVA, I. et. al. The burden of common variable immunodeficiency disorders: a retrospective analysis of the European Society for Immunodeficiency (ESID) registry data. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 2018, vol. 13, no. 1, p. 201 .
- [146] OKSENHENDLER, E. et. al. Infections in 252 patients with common variable immunodeficiency. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 2008, vol. 46, no. 10, p. 1547–1554.

- [147] OLALEKAN, S.A. et. al. B cells expressing IFN- γ suppress Treg-cell differentiation and promote autoimmune experimental arthritis. *European Journal of Immunology*, 2015, vol. 45, no. 4, p. 988–998.
- [148] OLINDER-NIELSEN, A.-M. et. al. Immunoglobulin prophylaxis in 350 adults with IgG subclass deficiency and recurrent respiratory tract infections: a long-term follow-up. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 2007, vol. 39, no. 1, p. 44–50.
- [149] ORANGE, J.S. et. al. Evaluation of correlation between dose and clinical outcomes in subcutaneous immunoglobulin replacement therapy. *Clinical and Experimental Immunology*, 2012, vol. 169, no. 2, p. 172–181.
- [150] ORANGE, J.S. et. al. Impact of trough IgG on pneumonia incidence in primary immunodeficiency: A meta-analysis of clinical studies. *Clinical Immunology (Orlando, Fla)*, 2010, vol. 137, no. 1, p. 21–30.
- [151] ORSINI, E. et. al. The circulating dendritic cell compartment in patients with chronic lymphocytic leukemia is severely defective and unable to stimulate an effective T-cell response. *Cancer Research*. 2003, vol. 63, no. 15, p. 4497–4506.
- [152] OSCIER, D. et. al. Guidelines on the diagnosis, investigation and management of chronic lymphocytic leukaemia. *British Journal of Haematology*, 2012, vol. 159, no. 5, p. 541–564.
- [153] PARANJPE, S.M. et. al. Chronic Giardiasis in a Case of Common Variable Immunodeficiency (CVID): A Case Report. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 2016, vol. 10, no. 7, p. 3- 4.
- [154] PARIKH, S.A. et. al. Hypogammaglobulinemia in newly diagnosed chronic lymphocytic leukemia: Natural history, clinical correlates, and outcomes. *Cancer*, 2015, vol. 121, no. 17, p. 2883–2891.
- [155] PARKER, W. et. al. Isohemagglutinins and xenoreactive antibodies: members of a distinct family of natural antibodies. *Human Immunology*, 1996, vol. 45, no. 2, p. 94–104.

- [156] PARRY, H.M. et. al. NK cell function is markedly impaired in patients with chronic lymphocytic leukaemia but is preserved in patients with small lymphocytic lymphoma. *Oncotarget*, 2016, vol. 7, no. 42, p. 68513–68526.
- [157] PATHRIA, M. et. al. Management of granulomatous lymphocytic interstitial lung disease in a patient with common variable immune deficiency. *BMJ case reports*, 2016, vol. 2016, doi: 10.1136/bcr-2016-215624.
- [158] PEDERSEN, G. et. al. Pandemic influenza vaccination elicits influenza-specific CD4+ Th1-cell responses in hypogammaglobulinaemic patients: four case reports. *Scandinavian Journal of Immunology*, 2011, vol. 74, no. 2, p. 210–218.
- [159] PEREZ, E.E. et. al. Update on the use of immunoglobulin in human disease: A review of evidence. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2017, vol. 139, no. 3S, p. 1–46.
- [160] PICARD, C. et. al. International Union of Immunological Societies: 2017 Primary Immunodeficiency Diseases Committee Report on Inborn Errors of Immunity. *Journal of Clinical Immunology*, 2018, vol. 38, no. 1, p. 96–128.
- [161] POPA, C. et. al. Repeated B lymphocyte depletion with rituximab in rheumatoid arthritis over 7 yrs. *Rheumatology (Oxford, England)*, 2007, vol. 46, no. 4, p. 626–630.
- [162] POSPISILOVA, S. et. al. ERIC recommendations on TP53 mutation analysis in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*, 2012, vol. 26, no. 7, p. 1458–1461.
- [163] POUR, L. et. al. [The importance of autologous transplantation in multiple myeloma]. *Vnitřní Lekarství*, 2009, vol. 55, no. 9, p. 767–772.
- [164] QUINTI, I. et. al. Hemolysis in patients with antibody deficiencies on immunoglobulin replacement treatment. *Transfusion*, 2015, vol. 55, no. 5, p. 1067–1074.
- [165] QUINTI, I. et. al. Long-term follow-up and outcome of a large cohort of patients with common variable immunodeficiency. *Journal of Clinical Immunology*, 2007, vol. 27, no. 3, p. 308–316.
- [166] QUINTI, I. et. al. Malignancies are the major cause of death in patients with adult onset common variable immunodeficiency. *Blood*, 2012, vol. 120, no. 9, p. 1953–1954.

- [167] QUINTI, I. et. al. Prospective study on COVID patients with adverse reactions to intravenous or subcutaneous IgG administration. *Journal of Clinical Immunology*, 2008, pvol. 28, no. 3, p. 263–267.
- [168] RAI, K.R. et. al. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*, 1975, vol. 46, no. 2, p. 219–234.
- [169] RAJKUMAR, S.V. et. al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *The Lancet. Oncology*, 2014, vol. 15, no. 12, p. 538-548.
- [170] REISER, M. et. al. Management of patients with malignancies and secondary immunodeficiencies treated with immunoglobulins in clinical practice: Long-term data of the SIGNS study. *European Journal of Haematology*, 2017, vol. 99, no. 2, p. 169–177.
- [171] RESNICK, E.S. et. al. Morbidity and mortality in common variable immune deficiency over 4 decades. *Blood*, 2012, vol. 119, no. 7, p. 1650–1657.
- [172] RICHES, J.C. - GRIBBEN, J.G. Understanding the immunodeficiency in chronic lymphocytic leukemia: potential clinical implications. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 2013, vol. 27, no. 2, p. 207–235.
- [173] ROBERTS, D.M. et. al. Rituximab-associated hypogammaglobulinemia: incidence, predictors and outcomes in patients with multi-system autoimmune disease. *Journal of Autoimmunity*, 2015, vol. 57, p. 60–65.
- [174] ROBERTS, S.E. et. al. Review article: the prevalence of *Helicobacter pylori* and the incidence of gastric cancer across Europe. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 2016, vol. 43, no. 3, p. 334–345.
- [175] ROZMAN, C. et. al. Serum immunoglobulins in B-chronic lymphocytic leukemia. Natural history and prognostic significance. *Cancer*, 1988, vol. 61, no. 2, s. 279–283.
- [176] RUBIN, L.G. et. al. 2013 IDSA clinical practice guideline for vaccination of the immunocompromised host. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 2014, vol. 58, no. 3, p. 309–318.
- [177] SALAVOURA, K. et. al. Development of cancer in patients with primary immunodeficiencies. *Anticancer Research*, 2008, vol. 28, no. 2B, p. 1263–1269.

- [178] SALCEDO, J. et. al. Intravenous immunoglobulin therapy for severe *Clostridium difficile* colitis. *Gut*, 1997, vol. 41, no. 3, p. 366–370.
- [179] SAN-MIGUEL, J.F. - MATEOS, M.-V. Can multiple myeloma become a curable disease? *Haematologica*, 2011, vol. 96, no. 9, p. 1246–1248.
- [180] SARMIENTO, E. et. al. Early intravenous immunoglobulin replacement in hypogammaglobulinemic heart transplant recipients: results of a clinical trial. *Transplant Infectious Disease: An Official Journal of the Transplantation Society*, 2016, vol. 18, no. 6, p. 832–843.
- [181] SEDIVÁ, A. et. al. Contiguous X-chromosome deletion syndrome encompassing the BTK, TIMM8A, TAF7L, and DRP2 genes. *Journal of Clinical Immunology*, 2007, vol. 27, no. 6, p. 640–646.
- [182] SHAGHAGHI, M. et. al. New insights into physiopathology of immunodeficiency-associated vaccine-derived poliovirus infection; systematic review of over 5 decades of data. *Vaccine*, 2018, vol. 36, no. 13, p. 1711–1719.
- [183] SHAH, S. et. al. Immunoglobulin levels and infection risk with rituximab induction for anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Clinical Kidney Journal*, 2017, vol. 10, no. 4, p. 470–474.
- [184] SHAHMAHMOODI, S. et. al. Isolation of a type 3 vaccine-derived poliovirus (VDPV) from an Iranian child with X-linked agammaglobulinemia. *Virus Research*, 2008, vol. 137, no. 1, p. 168–172.
- [185] SHAPIRO, R. Subcutaneous immunoglobulin (16 or 20%) therapy in obese patients with primary immunodeficiency: a retrospective analysis of administration by infusion pump or subcutaneous rapid push. *Clinical and Experimental Immunology*, 2013, vol. 173, no. 2, p. 365–371.
- [186] SHAPIRO, R. Subcutaneous immunoglobulin therapy by rapid push is preferred to infusion by pump: a retrospective analysis. *Journal of Clinical Immunology*, 2010, vol. 30, no. 2, p. 301–307.

- [187] SHINKAI, M. et. al. Clarithromycin delays progression of bronchial epithelial cells from G1 phase to S phase and delays cell growth via extracellular signal-regulated protein kinase suppression. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2006, vol. 50, no. 5, p. 1738–1744.
- [188] SHULZHENKO, N. et. al. Crosstalk between B lymphocytes, microbiota and the intestinal epithelium governs immunity versus metabolism in the gut. *Nature Medicine*, 2011, vol. 17, no. 12, p. 1585–1593.
- [189] SHULZHENKO, N. et. al. CVID enteropathy is characterized by exceeding low mucosal IgA levels and interferon-driven inflammation possibly related to the presence of a pathobiont. *Clinical Immunology (Orlando, Fla.)*, 2018, vol. 197, p. 139–153.
- [190] SHVIDEL, L. et. al. Serum immunoglobulin levels at diagnosis have no prognostic significance in stage A chronic lymphocytic leukemia: a study of 1113 cases from the Israeli CLL Study Group. *European Journal of Haematology*, 2014, vol. 93, no. 1, p. 29–33.
- [191] SCHMID, G.P. et. al. Antibody response to pneumococcal vaccine in patients with multiple myeloma. *The Journal of Infectious Diseases*, 1981, vol. 143, no. 4, p. 590–597.
- [192] SCHUBERT, D. et. al. Autosomal dominant immune dysregulation syndrome in humans with CTLA4 mutations. *Nature Medicine*, 2014, vol. 20, no. 12, p. 1410–1416.
- [193] SCHWAB, C. et. al. Phenotype, penetrance, and treatment of 133 cytotoxic T-lymphocyte antigen 4-insufficient subjects. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2018, vol. 142, no. 6, p. 932–946.
- [194] SIEDLAR, M. et. al. Preparations of intravenous immunoglobulins diminish the number and proinflammatory response of CD14⁺CD16⁺⁺ monocytes in common variable immunodeficiency (CVID) patients. *Clinical Immunology (Orlando, Fla.)*. 2011, vol. 139, no. 2, p. 122–132.
- [195] SILVA, R. DE et. al. Prevalence of prolonged and chronic poliovirus excretion among persons with primary immune deficiency disorders in Sri Lanka. *Vaccine*, 2012, vol. 30, no. 52, p. 7561–7565.

- [196] SINISALO, M. et. al. Antibody response to 7-valent conjugated pneumococcal vaccine in patients with chronic lymphocytic leukaemia. *Vaccine*, 2007, vol. 26, no. 1, p. 82–87.
- [197] SINISALO, M. et. al. Response to vaccination against different types of antigens in patients with chronic lymphocytic leukaemia. *British Journal of Haematology*, 2001, vol. 114, no. 1, p. 107–110.
- [198] SINISALO, M. et. al. Similar humoral immunity parameters in chronic lymphocytic leukemia patients independent of VH gene mutation status. *Leukemia & Lymphoma*, 2004, vol. 45, no. 12, p. 2451–2454.
- [199] SIRIS, E.S. et. al. The clinical diagnosis of osteoporosis: a position statement from the National Bone Health Alliance Working Group. *Osteoporosis International*, 2014, vol. 25, no. 5, p. 1439–1443.
- [200] SMILEK, D.E. et. al. Correlation of hypogammaglobulinaemia with proteinuria, and the relationship between hypogammaglobulinaemia and infection in active lupus nephritis. *Lupus Science & Medicine*, 2017, vol. 4, no. 1, e000229.
- [201] SMITH, EN. et. al. Genetic and epigenetic profiling of CLL disease progression reveals limited somatic evolution and suggests a relationship to memory-cell development. *Blood Cancer Journal*, 2015, vol. 5, e303.
- [202] SØRRIG, R. et. al. Immunoparesis in newly diagnosed Multiple Myeloma patients: Effects on overall survival and progression free survival in the Danish population. In *PloS One*, 2017. Vol. 12, no. 12, s. e0188988.
- [203] SPÄTH, P.J. et. al. On the dark side of therapies with immunoglobulin concentrates: the adverse events. *Frontiers in Immunology*, 2015, vol. 6, p. 11.
- [204] STEIN, M.R. et. al. Safety and efficacy of home-based subcutaneous immunoglobulin G in elderly patients with primary immunodeficiency diseases. *Postgraduate Medicine*, 2011, vol. 123, no. 5, p. 186–193.
- [205] STEWART, D.M. et. al. X-linked hypogammaglobulinemia and isolated growth hormone deficiency: an update. *Immunologic Research*, 2008, vol. 40, no. 3, p. 262–270.

- [206] STRAUB, J. et. al. Mnohočetný myelom - časná diagnostika. *Medicína pro praxi*, 2009, vol. 6, no. 4, p. 197–199.
- [207] SURESH BABU, K. et. al. Role of long term antibiotics in chronic respiratory diseases. *Respiratory Medicine*, 2013, vol. 107, no. 6, p. 800–815.
- [208] SVENSSON, T. et. al. Clinical significance of serum immunoglobulin G subclass deficiency in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. 2013, vol. 45, no. 7, p. 537–542.
- [209] TADMOR, T. et. al. A review of the infection pathogenesis and prophylaxis recommendations in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Expert Review of Hematology*, 2018, vol. 11, no. 1, p. 57–70.
- [210] TAK MANESH, A. et. al. Epidemiology and pathophysiology of malignancy in common variable immunodeficiency? *Allergologia Et Immunopathologia*, 2017, vol. 45, no. 6, p. 602–615.
- [211] TEH, B.W. et. al. Epidemiology of bloodstream infections in patients with myeloma receiving current era therapy. *European Journal of Haematology*, 2017, vol. 98, no. 2, p. 149–153.
- [212] THIEL, J. et. al. B cell repopulation kinetics after rituximab treatment in ANCA-associated vasculitides compared to rheumatoid arthritis, and connective tissue diseases: a longitudinal observational study on 120 patients. *Arthritis Research & Therapy*, 2017, vol. 19, no. 1, s. 101.
- [213] THOMAS, J.R. et. al. Assessing the role of human recombinant hyaluronidase in gravity-driven subcutaneous hydration: the INFUSE-LR study. *Journal of Palliative Medicine*, 2007, vol. 10, no. 6, p. 1312–1320.
- [214] TOUW, C.M.L. et. al. Detection of pulmonary complications in common variable immunodeficiency. *Pediatric Allergy and Immunology: Official Publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology*, 2010, vol. 21, no. 5, p. 793–805.

- [215] VARZANEH, F.N. et. al. Cytokines in common variable immunodeficiency as signs of immune dysregulation and potential therapeutic targets - a review of the current knowledge. *Journal of Clinical Immunology*. 2014, vol. 34, no. 5, p. 524–543.
- [216] VEN, A.A.J.M. VAN DE - MONTFRANS, J.M. VAN Clinical complications in pediatric CVID are not restricted to patients with severely reduced class-switched memory B cells. *Pediatric Allergy and Immunology: Official Publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology*, 2011, vol. 22, no. 3, p. 347–348.
- [217] VENHOFF, N. et. al. Impact of rituximab on immunoglobulin concentrations and B cell numbers after cyclophosphamide treatment in patients with ANCA-associated vasculitides. *PloS One*, 2012, vol. 7, no. 5, e37626.
- [218] VENHOFF, N. et. al. The role of HLA DQ2 and DQ8 in dissecting celiac-like disease in common variable immunodeficiency. *Journal of Clinical Immunology*, 2013, vol. 33, no. 5, p 909–916.
- [219] VERBSKY, J.W. - ROUTES, J.M. Sarcoidosis and common variable immunodeficiency: similarities and differences. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 2014, vol. 35, no. 3, p. 330–335.
- [220] VERSTAPPEN, G.M. et. al. B Cell Depletion Therapy Normalizes Circulating Follicular Th Cells in Primary Sjögren Syndrome. *The Journal of Rheumatology*, 2017, vol. 44, no. 1, p. 49–58.
- [221] VISENTIN, A. et. al. Clinical profile associated with infections in patients with chronic lymphocytic leukemia. Protective role of immunoglobulin replacement therapy. *Haematologica*, 2015, vol. 100, no. 12, p. 515-518.
- [222] VORECHOVSKÝ, I. et. al. Chromosomal radiosensitivity in common variable immune deficiency. *Mutation Research*, 1993. vol. 290, no. 2, p. 255–264.
- [223] WANG, N. et. al. Serological assessment for celiac disease in IgA deficient adults. *PloS One*. 2014, vol. 9, no. 4, e93180.
- [224] WANG, N. - HAMMARSTRÖM, L. IgA deficiency: what is new? *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 2012, vol. 12, no. 6, p. 602–608.

- [225] WASSERMAN, R.L. Overview of recombinant human hyaluronidase-facilitated subcutaneous infusion of IgG in primary immunodeficiencies. *Immunotherapy*, 2014, vol. 6, no. 5, p. 553–567.
- [226] WASSERMAN, R.L. et. al. Recombinant human hyaluronidase-facilitated subcutaneous infusion of human immunoglobulins for primary immunodeficiency. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2012, vol. 130, no. 4, p. 951- 957.
- [227] WESTH, L. et. al. Identification and Characterization of a Nationwide Danish Adult Common Variable Immunodeficiency Cohort. *Scandinavian Journal of Immunology*, 2017, vol. 85, no. 6, p. 450–461.
- [228] WINDEGGER, T.M. et. al. Subcutaneous Immunoglobulin Therapy for Hypogammaglobulinemia Secondary to Malignancy or Related Drug Therapy. *Transfusion Medicine Reviews*, 2017, vol. 31, no. 1, p. 45–50.
- [229] WINKELSTEIN, J.A. et. al. X-linked agammaglobulinemia: report on a United States registry of 201 patients. *Medicine*, 2006. vol. 85, no. 4, p. 193–202.
- [230] WIRSUM, C. et. al. Secondary Antibody Deficiency in Glucocorticoid Therapy Clearly Differs from Primary Antibody Deficiency. *Journal of Clinical Immunology*, 2016, vol. 36, no. 4, p. 406–412.
- [231] WONG, G.K. et. al. Outcomes of splenectomy in patients with common variable immunodeficiency (CVID): a survey of 45 patients. *Clinical and Experimental Immunology*, 2013, vol. 172, no. 1, p. 63–72.
- [232] WOODWARD, J. et. al. Chronic norovirus infection and common variable immunodeficiency. *Clinical and Experimental Immunology*, 2017, vol. 188, no. 3, p. 363–370.
- [233] WOODWARD, J.M. et. al. The role of chronic norovirus infection in the enteropathy associated with common variable immunodeficiency. *The American Journal of Gastroenterology*, 2015, vol. 110, no. 2, p. 320–327.

- [234] WROBLOVA, K. et. al. Frequencies of HLA-DQ2 and HLA-DQ8 haplotypes in Czech and Slovak coeliac patients and the healthy population. *Acta Biochimica Polonica*, 2014, vol. 61, no. 1, p. 191–193.
- [235] WW. EMA.EUROPA.EU Guideline on the clinical investigation of human normal immunoglobulin for intravenous administration (IVIg). Dostupné na <https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-clinical-investigation-human-normal-immunoglobulin-intravenous-administration-ivig-rev-3_en.pdf>
- [236] WWW.MEDITORIAL.CZ Bezpečnost biologické léčby – doporučení České reumatologické společnosti. In [online]. [cit. 2019-02-13]. Dostupné na internete: <<https://www.prolekare.cz/casopisy/ceska-revmatologie/2009-3/bezpecnost-biologicke-lecby-doporuceni-ceske-revmatologicke-spolecnosti-15535>>.
- [237] YAMANI, M.H. et. al. Hypogammaglobulinemia after heart transplantation: impact of pre-emptive use of immunoglobulin replacement (CytoGam) on infection and rejection outcomes. *Transplant Infectious Disease: An Official Journal of the Transplantation Society*, 2001, vol. 3 Suppl 2, p. 40–43.
- [238] YESHURUN, M. et. al. Antibacterial prophylaxis with ciprofloxacin for patients with multiple myeloma and lymphoma undergoing autologous haematopoietic cell transplantation: a quasi-experimental single-centre before-after study. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 2018, vol. 24, no. 7, p. 749–754.
- [230] ZULLO, A. et. al. Gastric pathology in patients with common variable immunodeficiency. *Gut*, 1999, vol. 45, no. 1, p. 77–81.
- [240] ZYLBERBERG, H.M. et. al. Celiac Disease-Musculoskeletal Manifestations and Mechanisms in Children to Adults. *Current Osteoporosis Reports*, 2018, vol. 16, no. 6, p. 754–762.

7. Přílohy

Příloha 1: Diagnostická kritéria chronické lymfocytární leukemie dle International Workshop on CLL (IWCLL).

| |
|---|
| B-lymfocyty v periferní krvi $>5 \times 10^9/l$ |
| morfologicky ≤ 55 % atypických buněk (např. prolymfocyty) v periferní krvi |
| typický imunofenotyp (koexprese znaků CD5, CD19 a CD23) |

Příloha 2: Charakteristika klinických stádií.

| Stádia podle Raie | |
|---|--|
| 0 | Lymfocytóza |
| I | lymfocytóza + lymfadenopatie |
| II | lymfocytóza + spleno- nebo hepatomegalie |
| III | lymfocytóza + anémie (hemoglobin < 110 g/l) |
| IV | lymfocytóza + trombocytopenie ($< 100 \times 10^9/l$) |
| Stádia podle Bineta | |
| A | < 3 postižené skupiny uzlin \geq 3 postižené skupiny uzlin* |
| C | anémie - hemoglobin < 100 g/l a/nebo trombocytopenie $< 100 \times 10^9/l$ |
| Modifikovaná stádia dle Raie (RIZIKO)** | |
| n | stádium 0 dle Raie |
| s | stádium I a II |
| v | stádium III a IV |

* Skupiny uzlin: krční, podpažní, tříselné, slezina a játra. Oboustranné postižení je počítáno za jednu oblast

**Slouží k rozhodnutí o typu léčby

Pozn. Tabulka zpracována na základě citací:^[25,168]

Příloha 3: Diagnostická kritéria MM

Diagnostická kritéria (IMWG) byla aktualizována v roce 2014 [169].

Infiltrace kostní dřeně více než 10 % klonálními plazmatickými buňkami nebo biopticky prokázán kostní či extramedulární plazmocytem a některý (alespoň jeden), z následujících znaků poškození vnitřních orgánů (CRAB) a myelomem spojených znaků:

1. Průkaz poškození vnitřního orgánu, který padá na vrub poškození proliferací plazmatických buněk:

- a. hyperkalcémie, sérové kalcium o více než 0.25 mmol/l (>1mg/dl) vyšší než horní hranice normálních hodnot nebo >2.75 mmol/l (>11mg/dl)
- b. renální insuficience: klearens kreatininu méně než 40 ml/min nebo sérový kreatinin více než 177 μ mol/l (více než 2mg/dl)
- c. anémie: hemoglobin o více než 20 g/l méně než dolní hranice normálního rozmezí či hodnota nižší než 100 g/l
- d. kostní léze: jedno či více osteolytických ložisek na RTG, CT či PET/CT. V případě méně než 10 % plazmatických buněk v kostní dřeni je nezbytná přítomnost více než jednoho osteolytického ložiska

2. Přítomnost jednoho či více biomarkerů:

- a. 60 % či více klonálních plazmatických buněk ve dřeni
- b. více než jedna lokální léze na MRI (minimálně 5 mm velká)
- c. poměr neklonálních/klonálních lehkých řetězců ≥ 100

Příloha 4: Klinická stádia MM

Systém stanovení klinických stádií mnohočetného myelomu vychází z klasifikace Durieho a Salmona. Rozdělení stádií na I-III odráží rozsah nádorové masy v organismu a pokročilost onemocnění. Subklasifikace A-B určuje závažnost poškození ledvin [49].

| | | |
|---|--|--|
| I. stádium | Jsou splněny všechny níže uvedené podmínky: koncentrace Hb > 100 g/l koncentrace Ca < 3 mmol/l normální kostní struktura a/nebo solitární kostní ložisko plasmocytomu relativně nízká koncentrace M-Ig: a) M-IgG < 50 g/l, b) M-IgA < 30 g/l, c) exkrece lehkých řetězců v moči < 4 g/24 h. | masa TU buněk: < 0,6 x 10 ¹² /m ² |
| II. stádium | Nejsou splněny podmínky prvního ani třetího stádia. | 0,6 – 1,2 x 10 ¹² /m ² |
| III. stádium | Je splněna alespoň jedna z následujících podmínek: koncentrace hemoglobinu < 85 g/l zvýšená koncentrace Ca 3 mmol/l pokročilé postižení skeletu s mnohočetnými osteolytickými ložisky a/nebo zlomeninami vysoké koncentrace M-Ig: a) M-IgG > 70 g/l, b) M-IgA > 50 g/l, c) vyloučení 12 g lehkých řetězců moče za 24 h. | 1,2 x 10 ¹² /m ² |
| Subklasifikace: A - kreatinin < 177 μmol/l (2 mg/ml) B - renální insuficience s retencí dusíkatých látek, kreatinin > 177 μmol/l | | |

Příloha 5: Stanovení prognostického indexu MM dle ISS (International Staging System)

Aktuální prognostický systém pro mnohočetný myelom ^[74] vychází ze sérových koncentrací albuminu a β 2-mikroglobulinu stanovených v době diagnózy. Systém je uveden v tabulce 13.5. Systém ISS u MM je také často nazýván IPI (International Prognostic Index), jak v české, tak světové literatuře.

| Klinické stadium | β 2-mikroglobulin (mg/l) | Albumin (g/l) |
|------------------|--------------------------------|--------------------------------------|
| I | <3,5 | ≥ 35 |
| II | <3,5 nebo 3,5 – 5,5 | <35 nezávisle na hodnotě albuminu |
| III | > 5,5 | |

Příloha 6: Seznam publikačních aktivit autora

Publikace přímo uvedené v habilitační práci, či využité jako zdroje problematiky:

1. Janssen LMA, van Hout RWNM, de Vries E; SIMcal consortium (Pignata C, Cirillo E, Arkwright PD, Lougaris V, Buckland M, Garcia-Prat M, Soler-Palacin P, Ouederni M, **Kralickova P**, Abolhassani H, Hammerstrom L, Aghamohamamdi A, Santos-Pérez JL, Sobh A, van de Werff Ten Bosch J, Henriët S, Kilic SS, Karali Y, Gonzalez-Granado LI, Sediva A.). Challenges in investigating patients with isolated decreased serum IgM – The SIMcal study. *Scand J Immunol.* 2019 Mar 18: e12763. doi: 10.1111/sji.12763. [Epub ahead of print] (IF=2,314)
2. **Králíčková P**, Milota T, Litzman J, Malkusová I, Jílek D, Petanová J, Vydláková J, Zimulová A, Froňková E, Svatoň M, Kanderová V, Bloomfield M, Paráčková Z, Klocperk A, Haviger J, Kalina T, Šedivá A. CVID-Associated Tumors: Czech Nationwide Study Focused on Epidemiology, Immunology, and Genetic Background in a Cohort of Patients With CVID. *Front Immunol.* 2019 Jan 22; 9: 3135 (IF=5,51).
3. **Králíčková P**, Kubcová Š, Kočová E, Bartoš V, Souček O, Rozsival P, Vaníček H, Krčmová I, Ravčuková B, Grombiříková H, Freiburger T. Úspěšná léčba rituximabem pro granulomatózně-lymfocytární intersticiální plicní nemoc provázející běžnou variabilní imunodeficienci. *Epidemiol Mikrobiol Imunol.* 2018 Winter;67(3):142-148 (IF= 0,500).
4. **Králíčková P**, Kúhnová J, Souček O, Vodárek P, Žak P, Šimkovič M, Motyčková M, Smolej L, Malá E, Andrýs C, Krejsek J, Thon V. Antibodies against Pneumococcal Capsular Polysaccharides and Natural Anti-Galactosyl (Alpha-Gal) in Patients with Humoral Immunodeficiencies. *J Immunol Res.* 2017; 2017: 7304658 (IF=3,298).
5. Chovancová Z, **Králíčková P**, Pejchalová A, Bloomfield M, Nechvátalová J, Vlková M, Litzman J. Selective IgM Deficiency: Clinical and Laboratory Features of 17 Patients and a Review of the Literature. *J Clin Immunol.* 2017 Aug;37(6):559-574 (IF=4,227).

6. **Králíčková P**, Kuřecová B, Andrys C, Krčmová I, Jílek D, Vlková M, Litzman J. Pregnancy Outcome in Patients with Common Variable Immunodeficiency. *J Clin Immunol.* 2015 Aug;35(6):531-7 (IF=3,094)
7. Milota T, Šumník Z, Obermannová B, **Králíčková P**, Vondrák K, Klocperk A, Kayserová J, Šedivá A; ESID Registry Working Party. Negativity for Specific Autoantibodies in Patients with Type 1 Diabetes That Developed on a Background of Common Variable Immunodeficiency. *Int Arch Allergy Immunol.* 2015;168(3): 197-204 (IF=2,677).
8. **Králíčková P**, Malá E, Vokurková D, Krčmová I, Plíšková L, Štěpánová V, Bartoš V, Kobližek V, Tachecí I, Bureš J, Brožik J, Litzman J. Cytomegalovirus disease in patients with common variable immunodeficiency: three case reports. *Int Arch Allergy Immunol.* 2014;163(1):69-74 (IF=2,673).
9. **Králíčková P**, Nová M, Tachecí I. Onemocnění gastrointestinálního traktu u nemocných i primárními imunodeficity. *Postgraduální gastroenterologie a hematologie* 2017, 3(2): 96-102
10. **Králíčková P**. Současné formy imunoglobulinové substituční léčby. *Alergie* 2016, 2: 129-132)
11. **Králíčková P**, Malá E, Vokurková D, Souček O, Krčmová I, Hrnčír Z. Secondary humoral immunodeficiency in patients with systemic lupus erythematosus. *Vnitr Lek.* 2015 Sep;61(9):778-84.
12. **Králíčková P**, Krčmová I, Krejsek J. Imunoglobulinová substituční léčba u nemocných s primárními imunodeficity. *Praktický lékař*, 2014, 94(1), 10-159.
13. **Králíčková P**, Krčmová I, Krejsek J. Protilátkové imunodeficiency. *Postgraduální medicína*, 2012, 14(9), 980-988
14. Rozsival P, Pařízková E, **Králíčková P**. Primární imunodeficity u dětí, současné možnosti léčby. *Pediatric pro praxi*, 2012;13(3):149-152

Další publikace týkající se tematiky primárních imunodeficiencí:

1. Hakl R, Kuklínek P, Krčmová I, **Králíčková P**, Freiburger T, Janků P, Vlková M, Litzman J. Treatment of Hereditary Angioedema Attacks with Icatibant and Recombinant C1 Inhibitor During Pregnancy. *J Clin Immunol.* 2018 Oct;38(7): 810-815 (IF=4,22).

2. Longhurst H, Cicardi M, Craig T, Bork K, Grattan C, Baker J, Li HH, Reshef A, Bonner J, Bernstein JA, Anderson J, Lumry WR, Farkas H, Katelaris CH, Sussman GL, Jacobs J, Riedl M, Manning ME, Hebert J, Keith PK, Kivity S, Neri S, Levy DS, Baeza ML, Nathan R, Schwartz LB, Caballero T, Yang W, Crisan I, Hernandez MD, Hussain I, Tarzi M, Ritchie B, **Králíčková P**, Guilarte M, Rehman SM, Banerji A, Gower RG, Bensen-Kennedy D, Edelman J, Feuersenger H, Lawo JP, Machnig T, Pawaskar D, Pragst I, Zuraw BL; COMPACT Investigators. Prevention of Hereditary Angioedema Attacks with a Subcutaneous C1 Inhibitor. *N Engl J Med.* 2017;376(12):1131-1140 (IF=72,406).
3. Stuchlý J, Kanderová V, Vlková, Heřmanová I, Slámová L, Pelák O, Taraldsrud E, Jílek D, **Králíčková P**, Fevang B, Trková M, Hrušák O, Froňková E, Šedivá A, Litzman J, Kalina T. Common Variable Immunodeficiency patients with a phenotypic profile of immunosenescence present with thrombocytopenia. *Sci. Rep.* 2017; 7:39710 (IF=4,259)
4. Turley AJ, Gathmann B, Bangs C, Bradbury M, Seneviratne S, Gonzalez-Granado LI, Hackett S, Kutukculer H, Alachkar H, Hambleton S, Ritterbusch H, **Králíčková P**, Marodi L, Seidel MG, Dueckers G, Roesler J, Huissoon A, Baxendale H, Litzman J, Arkwright PD. Spectrum and Management of Complement Immunodeficiencies (Excluding Hereditary Angioedema) Across Europe, *J Clin Immuno*, 2015, 35(2): 199-205 (IF=3,094)
5. Šrotová A, Litzman J, Rumlarová Š, Drahošová M, Bartoňková D, Krčmová I, Roberts A, Jolles S, **Králíčková P**. Recurrent meningitis and inherited complement deficiency. *Epidemiol Mikrobiol Imunol.* 2016;65(4):238-242 (IF 0,500).
6. Belada D, Smolej L, Štěpánková P, **Králíčková P**, Freiberger T. Diffuse large B-cell lymphoma in a patient with hyper-IgE syndrome: successful treatment with risk-adapted rituximab-based immunochemotherapy. *Leukemia Research*, 2010;34(9), 232-234 (IF=2,555).
7. **Králíčková P**, Krčmová I, Andrýs C, Freiberger T, Krejsek J. Vrozený deficit C2 složky komplementu–variabilní klinická manifestace (kazuistiky a přehled problematiky). *Vnitřní lékařství*. Přijato k publikaci
8. **Králíčková P**. Hereditární angioedém a jeho léčba. *Remedia* 2016, 26(4):365-367
9. Krčmová I, **Králíčková P**. Hereditární a získaný angioedém. *Postgraduální medicína*. 2015, roč. 17, č. 3, s. 252-259.

10. **Králíčková P**, Slezák R, Vošmik M, Malá P, Hornychová H, Brožík J, Melichar B. Goodův syndrom (s thymomem spojená hypogamaglobulinémie) – 2 kazuistiky. *Vnitřní lékařství*, 2012, 58(2), 154-161
11. **Králíčková P**, Malá E, Rozsival P, Krtíčková J, Krčmová I: Bradykininem indukovaný angioedém a jeho diferenciální diagnostika. *Praktický lékař*, 2012, 92(7), 378-382.
12. **Králíčková P**, Burešová E, Krejsek J, Krčmová I. Atypická koincidence hereditárního angioedému, systémového lupus erythematoses a karcinomu jazyka. *Otorinolaryngologie a foniatrie*, 2011, 60(3), 163-168.
13. **Králíčková P**, Burešová E, Freiburger T, Tachecí I. Hereditární angioedém – opomíjená diagnóza. *Vnitřní lékařství*, 2010, 56(9), 927-931.
14. **Králíčková P**, Krčmová I, Vokurková D. Hyper IgE syndrom. *Kazuistiky v alergologii, pneumologii a ORL*, 2009, 6(3), 24-28.