

**Univerzita Karlova**  
**2. lékařská fakulta**

Studijní program: Imunologie



**MUDr. Tomáš Milota**

**DYSREGULACE IMUNITNÍHO SYSTÉMU**  
**U PACIENTŮ S BĚŽNÝM VARIABILNÍM IMUNODEFICITEM**

-

**DYSREGULATION OF IMMUNE SYSTEM**  
**IN PATIENTS WITH COMMON VARIABLE IMMUNODEFICIENCY**

Disertační práce

Vedoucí závěrečné práce: Doc. MUDr. Rudolf Horváth, PhD.

Praha, 2020

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval/a samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

**V Praze, dne 20.3. 2020**

**MUDr. Tomáš Milota**

## **Identifikační záznam**

MILOTA, Tomáš. *Dysregulace imunitního systému u pacientů s běžným variabilním imunodeficitem. [Dysregulation of immune system in patients with Common variable immunodeficiency]*. Praha, 2020. 60 s., 5 příl. Disertační práce (Ph.D.). Univerzita Karlova, 2. lékařská fakulta, Ústav imunologie. Školitel Horváth, Rudolf.

## Poděkování

V první řadě děkuji svému školiteli Doc. MUDr. Rudolfu Horváthovi, Ph.D. za podporu, trpělivost a vstřícnost po celou dobu řešení mého postgraduálního projektu a přípravy této disertační práce. Dále bych chtěl poděkovat svým mentorům, primárně prof. MUDr. Anně Šedivé, DSc., přednostce prof. MUDr. Jiřině Bartůňkové, DrSc. a všem kolegům z pracoviště Ústavu imunologie 2. LF UK a FN Motol, kteří mi poskytli přátelské prostředí a neocenitelné rady při řešení celé řady otázek a problémů. V neposlední řadě bych rád poděkoval všem pacientům, kteří se do tohoto projektu zapojili a bez nichž by nemohl být realizován.

Na řešení projektu se také podílela celá řada tuzemských a zahraničních, klinických i laboratorních pracovišť:

Z laboratorních výzkumných a vědeckých pracovišť se jednalo především o Childhood Leukemia Investigation Prague (Doc. MUDr. Eva Froňková, PhD., Doc. MUDr. Tomáš Kalina, PhD., MUDr. Michael Svatoň, RNDr. Veronika Kanderová, PhD.): spolupráce při genetické analýze celoxomového sekvenování (WES) metodami sekvenování příští generace (NGS), provádění a designování funkčních vyšetření (FACS, phosphoflow)

Z tuzemských klinických pracovišť pak o Ústav alergologie a klinické imunologie Fakultní nemocnice v Hradci Králové (Doc. MUDr. Pavlína Králíčková), Ústav alergologie a klinické imunologie Fakultní nemocnice U Svaté Anny v Brně (Prof. MUDr. Jiří Litzman), Ústav alergologie a klinické imunologie Fakultní nemocnice v Plzni (MUDr. Ivana Malkusová), Oddělení alergologie a imunologie Zdravotní ústav v Ústí nad Labem (MUDr. Dalibor Jílek): spolupráce při sestavování kohort pacientů

Ze zahraničních pracovišť se jednalo především o The Department of Immunology, School of Medicine, Trinity College and St James's Hospital, Dublin, Ireland (Tanya I. Coulter), The Center for Chronic Immunodeficiency, Medical Center – University of Freiburg, Freiburg, Germany (Maria Eleonora Maccari)

Řešení projektu bylo podpořeno granty Grantové agentury Univerzity Karlovy (GAUK) 435716 a Agentury pro zdravotnický výzkum Ministerstva zdravotnictví České republiky NV18-05-00162.

# Obsah

1	Primární imunodeficity – úvod do problematiky .....	1
2	Klasifikace PID .....	2
3	Epidemiologie PID .....	4
4	Primární protilátkové deficiencie .....	7
5	Etiopatogeneze primárních protilátkových deficiencí.....	9
6	Vývoj B lymfocytů.....	12
6.1	B buněčný receptor a jeho signální dráhy .....	14
6.2	Vývojová stádia B lymfocytů .....	16
6.3	Regulační mechanismy vývoje B lymfocytů.....	18
7	Běžný variabilní imunodeficit .....	20
7.1	Charakteristika onemocnění a jeho diagnostika .....	20
7.2	Epidemiologie běžného variabilního imunodeficitu a klinické projevy.....	22
7.3	Etiopatogeneze běžného variabilního imunodeficitu .....	26
7.4	Klasifikace běžného variabilního imunodeficitu .....	28
7.4.1	Freiburská klasifikace .....	28
7.4.2	Pařížská klasifikace .....	29
7.4.3	Euroclass klasifikace .....	29
7.5	Mechanismy dysregulace imunitního systému u běžného variabilního imunodeficitu 30	
7.6	Terapie běžného variabilního imunodeficitu .....	31
8	Cíle práce.....	36
9	Výsledky.....	37
9.1	Plicní neinfekčních projevy CVID z pohledu bronchiálního astmatu a jeho charakteru .....	37
9.2	Nádorová onemocnění u pacientů s CVID z pohledu epidemiologie, rizikových faktorů přispívajících k jejich rozvoji a genetickému pozadí.....	38
9.3	Význam genetického vyšetření pro diagnostiku a terapii pacientů s CVID.....	40
9.3.1	PI3KCD jako příklad monogenní příčiny CVID.....	40
9.3.2	Inhibice PI3K a AKT – mTOR dráhy jako příklad specifické terapie CVID ....	42
9.4	Postavení imunoglobulinové substituční terapie v léčbě pacientů s CVID.....	43
10	Závěr a diskuze.....	45
11	Použitá literatura .....	49
12	Seznam vlastních publikací .....	55
12.1	Zahraniční recenzované publikace s impakt faktorem.....	55
12.2	Domácí recenzované publikace .....	55
13	Abecední seznam zkratk.....	57
14	Přílohy disertační práce .....	61

## Abstrakt

Tato disertační práce je koncipována jako soubor experimentálních prací publikovaných v rámci projektů řešených na Ústavu imunologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy. Společným jmenovatelem zahrnutých prací je bazální a aplikovaný výzkum primárních imunodeficitů (PID) se zaměřením na běžný variabilní imunodeficit (CVID).

První, teoretická část je rozdělena do dvou sekcí. První sekce je věnována obecné charakteristice PID protilátkového typu. Druhá sekce se zaměřuje na CVID se zaměřením na epidemiologické, etiopatogenetické, klasifikační, klinické a terapeutické aspekty onemocnění. Pozornost je věnována zejména neinfekčním komplikacím, které se významně podílejí na celkové mortalitě a morbiditě pacientů.

Druhou část disertační práce tvoří soubor vlastních publikovaných prací, které se věnují identifikaci konkrétních mechanismů dysregulace imunitního systému a jejich klinickým projevům u CVID a jsou opatřeny stručným komentářem. Spektrum publikovaných prací se dotýká čtyř základních studovaných aspektů CVID: 1) charakteru plicních komplikací, především z pohledu bronchiálního astmatu, 2) charakteru asociovaných malignit, 3) významu genetického pozadí a jeho vztahu ke specifické terapii, 4) terapii se zaměřením na imunoglobulinovou substituci.

Experimentální práce, které do koncepce disertační práce nezapadají, a jiné typy publikací, např. přehledné články a články z českých neimpaktovaných, recenzovaných časopisů, jsou uvedeny na konci v seznamu publikované literatury (kapitola 12).

**Klíčová slova:** *běžný variabilní imunodeficit, asthma bronchiale, genetické vyšetření, nádorová onemocnění, imunoglobulinová substituční terapie*

## **Abstract**

This thesis includes set of published experimental results, which were obtained at the Department of Immunology, Second Faculty of Medicine Charles University within the project focused on the basal and applied research of the Primary immunodeficiencies (PID), particularly Common variable immunodeficiency (CVID).

The first, theoretical part, is divided into two sections. The first section is dedicated to the general aspects of Primary antibody deficiencies (PAD). The second section is focused on epidemiology, etiopathogenesis, classification, clinical and therapeutical aspects of CVID. The main consideration is devoted particularly to non-infectious complications, which significantly contribute to morbidity and mortality of CVID patients.

The second part consists of the set of publications describing specific mechanisms of immune system dysregulation and their clinical manifestation, which are briefly commented. The spectrum of issues resolved within the project covers following basic aspects: 1) characteristics of lung complications in CVID from the point of view of bronchial asthma, 2) characteristics of associated malignancies, 3) significance of genetic background for the specific treatment, 4) therapy of CVID focused on aspects of immunoglobulin substitution.

The results of the other experimental projects, which are not consistent with this thesis, and other publications including review articles or articles published in the Czech peer reviewed journals (without impact factor) are mentioned in the end in the chapter 13 „The list of publications“

**Key words:** *Common variable immunodeficiency , bronchial asthma, genetics, malignancies, immunoglobulin substitution therapy*

## 1 Primární imunodeficity – úvod do problematiky

Primární imunodeficiency (PID) jsou heterogenní skupinou vrozených poruch imunitního systému zasahující do celého spektra mechanismů vrozené i adaptivní imunity. Mezi nejvíce zastoupené vrozené poruchy imunity patří primární protilátkové imunodeficiency (PAD), které tvoří více než polovinu všech PID. Heterogenita se projevuje v mnoha aspektech zahrnujících epidemiologii, etiopatogenezi a klinické projevy. Odlišná incidence a prevalence se odráží nejen ve významných regionálních rozdílech, ale výskyt jednotlivých PID se různí i napříč věkovými skupinami a pohlavími. U celé řady poruch byla odhalena genetická podstata vysvětlující etiopatogenezi onemocnění. Vedle monogenní etiologie se však u některých z nich předpokládá i polygenní typ dědičnosti s multifaktoriálními vlivy. Odhalení genetické příčiny nám pomáhá nejen určit riziko rozvoje vlastního PID v rámci genetického poradenství, ale v mnoha případech také umožňuje identifikovat riziko rozvoje celé řady komplikací, a v některých případech i zahájit specifickou terapii. Klinicky se PID projevují především recidivujícími nebo chronickými infekcemi. Kromě infekčních komplikací se ale také u mnohých z nich vyskytují neinfekční projevy na podkladě dysregulace imunitních mechanismů zahrnující široké spektrum autoimunitních, lymfoproliferativních, granulomatózních či alergických onemocnění, včetně zvýšené incidence malignit. Epidemiologické znalosti, pochopení etiopatogeneze a její vliv na manifestaci jednotlivých klinických jednotek tak hrají významnou úlohu nejen včasné diagnostice, ale i v účinné terapii a prevenci komplikací. Příklad komplexního PID s oběma typy projevů (infekčními, i neinfekčními) je běžný variabilní imunodeficit - CVID. Na modelu tohoto onemocnění lze demonstrovat rozmanitost mechanismů vedoucích k dysregulaci imunitního systému, variabilitu klinických projevů a v neposlední řadě také význam genetického vyšetření při identifikaci rozvoje závažných komplikací.

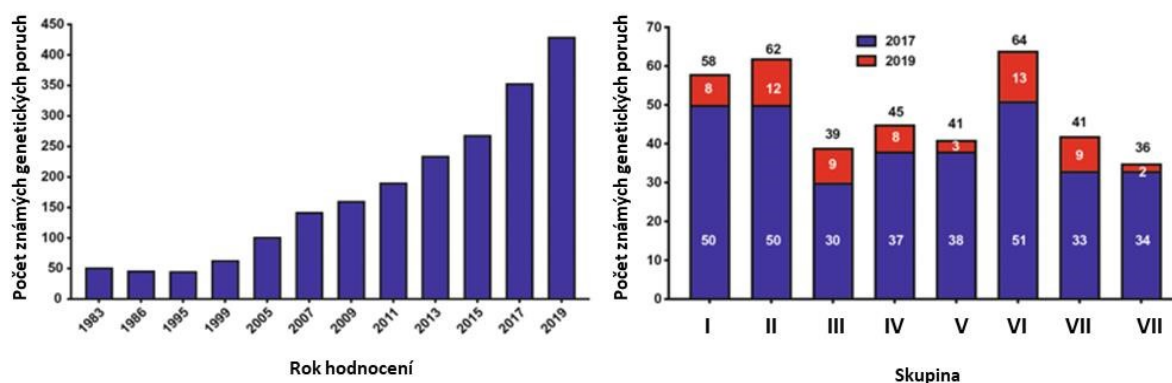


## 2 Klasifikace PID

Na základě fenotypického projevu a převažující poruchy mohou být PID rozděleny do několika skupin. V současnosti je známo několik klasifikačních schémat, mezi kterými existují určité rozdíly. V následujícím přehledu jsou uvedeny příklady těch nejpoužívanějších. První klasifikace PID byla publikována v roce 1970 pod záštitou Světové zdravotnické organizace (WHO). Iniciální zpráva zahrnovala 16 odlišných klinických jednotek. O roku 1999 pak tuto aktivitu převzala Komise pro PID Mezinárodní unie imunologických společností (IUIS). Postupně bylo identifikováno dalších několik set fenotypově odlišných klinických jednotek a kauzálních genů. (Picard, Bobby Gaspar et al. 2018)

Poslední klasifikace z roku 2019 zahrnuje 404 odlišných poruch s 430 identifikovanými geny spojených s rozvojem choroby. K největšímu nárůstu nových genů asociovaných s daným PID oproti roku 2018 došlo ve skupině poruch vrozené imunity (13 nových genů), CID se syndromickými rysy (12 genů), primárních protilátkových imunodeficitů a autoinflamatorních syndromů (obě skupiny s 9 novými geny). U celé řady z nich však zůstává genetická podstata neobjasněna. (Obrázek 1)

Obrázek 1



**Obr. 1:** Vývoj počtu známých genetických poruch asociovaných s PID v letech 1983 – 2017 (vlevo), nárůst nově objevených genetických příčin PID v letech 2017 - 2019 dle jednotlivých kategorií (vpravo) PID. (Tangye, Al-Herz et al. 2020)

Tyto klinické jednotky jsou na základě IUIS klasifikace rozděleny do 9 kategorií: 1) imunodeficiencie postihující buněčnou a protilátkovou imunitu zahrnující těžké kombinované imunodeficiencie (SCID) a kombinované imunodeficiencie (CID) s méně závažným postižením; 2) CID se syndromickými rysy; 3) imunodeficiencie s převahou poruchy tvorby protilátek (PAD); 4) choroby spojené s narušenou regulací imunitního systému; 5) vrozené poruchy počtu a funkce fagocytů; 6) poruchy mechanismů vrozené imunity; 7) Autoinflamatorní syndromy; 8) poruchy komplementu; 9) fenokopie PID. (Tangye, Al-Herz et al. 2020) Vedle IUIS klasifikace je také používána klasifikace Evropské společnosti pro imunodeficiencie (ESID). Srovnání rozdílů v obou klasifikačních schématech je uvedeno v Tabulce 1. (Seidel, Kindle et al. 2019)

**Tabulka 1**

<b>IUIS klasifikace PID</b>	<b>ESID klasifikace PID</b>
1) Imunodeficiencie s převahou poruchy tvorby protilátek	1) Deficiencie s převahou poruchy tvorby protilátek
2) Imunodeficiencie postihující buněčnou a protilátkovou imunitu	2) Deficiencie s převahou poruchy T lymfocytů
3) Vrozené poruchy počtu a funkce fagocytů	3) Poruchy fagocytózy
4) Poruchy komplementu	4) Poruchy komplementu
5) CID se syndromickými rysy	5) Ostatní dobře definované syndromy
6) Choroby spojené s narušenou regulací imunitního systému	6) Syndromy spojené s narušenou regulací imunitního systému
7) Autoinflamatorní syndromy	7) Autoinflamatorní syndromy
8) Poruchy mechanismů vrozené imunity	8) Poruchy mechanismů vrozené imunity
9) Fenokopie PID	9) Neklasifikované PID

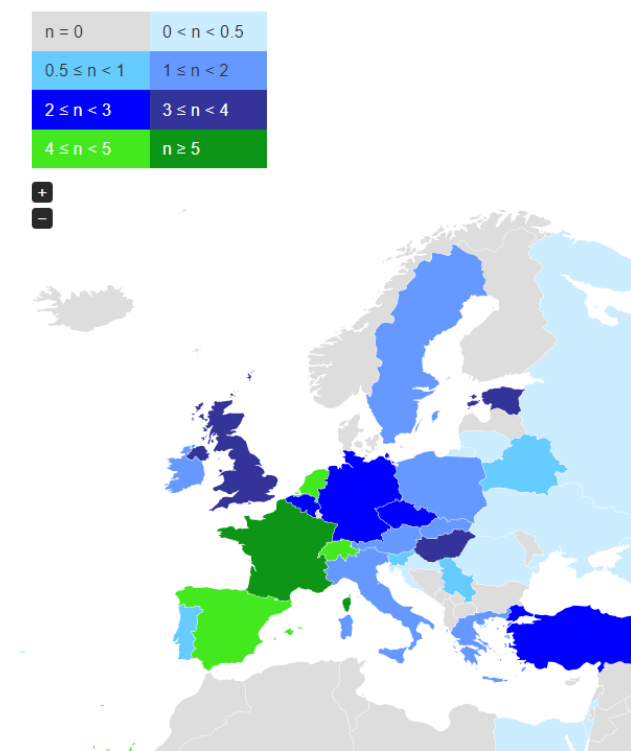
**Tab. 1:** Srovnání IUIS a ESID klasifikace PID. (Seidel, Kindle et al. 2019, Tangye, Al-Herz et al. 2020)

### 3 Epidemiologie PID

Pro PID je charakteristická významná odlišnost incidence a prevalence jednotlivých klinických jednotek. Ta se projevuje regionálními rozdíly, zastoupením v jednotlivých věkových kategoriích a pohlavích. Podílí se na tom mnoho faktorů zahrnující například typ dědičnosti – dominance pacientů mužského pohlaví u X vázaných PID či výskyt autozomálně recesivně (AR) dědičných chorob v izolovaných populacích či v oblastech s vysokým podílem konsagvinních sňatků. Věkové rozdíly mezi jednotlivými typy PID, ale i v rámci jednoho onemocnění jsou dány především závažností onemocnění a jeho komplikací. SCID se obvykle manifestují do 1. roka života. Pokud není zahájena včasná a adekvátní terapie, následky bývají fatální. Oproti tomu PAD se manifestují v pozdním věku, velmi často až v dospělosti. Některé mohou být dokonce asymptomatické jako v případě selektivního IgA deficitu (sIgAdef). Neméně důležitým faktorem je také dostupnost diagnostických metod.

Ve sledování epidemiologických ukazatelů hrají významnou roli registry. Ty vznikají jak na mezinárodní, tak na národní úrovni. K jejich činnosti významně přispívají jednotlivá referenční centra. Na evropské úrovni je jedním z nejdůležitějších registrů ESID, jehož činnost byla zahájena v roce 2004. V současné době (poslední dostupné statistické údaje z roku 2014) zahrnuje 19355 pacientů s PID ze 126 evropských referenčních center. Na základě těchto údajů byly zjištěny významné regionální rozdíly v prevalenci. Mezi regiony s nejnižší udávanou prevalencí patří především země severní a východní Evropy s výjimkou Slovenské republiky. Nejvyšší zastoupení v prevalenci pak mají Francie a Velká Británie. Prevalence PID v České republice se odhaduje na 3,31 / 100 000 obyvatel. Srovnání prevalencí PID jednotlivých členských zemí ESID je uvedeno na Obrázku 2. (Grimbacher and Party 2014)

**Obrázek 2**



**Obr. 2:** Srovnání prevalence PID v jednotlivých členských zemích ESID, převzato z (n- počet případů na 100 000 obyvatel). (Grimbacher and Party 2014)

Nejvýznamněji zastoupenou skupinou jsou protilátkové deficiencie tvořící více než polovinu PID pacientů (56,7%) následovanou ostatními dobře definovanými syndromy (13,9%), poruchami fagocytózy (8,7%), deficity s převahou poruch T lymfocytů (7,5%) a poruchami komplementu (4,9%). Ostatní skupiny jsou zastoupeny méně než 4% pacientů (Mahlaoui, 2014).

V České republice je epidemiologická situace PID sledovaná od roku 2012, kdy byla pod záštitou IBA MUNI (Institut biostatistiky a analýzy Masarykovy Univerzity v Brně) zřízena Databáze primárních imunodeficiencí, do které je zahrnuto celkem 19 referenčních center z celé České republiky. Databáze aktuálně obsahuje data 1036 pacientů (aktualizace k datu 31.12. 2019). Podobně jako v ESID registru jsou nejvíce zastoupenou skupinou PAD, tvořící více než polovinu všech pacientů (51,7%), následovanou poruchami komplementového systému a ostatními dobře definovanými syndromy (obě 17,8%). Ostatní skupiny pak tvoří méně než 3% všech zahrnutých pacientů. Podobné zastoupení PID pacientů je také v kohortě pacientů našeho referenčního centra Ústavu imunologie 2. lékařské fakulty

Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Motol v Praze (ÚI 2.LF UK a FNM) - data interního registru PID pacientů. Srovnání zastoupení jednotlivých kategorií PID na evropské, národní úrovni a v rámci našeho referenčního centra je uvedeno v Tabulce 2. (nepublikovaná data).

**Tabulka 2**

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

**Tab. 2:** Srovnání zastoupení jednotlivých kategorií PID na evropské (ESID Registry), národní úrovni (Databáze PID ČR) a v rámci referenčního centra (Ústav imunologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Motol)

## 4 Primární protilátkové deficience

Tvoří nejvýznamnější skupinu primárních imunodeficiencí zahrnující více než polovinu všech pacientů s PID. Jedná se o velmi heterogenní skupinu s pestrými fenotypickými projevy sahajícími od asymptomatických pacientů po onemocnění s velmi těžkým průběhem komplikovaným závažnými infekčními i neinfekčními projevy. Narušená tvorba protilátek může být v rozsahu chybějící třídy imunoglobulinů (selektivní IgA nebo IgM deficit), podtřídy (IgG1 – IgG4 selektivní deficit) nebo specifické tvorby protilátek s normální hladinou imunoglobulinů, až po komplexní PAD charakteru CVID či XLA (X-vázanou (Brutonovu) agammaglobulinémií). (Durandy, Kracker et al. 2013)

Narušená tvorba protilátek také doprovází SCID/CID, který vzniká nejčastěji na podkladě narušeného vývoje T i B lymfocytů (T-B- SCID/CID) nebo T lymfocytů (T-B+ SCID/CID), které nejsou schopné poskytnout důležité signály ve formě kostimulace či cytokinového prostředí nutného ke správnému vývoji B lymfocytů. Mimo zastoupení T a B lymfocytů je především pro klasifikaci SCID nutná také znalost počtu NK buněk. Na základě této klasifikace pak lze odhadnout primární genetickou příčinu a indikovat cílené genetické vyšetření k jejímu potvrzení. V některých případech (především u CID) je ale k jejímu odhalení nutné provedení vyšetření zahrnující panel genů nebo přímo celoexomové sekvencování metodou -Next Generation Sequencing (NGS). Rozdíl mezi SCID a CID, které mohou být způsobeny mutacemi ve stejném genu s rozdílným dopadem na funkci proteinu (hypomorfní mutace), jsou dány především fenotypem projevů. Společnými znaky jsou nízký počet nebo úplná absence CD3/CD4/CD8 lymfocytů, redukovaný počet naivních CD4/CD8 lymfocytů, zvýšený počet  $\gamma/\delta$  T lymfocytů a snížená nebo zcela chybějící proliferační odpověď na mitogeny nebo stimulaci T buněčného receptoru (TCR). SCID se pak od CID liší především ve věku manifestace (SCID se objevují u dětí do jednoho roku věku) a spektrem neinfekčních komplikací rozvíjejících se především na podkladě dysregulace imunitního systému (ty jsou u SCID vzácné). Výše uvedené rozdíly se také odrážejí v diagnostických kritériích SCID a CID. (Seidel, Kindle et al. 2019) Fenotypové spektrum pak od CID přechází ke komplexním PAD, kde dominuje především narušená produkce imunoglobulinů a specifických protilátek doprovázená zvýšenou vnímavostí k infekcím, které zahrnují odlišné spektrum patogenů a nemají tolik závažný průběh. Ve významné míře jsou ale také přítomny již zmíněné neinfekční komplikace (blíže viz kapitola 7). (Bertinchamp, Gerard et al. 2016, Chapel 2016)

Jak již bylo uvedeno výše, nejčastějšími vrozenými poruchami imunity jsou PAD. I mezi těmito onemocněními jsou ale, co se týče epidemiologie, významné rozdíly. Nejčastějším PAD a vrozeným imunodeficitem vůbec je sIgAdef s prevalencí 114 – 613 pacientů na 100 000 obyvatel. (Yazdani, Azizi et al. 2017) Reálné číslo bude ale pravděpodobně vyšší vzhledem k faktu, že sIgAdef je velmi často asymptomatický a v mnoha případech je tak jeho diagnostika náhodná. Druhým nejčastějším PAD je CVID s prevalencí 0,6 – 3,8 pacientů na 100 000, jedná se již tedy o relativně vzácnější onemocnění. (Selenius, Martelius et al. 2017) Dědičnost u sIgAdef a CVID je obecně považována za polygenní s multifaktoriálními vlivy, monogenní příčina je odhalena pouze u malého procenta pacientů. Dalším zástupcem této skupiny je onemocnění X vázaná agammaglobulinémie, také známá pod označením Brutonova (XLA), které se řadí již k vzácným protilátkovým imunodeficitům, jehož prevalence se blíží SCID. (Toth, Volokha et al. 2009) Lokalizace genů BTK u XLA a IL2RA ( $\gamma$  chain deficiencie, nejčastěji diagnostikovaný SCID) na X chromozomu pak k onemocnění predisponuje výhradně muže, ženy jsou v případě přítomnosti poškozené alely přenašečkami (pozn: výjimka z tohoto pravidla může být způsobena preferenční inaktivací X chromozomu při vzniku Barrova tělíska). Ostatní SCID jsou pak velmi vzácná onemocnění. To je dáno i autozomálně recesivním typem dědičnosti. Zvýšený výskyt těchto onemocnění je pozorován hlavně u izolovaných populací či v oblastech s vyšší konsanguinitou. Příklady prevalence některých PID jsou uvedeny v Tabulce 3.

**Tabulka 3**

PID (kat.)	Prevalence (:100 000)	Gen (pozice na chromozomu)	Reference
slgAD (PAD)	114 – 613	Neznámý (polygenní dědičnost)	[1]
CVID (PAD)	0,4 – 6,9	Známý pouze u 10 -15%	[2]
XLA (PAD)	0,07	<i>BTK</i> (Xq22.1)	[3]
X-HIGM (CID)	0,1	<i>CD154/CD40L</i> (Xq26.3)	[4]
SCID (CID):	1 (všechny SCID)	-----	
<i>γ chain deficiency</i>	50% SCID	<i>IL2RA</i> (10p15.1)	[5]
<i>ADA deficiency</i>	15% SCID	<i>ADA</i> (20q13.12)	[5]
<i>IL7Rα deficiency</i>	10% SCID	<i>IL-7R</i> (5p13.2)	[5]
<i>Jak-3 deficiency</i>	6,5% SCID	<i>JAK3</i> (19p13.11)	[5]
<i>RAG1 deficiency</i>	3% SCID	<i>RAG1</i> (11p12)	[5]
<i>RAG2 deficiency</i>	3% SCID	<i>RAG2</i> (11p12)	[5]

**Tab. 3:** Epidemiologie vybraných protilátkových, těžkých kombinovaných a kombinovaných imunodeficitů. [1] (Yazdani, Azizi et al. 2017); [2] (Selenius, Martelius et al. 2017); [3] (Toth, Volokha et al. 2009); [4] (Yazdani, Fekrvand et al. 2019); [5] (Kelly, Tam et al. 2013)

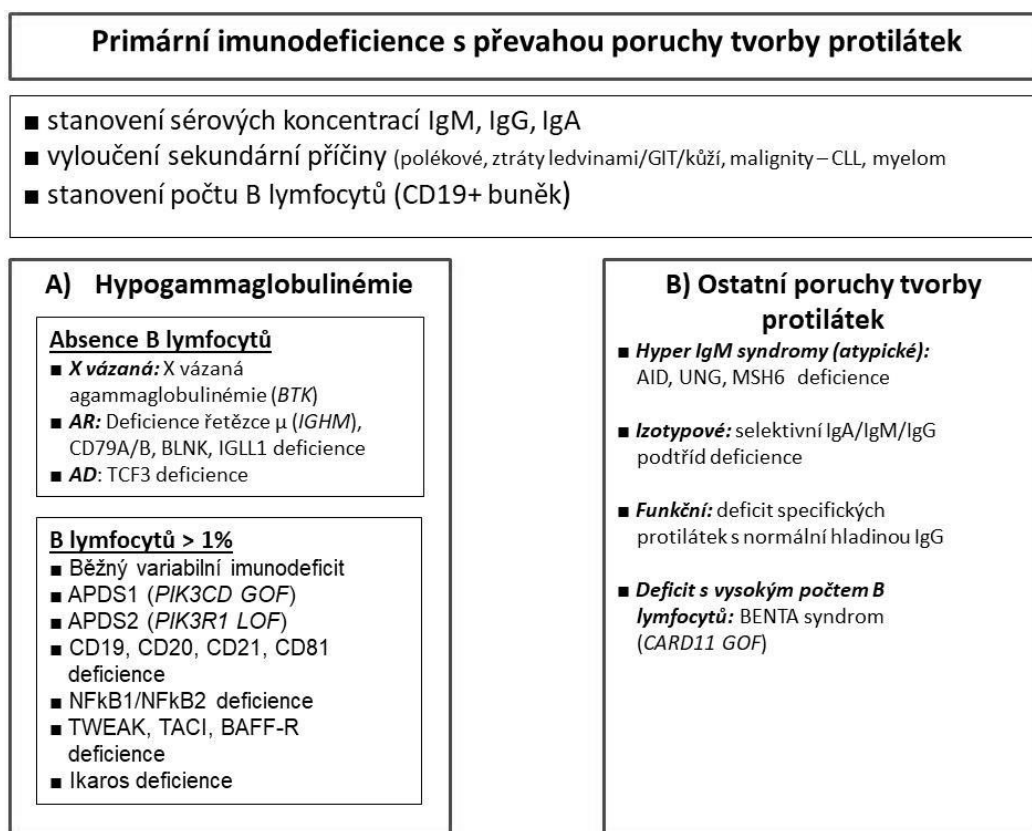
## 5 Etiopatogeneze primárních protilátkových deficiencí

Etiopatogeneze PAD není vždy zcela objasněna. Porušený vývoj nebo funkce může být na úrovni B lymfocytu samotného, ale také v celé řadě mechanismů podílejících se na těchto procesech. Na základě toho dělíme PAD na onemocnění s absencí B lymfocytů, mezi které patří již zmíněná XLA. U té dochází k mutaci v genu pro Brutonovu tyrozin kinázu (BTK), která hraje důležitou roli nejen v signalizaci BCR, ale také při vývoji B lymfocytů (viz kapitola 6). Existují ale také autozomálně recesivní (*CD79A/CD79B* deficiencie, *BLNK* deficiencie) a autozomálně dominantní (*TCF3* deficiencie) varianty tohoto onemocnění. Mezi PAD s přítomnými B lymfocyty v periferní krvi (>1% z lymfocytů) se pak řadí selektivní imunodeficiencie a běžný variabilní imunodeficit. Porucha může nastat ale také na úrovni ostatních složek imunitního systému, zahrnující T lymfocyty i složky vrozené



imunity, které do vývoje B lymfocytů významně zasahují. Narušenou produkci protilátek tak často diagnostikujeme i u pacientů ze skupiny těžkých SCID a CID. V tomto případě je narušený vývoj současně T i B lymfocytů (T-B- SCID: RAG1/RAG2 deficiencie, ARTEMIS deficiencie) či pouze T lymfocytů, které ale nejsou schopné poskytnout důležité signály pro další vývoj B lymfocytů (T-B+ SCID:  $\gamma$  chain deficiencie, IL-7R $\alpha$  deficiencie, JAK-3 deficiencie). Podobná situace nastává i u Hyper IgM syndromu (HIGM). U nejčastější formy (HIGM typ 1) se jedná o mutaci v genu pro kostimulační molekulu důležitou pro iniciaci izotypového přesmyku CD40L či její receptor CD40 (HIGM typ 3). Může dojít ale také k mutacím v genech, které se účastní dalších procesů ve vývoji B lymfocytů (resp. BCR), jako jsou somatické hypermutace. Příkladem je porucha genu pro AICDA (aktivací indukovanou cytidin deaminázu) způsobující HIGM typ 2. Na základě porušené složky imunitního systému bylo navrženo několik klasifikačních schémat. K nejpoužívanějším patří již zmíněná IUIS klasifikace. V následujícím přehledu jsou uvedena klasifikační schémata pro primární imunodeficiencie s predominantní poruchou tvorby protilátek a pro těžké kombinované a kombinované imunodeficiency. (Obrázek 2 a 3) (Bousfiha, Jeddane et al. 2018)

**Obrázek 2**



**Obr. 2:** IUIS klasifikace PID s převahou poruchy tvorby protilátek. (Bousfiha, Jeddane et al. 2018)

Obrázek 3

Primární imunodeficiencies postihující buněčnou i humorální imunitu	
<b>A) Těžké kombinované imunodeficiency (SCID)</b>	
<b><u>T-B- SCID</u></b>	<b><u>T-B+ SCID</u></b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>■ <b>T-B-NK-:</b> ADA deficiencie Retikulární dysgeneze (<i>AK2</i>)</li> <li>■ <b>T-B- NK+:</b> RAG1/2, DCLRE1C (<i>Artemis</i>), DNA LIG4, CERNUNNOS (<i>NHEJ1</i>), DNA PKcs (<i>PRKDC</i>) deficiencie</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ <b>T-B+NK-:</b> γ chain deficiencie (<i>IL2RG</i>), JAK-3 deficiencie</li> <li>■ <b>T-B+ NK+:</b> IL7Rα deficiencie (<i>IL7R</i>), CD3d, CD3e, CD247, CD45 (<i>PTPRC</i>), Coronin-1A (<i>CORO1A</i>), FOXN1 deficiencie</li> </ul>
<b>B) Kombinované imunodeficiency (CID) méně závažné než SCID</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>■ <b>Nízké CD4+ T lymfocyty:</b> MHC II deficiencie (<i>RFXANK, CIITA, RFX5, RFXAP</i>), MAGT1, LCK, UNC119 deficiencie</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ <b>Nízké CD8+ T lymfocyty:</b> CD8A, ZAP-70 deficiencie MHC I deficiencie (<i>TAP1, TAP2, TABP, B-2-M</i>)</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>■ <b>Nízké B lymfocyty:</b> DOCK8, MST1 (<i>STK4</i>), IL-21, NIK (<i>MAP3K14</i>), Moesin (<i>MSN</i>) deficiencie</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ <b>Nízké hladiny Ig:</b> DOCK2, CARD 11 (<i>CARD11 LOF</i>), BCL-10, IKBKB, ICOS, TFRC, RELB, CD40/CD40L (<i>CD154</i>) deficiencie</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>■ <b>Normální hladiny Ig:</b> CD3g, TCRα (<i>TRAC</i>), BCL11B, OX40, LAT deficiencie</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ <b>Porucha tvorby specifických protilátek</b> IL-21R, MALT1 deficiencie</li> </ul>

**Obr. 3:** IUIS klasifikace PID charakteru těžkých kombinovaných a kombinovaných imunodeficitů. (Bousfiha, Jeddane et al. 2018)

Vzhledem k zásadní roli narušeného vývoje B lymfocytů v patogenezi PAD bude tomuto tématu věnována následující kapitola.

## 6 Vývoj B lymfocytů

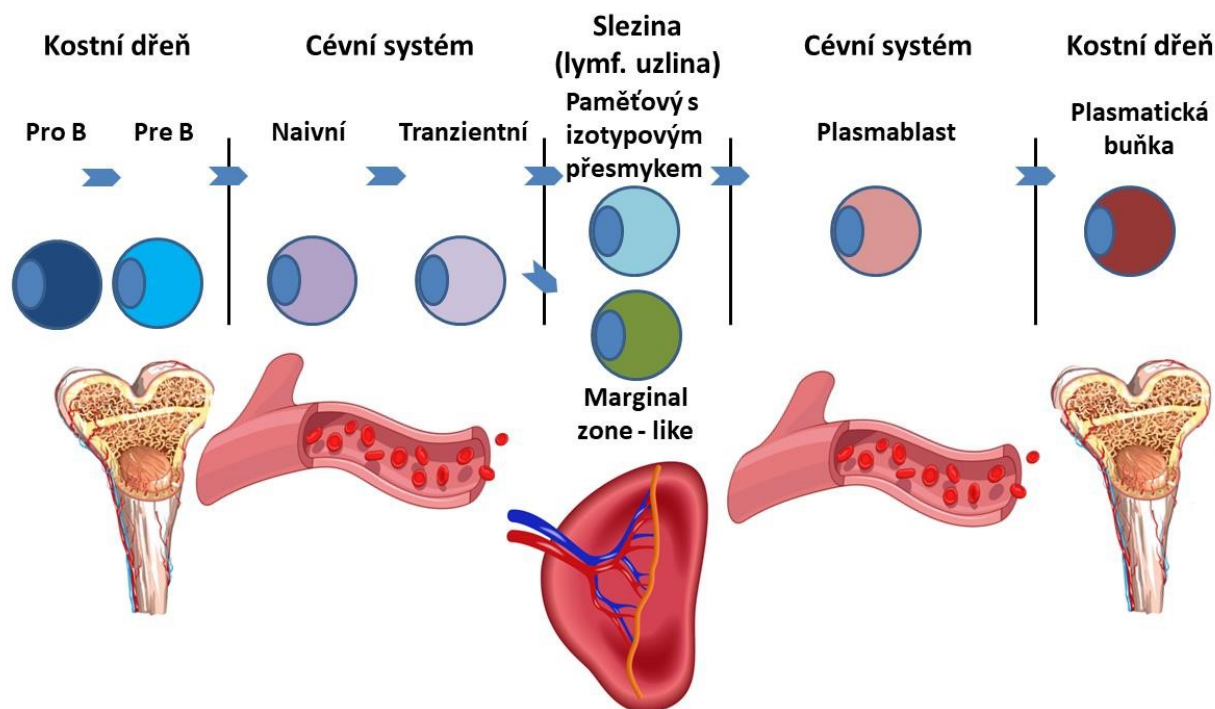
Vývoj B lymfocytu je zahájen podobně jako u ostatních leukocytů z hematopoetické kmenové buňky. Ta se následně diferencuje do společného myeloidního (CMP, Common Myeloid Progenitor) a lymfoidního progenitoru (MLP, Multi-lymphoid Progenitor), který je zásadní nejen pro vývoj B buněk, ale i ostatních typů lymfocytů - T lymfocytů, NK buněk (Natural Killers) a ostatních ILC (Innate Lymphoid Cells). V kostní dřeni pak pokračuje vývoj z MLP do stádia pro-B lymfocytu a pre-B lymfocytu. Ty posléze opouštějí kostní dřeň ve formě nezralého B lymfocytu, který migruje do periferních lymfatických orgánů. V celém tomto procesu hrají klíčovou roli především geny zahrnuté ve vývoji B buněčného receptoru (BCR, B cell receptor) a jeho signálních drahách. BCR se svou strukturou podobá sekrečním imunoglobulinům – glykoproteinům z imunoglobulinové superrodiny tvořeným dvěma lehkými a těžkými řetězci spojenými navzájem disulfidickými můstky.

Pre-B lymfocyt nejprve začíná na svém povrchu exprimovat těžký řetěz (H, z angl. Heavy) po přeskupení (rekombinací) odpovídajících genových segmentů V (variable), D (diversity), J (joining) pro FAB (antigen vázající fragment, z angl. Fragment Antigen-Binding) a C (constant) pro FC (Fragment Crystallizable). Ten určuje typ těžkého řetězce. V první fázi vývoje lymfocytu je exprimovaný typ  $\mu$ H nebo  $\delta$ H. Geny pro V, D, J i C segmenty těžkého řetězce se nalézají na chromozomu 14. Protože v této fázi není lehký řetězec (L, z angl. Light) vytvořen, páruje se  $\mu$ H s náhradním lehkým řetězcem (SLC, z angl. Surrogate Light Chain). Ten strukturou odpovídá heterodimeru, který je složen z polypeptidu označovaný jako VpreB (CD179a) a lambda ( $\lambda$ )-like (nebo také  $\lambda$  5). Zároveň se tento proces stává jedním z klíčových kontrolních bodů. Pokud nedojde ke správnému spojení H řetězce a SLC, je celý proces ukončen a dochází k zahájení přeskupování na druhé alele. V případě selhání přeskupení i na druhé alele je indukována apoptóza a nefunkční B lymfocyt je eliminován. Pokud je však spojení úspěšné, pokračuje vývoj B lymfocytu a BCR tvorbou L řetězce, kde probíhá podobný proces. Tento složitý, ale velmi důležitý proces, se označuje jako alelická exkluze. B lymfocyty tak mají na svém povrchu BCR (a následně produkují protilátky), které se skládají ze 2 identických H řetězců a 2 shodných L řetězců. Celý proces tvorby lehkého řetězce je pak opět zahájen přeskupením (rekombinací) genových segmentů pro FAB i FC. Ty však obsahují pouze regiony V, J a C. Vznikají buď řetězce kappa ( $\kappa$ ) nebo lambda ( $\lambda$ ). L řetězec následně vytěsňuje z vazby SLC a váže se na H řetězec. I tento bod je důležitým kontrolním krokem zajišťující selekci B lymfocytů pouze s funkčním BCR. Na vlastní rekombinaci (H i L řetězců) se pak podílejí především enzymy ze skupiny rekombináz typických pro lymfoidní buňky – RAG1 a RAG2. Ty rozeznávají specifické DNA sekvence,

tzv. RSS (Recombination Signal Sequences), které ohraničují místo rekombinace, kde dochází k dvojitřláknovým zlomům a vystřížení DNA. Reparace pak probíhá cestou nehomologní rekombinace (NHEJ, Non-homologous End Joining). Té se účastní celá řada enzymů jako Artemis, DNA-PK (DNA dependentní proteinkináza), Ku70/80, DNA ligáza IV, XRCC4. Další variabilita je zajištěna působením TdT (terminální deoxynukleotidyl transferáza), která náhodně vnáší nukleotidy do řetězce DNA. (Roth 2014)

Pokud vše proběhne úspěšně, B lymfocyt přechází do vývojového stádia naivních B lymfocytů, které mají významnou proliferační aktivitu. Naivní B lymfocyty se posléze přeměňují ve stádium tranzientních B lymfocytů a migrují cévním systémem do germinálních center periferních lymfatických orgánů (slezina, lymfatické uzliny, MALT), kde jejich vývoj pokračuje. (LeBien and Tedder 2008) Migrace je zajišťována především chemokinovými receptory (CCR7, CXCR4 a CXCR5) a jejich ligandy. (Okada, Ngo et al. 2002) Zde se setkávají s T pomocnými lymfocyty (Th), které poskytující B buňkám klíčové signály pro další vývoj. Jedná se především o kostimulační signál zprostředkovaný mezi molekulou CD40L (CD154) a jejím receptorem CD40. K dalším důležitým kostimulačním molekulám pak patří SH2D1A nebo ICOS. Tato interakce spouští 2 klíčové děje – izotypový přesmyk a proces hypersomatických mutací. (Stavnezer and Schrader 2014) Výsledkem je vznik paměťového B lymfocytu s izotypovým přesmykem, který je schopný produkovat imunoglobuliny IgG, IgA a IgE. Ten se pak dále mění v plasmablast, který zpět migruje do kostní dřeně. Zde je vývoj B lymfocytu ukončen na úrovni dlouhožijící plasmatické buňky. (Warnatz and Schlesier 2008) (Obrázek 4)

Obrázek 4



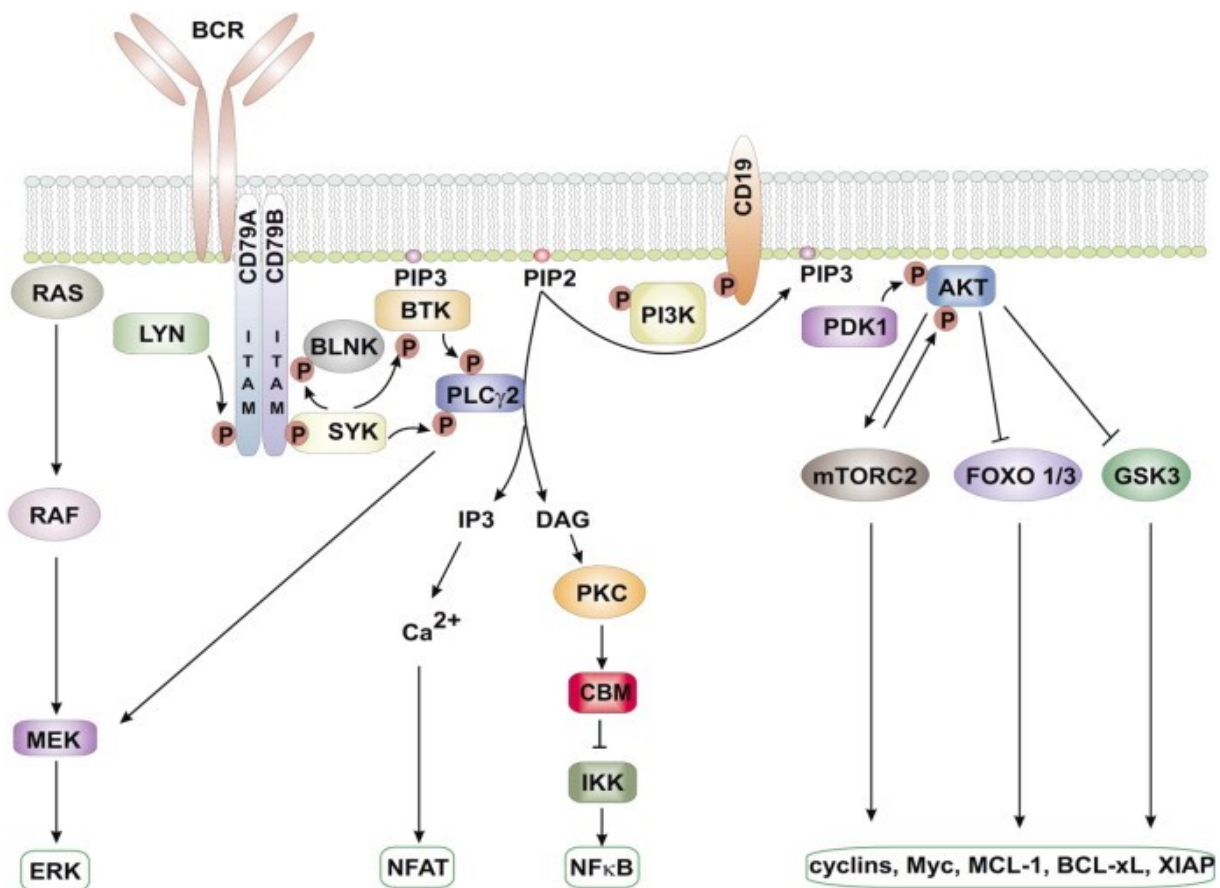
**Obr. 4:** Schéma vývoje B lymfocytu v odlišných orgánových kompartmentech. (Warnatz and Schlesier 2008)

## 6.1 B buněčný receptor a jeho signální dráhy

Mimo výše popsaných změn dochází také k významným změnám v expresi povrchových molekul B lymfocytů na základě kterých dokážeme odlišit jednotlivé subpopulace. K nejdůležitějším molekulám patří ty, které tvoří BCR. Ten se neskládá pouze z membránové formy imunoglobulinu, ale je s ním asociována celá řada dalších molekul. K základním patří CD79a/CD79b, který se k BCR nekovalentně váže a v intracytoplasmatické části obsahuje ITAM motivy (Immunoreceptor tyrosine-based activation motif), které jsou fosforylovány Lyn a Syk (z rodiny Src tyrozinkináz). Amplifikace signálu je zajištěna agregací BCR díky lipidovým raftům a kostimulačními receptory jako je CD19/CD21 (komplementový receptor typ 2, CCR2). Na druhou stranu existuje i celá řada inhibičních molekul – FcγRIIb, CD5, CD22, které obsahují ITIM motivy (immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif). (Pritchard and Smith 2003) V dalších krocích je aktivována BTK za účasti adaptorového proteinu BLNK (B cell linker) a fosfolipáza Cγ2 (PLCγ2). Ta zajišťuje štěpení membránových fosfolipidů (fosfatidylinositol 4,5-bisfosfátu) za vzniku druhých poslů

diacylglycerolu (DAG) a inositol-1,4,5-trisofátute (IP3). IP3 následně způsobí uvolnění kalciových iontů z endoplasmatického retikula a aktivaci calcineurinu, mimoto má zásadní úlohy i při zahájení signalizační kaskády Ras-Raf-MEK-ERK. DAG poté aktivuje fosfokinázu C (PKC) a s ní související signalizační komplex MALT1-CARD11-BCL10. BTK aktivuje mimo PLC $\gamma$ 2 i fosfatidylinositol-3-kinázu (PI3K) hrající klíčovou roli v AKT-mTOR dráze. Všechny tyto děje nakonec končí aktivací klíčových transkripčních faktorů (jako je AP-1, NF $\kappa$ B, NFAT, které zajišťují expresi genů podílejících se na aktivaci, proliferaci, diferenciaci a řízení metabolismu B lymfocytů. (Obrázek 5) (Woyach, Johnson et al. 2012)

**Obrázek 5**



**Obr. 5:** Struktura B buněčného receptoru (BCR) a schematické znázornění jeho základních signálních drah. (Woyach, Johnson et al. 2012)

## 6.2 Vývojová stádia B lymfocytů

Znaky CD19, CD20 a CD21 řadíme ke specifickým markerům B lymfocytů, i když jejich exprese je také variabilní. Významně se mění především s úrovní zralosti B lymfocytu, kdy CD19, CD20 i CD21 jsou exprimovány výrazně méně na plasmablastech a na plasmatických buňkách již jejich exprese zcela chybí. K dalším důležitým znakům patří CD27 považovaný za marker imunologické paměti u B lymfocytů a znaky CD24 a CD38. Na základě toho tedy můžeme B lymfocyty rozdělit na méně zralé formy zahrnující naivní (CD19+CD27-IgM+) a tranzitorní B lymfocyty (CD19+CD27-IgM+CD24+). A dále pak na zralé formy – paměťové B lymfocyty s izotypovým přesmykem (CD19+CD27+IgG+) a plasmablasty (CD19+CD27+IgG+,CD38+). (Warnatz and Schlesier 2008)

Mimo těchto základních subpopulací rozlišujeme ještě několik specifických forem. Mezi ty patří B lymfocyty marginální zóny (MZL, z angl. Marginal Zone Like), které i přesto, že produkují pouze protilátky třídy IgM, exprimují paměťový znak CD27. Produkce těchto protilátek je nezávislá na thymu, respektive pomoci od Th lymfocytů, jsou zaměřené především na rozpoznání polysacharidových antigenů (ty exprimují hlavně opouzdřené bakterie jako *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* či *Neisseria meningitis*). Svými vlastnostmi se tedy řadí spíše do imunity vrozené. MZL se vyvíjejí především ve slezině. Poškození funkce sleziny, ať již vrozené nebo získané, pak vede ke zvýšené vnímavosti k těmto patogenům. (Cerutti, Cols et al. 2013)

K další specifické subpopulaci patří B lymfocyty, které na svém povrchu exprimují velmi malé množství molekuly CD21, označují se proto jako CD21<sup>low</sup>. Na svém povrchu ale mají vysokou expresi aktivačních markerů (CD69, CD80, CD86) a chemokinových receptorů CCR1, CCR5, CCR6. Naopak exprese CXCR4 a CXCR5 je redukována. Jsou schopné produkovat paměťové imunoglobuliny, jejich BCR prochází procesem somatických hypermutací. Na základě těchto vlastností jsou tedy považovány za typ paměťových B lymfocytů, který migruje především do tkání v místě zánětu. Za fyziologických stavů jsou přítomny v tonzilách, kde dochází ke kontinuální expozici antigenům. Za patologických stavů se jejich zvýšený počet v periferní krvi nachází u celé řady stavů, jakou jsou autoimunitní systémová onemocnění pojiva- systémový lupus erythematodes (SLE) nebo Sjögrenův syndrom (SS) či revmatoidní artritida (RA). (Thorarinsdottir, Camponeschi et al. 2015)

B regulační lymfocyty (Breg) patří k nejméně prozkoumaným subpopulacím. Podobně jako Treg mají především regulační a supresivní účinky. K hlavním efektorovým mechanismům

patří především produkce IL-10, ale také TGF $\beta$  nebo IL-35. Na svém povrchu ale exprimují i molekuly FAS-L a PD-1L. Na rozdíl od Treg však dosud nebyl nalezen spolehlivý marker k jejich určení. Významné procento (ale ne všechny) Breg exprimuje molekulu TIM-1. (Peng, Ming et al. 2018) Breg nejsou samostatnou populací, ale je popsána celá řada subtypů u lidí i myši, které odpovídají odlišným vývojovým stádiím B lymfocytů (Breg s fenotypem plasmablastů – CD19+CD24+CD27+, s fenotypem MZL – CD19+CD1+CD23- či tranzientních buněk – CD19+CD24+CD38+). Jsou přítomny především ve slezině. (Rosser and Mauri 2015) Jejich úloha se přepokládá u celé řady imunopatologických stavů, především autoimunitních chorob. V myších modelech byly Breg schopny potlačit aktivitu SLE, artritidy či EAE (Experimentální autoimunitní encefalomyelitida). Snížený počet a/nebo defektní funkce pak byly prokázány u pacientů s SLE, RA či RS (roztřoušená skleróza). (Mauri and Menon 2017)

**Tabulka 4**

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

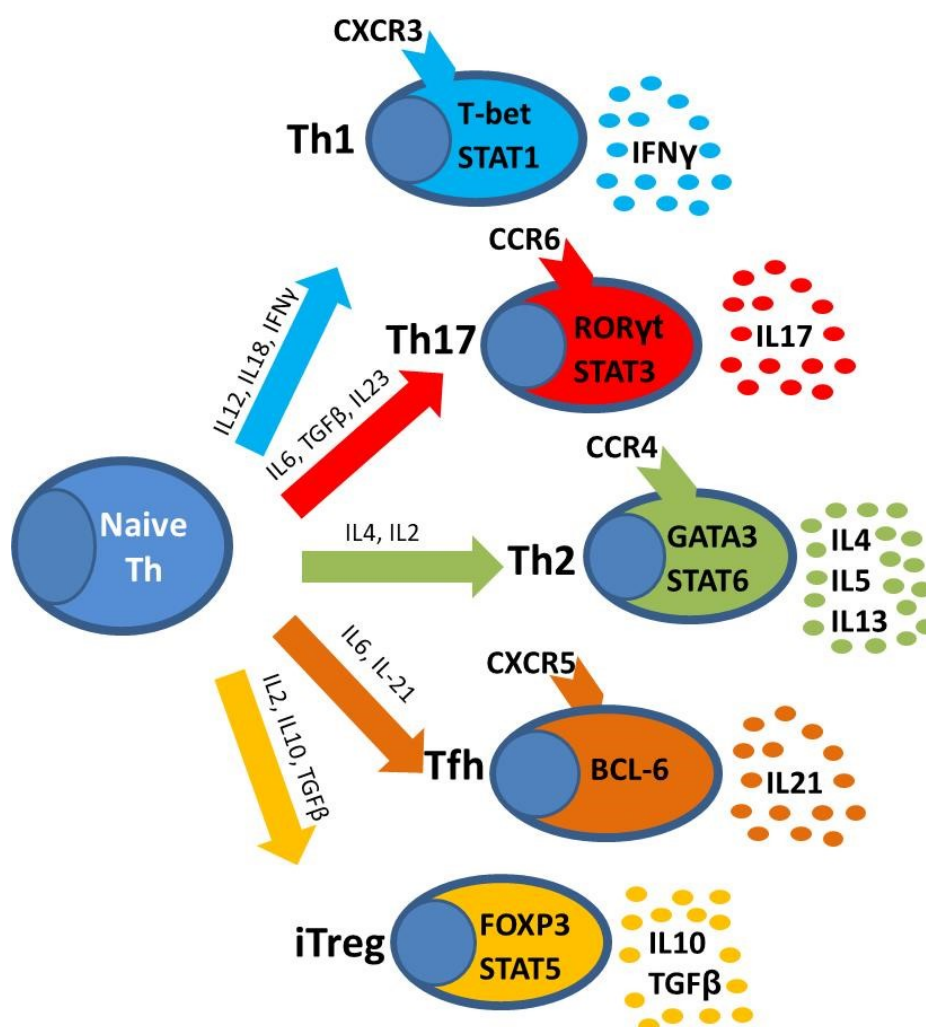
**Tab. 4:** Relativní a absolutní zastoupení jednotlivých B lymfocytárních subpopulací v periferní krvi a povrchové znaky používané k jejich určení při FACS analýze. (Warnatz and Schlesier 2008)



### 6.3 Regulační mechanismy vývoje B lymfocytů

Pro vývoj B lymfocytu a produkci imunoglobulinů je zásadní přítomnost vhodného cytokinového prostředí. To opět zajišťují především Th lymfocyty. Na základě jejich spektra je dělíme do několika základních funkčních skupin – Th1, Th2, Th17, Tfh (folikulární pomocný T lymfocyt), iTreg (indukovaný T regulační lymfocyt). Mimo produkce cytokinů je charakterizuje exprese typických transkripčních faktorů a chemokinových receptorů. (Geijtenbeek and Gringhuis 2016) (Obrázek 4)

Obrázek 4



**Obr. 4:** Schéma diferenciace naivního T pomocného lymfocytu do jednotlivých funkčních subpopulací (Th1, Th2, Th17, Tfh, iTreg), které jsou charakterizovány expresí transkripčního faktoru, chemokinového receptoru a spektrem produkovaných cytokinů. (Geijtenbeek and Gringhuis 2016)

IL-4 produkovaný především Th2 subpopulací, má největší vliv hlavně na produkci podtříd IgG – IgG1, IgG3 a IgG4, navíc má důležitou roli při regulaci izotypového přesmyku na třídu IgE. Th1 je důležitým zdrojem IFN $\gamma$ , který zodpovídá za produkci podtřídy IgG2. TGF $\beta$ , který je produkovaný především regulačními buňkami jako jsou iTreg (ale i celou řadou buněk mimo imunitní systém (Kubiczkova, Sedlarikova et al. 2012), pak řídí produkci IgA. (Avery, Journal of Immunology, 2008) K dalším klíčovým cytokinům patří IL-21 produkovaný Tfh v germinálních centrech. Ten zajišťuje především maturaci B lymfocytů a jeho snížená produkce (například u pacientů s IL-21 / IL-21R deficiencí) vede k významné redukci počtu zralých forem B lymfocytů a narušené produkci paměťových imunoglobulinů – obraz odpovídající CVID. (Kotlarz, Zietara et al. 2014) Obdobně byla prokázána zásadní role IL-6 na vývoj B lymfocytů. (Eto, Lao et al. 2011)

Vedle cytokinů je pro diferenciaci a přežití periferních B lymfocytů kritická úloha růstových faktorů APRIL (A Proliferation- Inducing Ligand) a BAFF (B cell- Activating Factor), patřících do TNF (Tumor Necrosis Factor) superrodiny. Jsou produkovány jak ostatními buňkami imunitního systému jako jsou monocyty/makrofágy či DC (dendritické buňky), tak i samotnými B lymfocyty (autokrinní produkce). Zatímco BAFF se váže na 3 různé receptory – BAFF-R (BAFF receptor), TACI (Transmembrane Activator and Calcium modulator ligand Interactor) a BCMA (B Cell Maturation Ag), APRIL pouze na TACI a BCMA. Exprese jednotlivých receptorů se významně liší v průběhu maturace B lymfocytů. BAFF je důležitý především pro vývoj zralých forem B lymfocytů a jeho narušená produkce zabraňuje přechodu naivních B lymfocytů do dalších vývojových stádií včetně MZL B lymfocytů, jeho receptory jsou tedy exprimované především během maturace B lymfocytů (méně pak u plasmablastů a plasmatických buněk). APRIL pak reguluje především proliferaci a podporuje izotypový přesmyk, exprese receptorů pro APRIL tak postupně během dozrávání B lymfocytů vzrůstá. (Chu, Enghard et al. 2007) Narušená produkce těchto faktorů ve smyslu deficitu může vést k rozvoji protilátkové imunodeficience obvykle charakteru CVID (Warnatz, Salzer et al. 2009), nebo naopak jejich nadprodukce byla popsána u některých autoimunitních onemocněních jako jsou systémová onemocnění pojiva zahrnující SLE či SS (Varin, Le Pottier et al. 2010, Vincent, Morand et al. 2014)

## 7 Běžný variabilní imunodeficit

### 7.1 Charakteristika onemocnění a jeho diagnostika

CVID je označení pro heterogenní skupinu onemocnění, charakterizovanou narušenou tvorbou celkových imunoglobulinů ale i specifických protilátek a zvýšenou vnímavostí k infekcím. Navíc dochází k dysregulaci imunitního systému, která je spojena s rozvojem neinfekčních komplikací jako jsou autoimunitní, lymfoproliferativní či granulomatózní choroby. Významně je také zvýšeno riziko rozvoje nádorových onemocnění, a to jak solidních tumorů, tak hematologických malignit.

Výše popsané projevy tvoří základ diagnostických kritérií. Nejrozšířenější jsou diagnostická kritéria ESID a ICON. (Ameratunga, Brewerton et al. 2014, Bonilla, Barlan et al. 2016) (Tabulka 5)

Tabulka 5

ESID diagnostická kritéria	ICON kritéria
<b>Klinické kritérium</b> (alespoň 1 z následujících) <ul style="list-style-type: none"><li>■ zvýšená vnímavost k infekcím</li><li>■ autoimunitní komplikace</li><li>■ granulomatózní projevy</li><li>■ nevysvětlená lymfoproliferace</li><li>■ výskyt protilátkového deficitu v rodině</li></ul>	<b>Klinické kritérium</b> (nemusí být přítomno ke stanovení diagnózy)
<b>Hypogammaglobulinémie</b> <ul style="list-style-type: none"><li>■ významné snížení (&lt;2SD pro daný věk) sérové hladiny IgG a IgA (měřeno alespoň 2x)</li></ul>	<b>Hypogammaglobulinémie</b> <ul style="list-style-type: none"><li>■ významné snížení sérové hladiny IgG (měřeno alespoň 2x nebo &lt;3g/l)</li><li>■ významné snížení sérové hladiny IgA a/nebo IgM</li></ul>
<b>Narušená tvorba specifických protilátek</b> (alespoň 1 z následujících) <ul style="list-style-type: none"><li>■ nedostatečná odpověď na vakcinaci</li><li>■ absence isohemaglutininů</li><li>■ snížený počet paměťových B lymfocytů po izotypovém přesmyku (&lt;70% pro daný věk)</li></ul>	<b>Narušená tvorba specifických protilátek</b> <ul style="list-style-type: none"><li>■ narušená odpověď na T-závislé antigeny</li><li>■ narušená odpověď na T nezávislé antigeny</li><li>■ vyšetření nemusí být provedeno v případě nutnosti urychleného podání Ig substituce)</li></ul>
<b>Vyloučení sekundární příčiny</b>	<b>Vyloučení sekundární příčiny</b>
<b>Definitivní diagnóza stanoveno po 4. roce života</b>	<b>Definitivní diagnóza stanoveno po 4. roce života</b>
<b>Vyloučení T buněčného deficitu</b>	

Tab. 5: Srovnání ESID a ICON diagnostických kritérií. (Ameratunga, Brewerton et al. 2014, Bonilla, Barlan et al. 2016)

Mezi oběma diagnostickými schématy je několik významných rozdílů. Jak již z definice onemocnění CVID vyplývá, mezi klinické projevy patří celé spektrum infekčních a neinfekčních projevů. Významný je také zvýšený výskyt primárních protilátkových deficitů v rodině. Přítomnost alespoň jednoho klinického kritéria je nutná pro splnění ESID diagnostických kritérií. Na druhou stranu diagnóza CVID podle kritérií ICON může být stanovena pouze na základě splnění laboratorních kritérií. Mezi ty patří průkaz hypogammaglobulinémie a narušené tvorby specifických protilátek. Ty se stanovují jako specifické postvakcinační protilátky. Doporučuje se stanovit postvakcinační protilátky jak proti T- závislým antigenům (proteinové struktury, př.: tetanus, diphtheria), tak proti T –nezávislým antigenům (polysacharidové struktury, např. pneumokoky, hemofily, salmonela typhi). Očkování T nezávislými antigeny je nutné provádět nekonjugovanými vakcínami. Za pozitivní odpověď je obvykle považováno dosažení protektivní odpovědi. Dle kritérií ICON není nutné diagnostickou vakcinaci provádět v případě neodkladného podání Ig substituční terapie, která ovlivňuje jak provedení vlastní vakcinace, tak zkresluje následné stanovení specifických protilátek. ESID diagnostická kritéria pak jako možnou alternativu připouštějí průkaz absence isohemaglutininů nebo snížení paměťových „B lymfocytů s paměťovým přesmykem. U obou diagnostických kritérií pak musí být vyloučeny sekundární příčiny hypogammaglobulinémie (Tabulka 6) a definitivní diagnóza může být stanovena po 4. roce života, i když symptomy mohou být přítomny dříve.

**Tabulka 6**

Poléková	Spojená s infekty	Spojená s malignitami	Ostatní příčiny
Anti CD-20 monoklonální protilátky	HIV	CLL	Nefrotický syndrom
Glukokortikoidy	EBV	NHL	Protein – losing enteropatie
Sulfasalazin	Kongenitální zarděnky	Monoklonální gammapatie	Lymfangiektázie
Antimalarika	Kongenitální CMV infekce	Goodův syndrom	Popáleniny

**Tab. 6:** Příklady sekundárních příčin hypogammaglobulinémií. (Bonilla, Barlan et al. 2016)

## 7.2 Epidemiologie běžného variabilního imunodeficitu a klinické projevy

CVID je druhým nejčastějším (po IgA selektivním imunodeficitu) a nejvýznamněji zastoupeným symptomatickým PID. V prevalenci CVID existují významné geografické rozdíly. Zatímco v USA tvoří více než 40% všech pacientů s PID, v oblasti Středního východu zastupuje méně než 3% a v Africe dokonce méně než 2% diagnostikovaných PID. Tyto rozdíly jsou dány především diagnostickými možnostmi jednotlivých regionů, dostupností dat (především z registrů) a úrovní povědomí o PID. (Yazdani, Habibi et al. 2019) V Evropě je pak největší prevalence udávána ve skandinávských zemích jako je Finsko či Dánsko. Naopak nejmenší prevalence byla zjištěna ve státech jižní Evropy – Francii a Španělsku. (Selenius, Martelius et al. 2017) V evropském regionu pak CVID reprezentuje 14 – 45% všem diagnostikovaných PID. (Tabulka 7) Riziko rozvoje onemocnění u mužů je přibližně srovnatelné se ženami (Male:Female Ratio 0,78 – 1,1). Průměrný věk při stanovení diagnózy je obvykle mezi 30-40 roky věku, vykazuje však bimodální charakter s druhým vrcholem výskytu ve věkové kategorii 5-10 let. Symptomy se objevují obvykle s předstihem několika let. Zpoždění při stanovení diagnózy se odhaduje v řádu několika let (6-7 let). (Grimbacher and Party 2014)

**Tabulka 7**

Oblast	Prevalence (:100 000)	% PID
Finsko	6,9	Data nedostupná
Dánsko	3,8	Data nedostupná
Island	3,1	17
Norsko	2,6	31
Turecko	1,4	5
Velká Británie	1,3	37
Švýcarsko	1,2	45
Francie	0,7	14
Španělsko	0,6	21

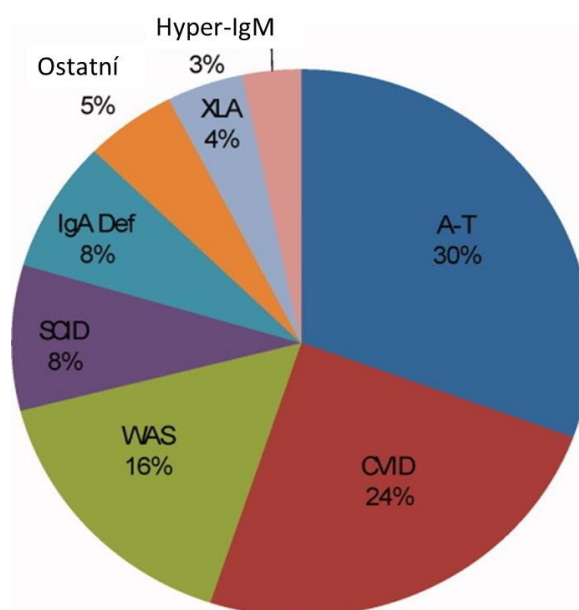
**Tab. 7:** Srovnání prevalence CVID (počet případů na 100 tisíc obyvatel) a jeho podíl na počtu všech PID v zemích evropského regionu (% ze všech PID). (Selenius, Martelius et al. 2017, Yazdani, Habibi et al. 2019)

Z klinických projevů dominují především recidivující infekce, které jsou přítomny u téměř všech pacientů (94-98%). Dominují hlavně infekce respiračního traktu. Ty se manifestovaly v jedné z největších observačních studií zaměřených na výskyt infekčních komplikací, která sledovala kohortu 252 pacientů s CVID, až u 84% pacientů. Nejčastěji se jednalo o bronchitidu (69%), zánět vedlejších dutin nosních (63%) a pneumonii (58%). Významně menší frekvence pak byla infekčních zánětů gastrointestinálního traktu (GIT) – 27%. Z patogenů převládal výskyt *Streptococcus pneumoniae* a *Haemophilus influenzae*, u GIT infekcí pak *Gardia intestinalis*, *Salmonella species* či *Campylobacter species*. (Oksenhendler, Gerard et al. 2008)

Pouze infekční komplikace nacházíme u přibližně jedné třetiny pacientů. U ostatních se obvykle v průběhu onemocnění rozvíjejí neinfekční komplikace zahrnující celé spektrum lymfoproliferativních, autoimunitních či granulomatózních projevů. Z lymfoproliferativních komplikací vidáme splenomegálii a lymfadenopatii, které mívají obvykle benigní charakter. Mimo lymfatických uzlin a sleziny může docházet ale také k lymfoproliferaci oblasti sliznic s obrazem střevní či plicní lymfoidní hyperplázie. Jejich odlišení od maligních nebývá vždy

jednoduché a významně přispívá k diferenciálně diagnostickým rozpakům. Morbiditu a mortalitu pak ovlivňují u CVID pacientů především autoimunitní onemocnění, která nacházíme u 30 – 50% pacientů. Zde jednoznačně převládají autoimunitní cytopénie zahrnující AIHA, ITP či Evansův syndrom. (Resnick, Moshier et al. 2012) Dále dominují neinfekční komplikace postihující respirační trakt zahrnující bronchiektázie, asthma bronchiale či granulomatózní – lymfocytární intersticiální plicní nemoc (GLILD, z angl. Granulomatous – lymphocytic interstitial lung disease). (Agondi, Barros et al. 2010, Bang, Richards et al. 2018) Extrapulmonální granulomatózní postižení (celkem až u 10% pacientů) nacházíme také v játrech, na kůži či ve slezině, mnohdy bývá postižení i mnohočetné. V oblasti GIT mívá charakter idiopatických střevních zánětů (IBD-like). Největší obavy u pacientů s CVID ale vyvolává vysoké riziko maligních zvrátů. Tumory se mohou vyskytovat až u jedné čtvrtiny pacientů. Po skupině PID spojených s chromozomální instabilitou, do které se řadí např. Ataxia teleangiectatica s rozvojem nádorových onemocnění u přibližně 30% pacientů, jsou tak pacienti s CVID druhou nejrizikovější skupinou. (Shapiro 2011) (Obrázek 5)

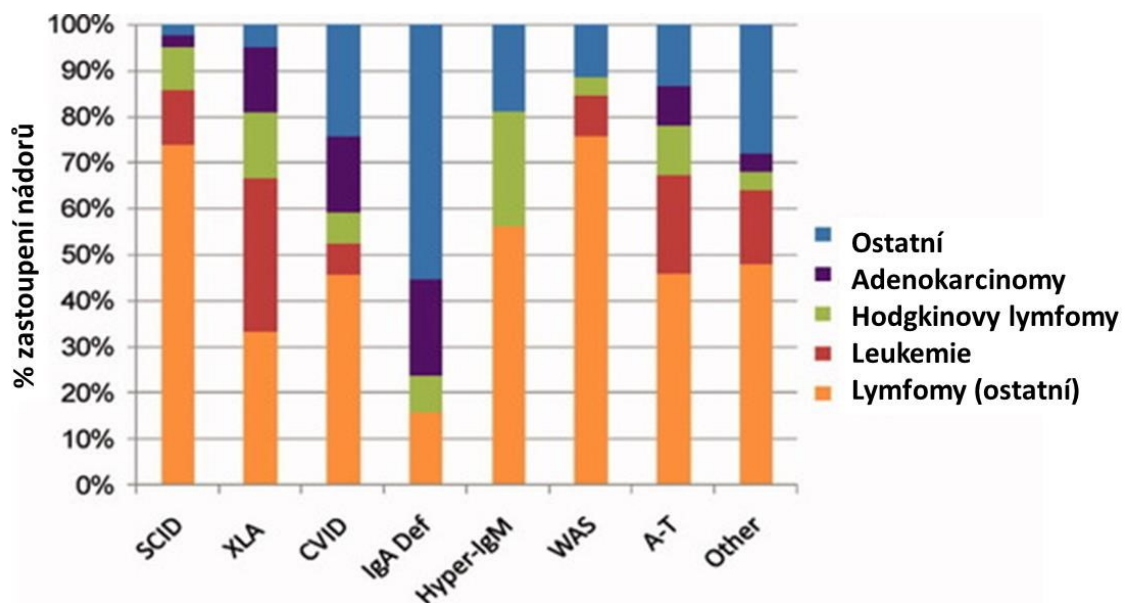
**Obrázek 5**



**Obr. 5:** Relativní počet (%) pacientů s daným typem PID, u kterých se v průběhu onemocnění rozvinula malignita. (Shapiro 2011)

Jednotlivé skupiny PID se také odlišují spektrem malignit. (Obrázek 6) U většiny z nich převažují non-Hodgkinské lymfomy (NHL). Především u primárních protilátkových imunodeficiencí, do kterých řadíme i CVID, pak významně roste riziko solidních nádorů – adenokarcinomů, které jsou jedny z nejčastěji diagnostikovaných malignit v běžné populaci. (Shapiro 2011)

**Obrázek 6**



**Obr. 6:** Spektrum malignit a jejich relativní zastoupení u jednotlivých typů PID. (Shapiro 2011)

Ve srovnání s běžnou populací České republiky, kde podle dat ÚZIS a České onkologické společnosti Jana Evangelisty Purkyně převažují karcinomy tlustého střeva (15% všech diagnostikovaných maligních nádorových onemocnění), prsu (12%), plic (12%), prostaty (10%) a ledvin (5%), u CVID pacientů jasně dominují karcinomy žaludku. (Pulvirenti, Pecoraro et al. 2018)



### 7.3 Etiopatogeneze běžného variabilního imunodeficitu

CVID je považován za multifaktoriální onemocnění s polygenním typem dědičnosti. I když u části pacientů byla odhalena monogenní příčina (cca o 2-10 % případů). (Tabulka 8)

**Tabulka 8**

Monogenní příčina CVID: 2 – 10% případů	
Gen	Prevalence (%)
PIK3CD	26.74
LRBA	26.74
CTLA4	6.42
NFKB2	5.35
TNFRSF7 (CD27)	4.81
PIK3R1	4.81
ICOS	3.74
CD19	3.74
IL-21R	3.21
IKZF1 (IKAROS)	3.21
PRKCD	2.14
PLCG2	2.14
NFKB1	1.6
CR2 (CD21)	1.7

**Tab. 8:** Známé monogenní příčiny CVID a jejich relativní zastoupení. (Bogaert, Dullaers et al. 2016)

Vedle vlastních monogenních příčin bylo odhaleno i několik genů, které se na rozvoji onemocnění spolupodílejí, ale jejich mutace plně nevysvětluje rozvoj onemocnění. Tyto geny se označují za modifikující (Tabulka 9).

**Tabulka 9**

CVID modifikující geny: neznámá prevalence
TNFRSF13B (TACI), TNFRSF13C (BAFF-R), MSH2,
MSH5, CLECG1, MLH1, RAD50, ORC4L, FCGR2A

**Tab. 9:** Známé modifikující geny s předpokládaným vlivem na rozvoj CVID. (Bogaert, Dullaers et al. 2016)

Mezi monogenní příčiny CVID patří hlavně mutace genů, které se významně podílejí na struktuře BCR a jeho koreceptorů (geny pro CD19, CD21). Tím zasahují do vývoje B lymfocytů, pro který je správná funkce BCR zásadní. Mimo těchto genů do vývoje B lymfocytů zasahují geny zodpovědné za správnou funkci T lymfocytů (CTLA4, LRBA, ICOS), jejichž úloha je nezastupitelná především při aktivaci izotypového přesmyku či indukci hypersomatických mutací – klíčových změn ve vývoji zralých forem B lymfocytů zahrnující paměťové B lymfocyty s izotypovým přesmykem a plasmablastů/plasmatických buněk. Další skupinou jsou geny ovlivňující správnou funkci signálních drah, ty jsou z velké části sdíleny BCR i TCR (geny pro PIK3CD, PIK3R1, NFKB1, NFKB2). (Bogaert, Dullaers et al. 2016) Z výše uvedeného vyplývá, že u značné části pacientů s odhalenou monogenní příčinou CVID charakter postižení nabývá až typu CID. V těchto případech se stav označuje jako kombinovaný imunodeficit s opožděnou manifestací (Late Onset Combined Deficiency, LOCID). Některými autory je považován za subtyp CVID. (Malphettes, Gerard et al. 2009) Na druhou stranu, vyloučení T buněčného deficitu je obsaženo v ESID diagnostických kritériích (ICON diagnostická kritéria tuto podmínku nevyžadují). Pacienti s LOCID mají oproti CVID horší prognózu s větším rizikem rozvoje závažných jak infekčních (oportunní infekce), tak neinfekčních komplikací. (Bertinchamp, Gerard et al. 2016) Na podkladě výše uvedených změn tedy dochází především k narušení diferenciaci B lymfocytů. U pacientů s CVID obvykle nacházíme v periferní krvi významně redukované počty paměťových B lymfocytů s izotypovým přesmykem a plasmablastů. Naopak dochází ke zvýšení počtu méně zralých forem zahrnující naivní a tranzitní formy B lymfocyty. Jednotlivé subpopulace mohou být

odlišeny na základě odlišné exprese povrchových znaků, ke které dochází během jejich vývoje (viz kapitola 6)

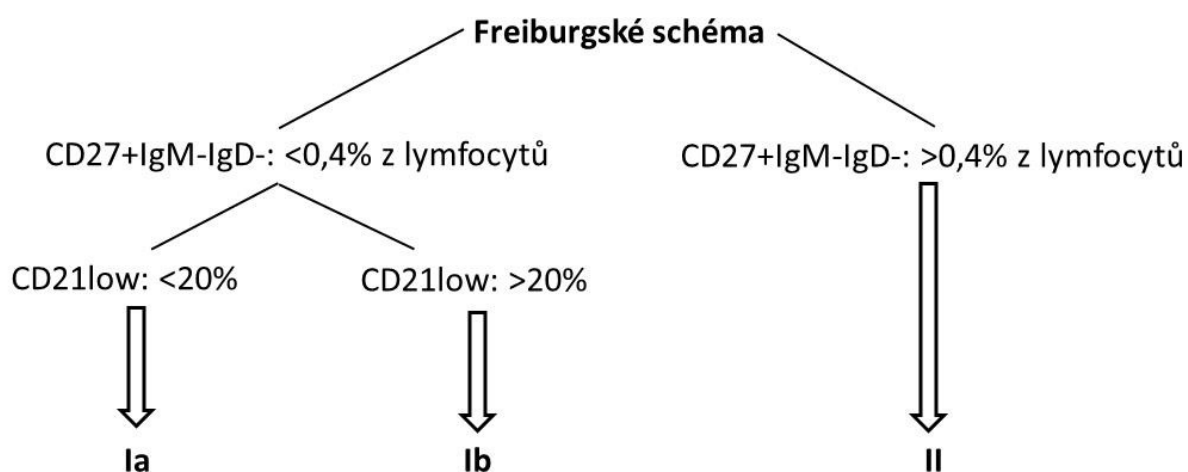
## 7.4 Klasifikace běžného variabilního imunodeficitu

Na základě výše popsaných změn vzniklo několik klasifikačních schémat. K nejpoužívanějším patří především Freiburgská, Pařížská a Euroclass, která jsou popsána v následujícím přehledu.

### 7.4.1 Freiburgská klasifikace

Freiburská klasifikace je založena na stanovení subpopulací B lymfocytů pomocí povrchových znaků IgM, IgD, CD27, CD19 a CD21. (Obrázek 7) Na základě stanovení exprese těchto znaků můžeme buňky rozdělit na B lymfocyty s izotypovým přesmykem (CD27+IgM-IgD-, IZM) a CD21<sup>low</sup> B lymfocyty. Podle zastoupení jednotlivých subpopulací rozlišujeme 3 základní skupiny. Skupina I (< 0,4% z celkového počtu lymfocytů) a II (> 0,4%) se liší zastoupením IZM. Skupinu I pak dále dělíme podle počtu CD21<sup>low</sup> B lymfocytů na Ia (<20%) a Ib (> 20%). (Warnatz and Schlesier 2008)

Obrázek 7

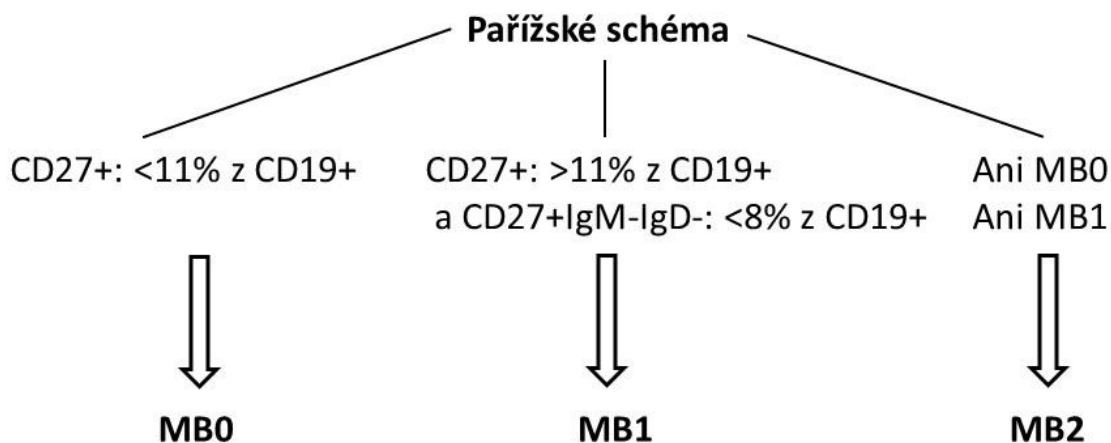


**Obr. 7:** Schéma Freiburgské klasifikace CVID založené na zastoupení IZM (CD27+IgM-IgD-) a CD21<sup>low</sup> B lymfocytů. (Warnatz and Schlesier 2008)

## 7.4.2 Pařížská klasifikace

Na rozdíl od Freiburgské klasifikace v Pařížské klasifikaci jsou jednotlivé skupiny rozděleny pouze podle celkového počtu paměťových buněk (% CD27+ z celkového počtu B lymfocytů) a IZM (% CD27+IgM-IgD-). (Obrázek 8) Při počtu celkových paměťových buněk pod 11% jsou pacienti zařazeni do skupiny MB0. Pokud je jejich počet vyšší a zároveň počet IZM nižší než 8%, jsou klasifikováni do skupiny MB1. V opačném případě do skupiny MB2. (Warnatz and Schlesier 2008)

Obrázek 8

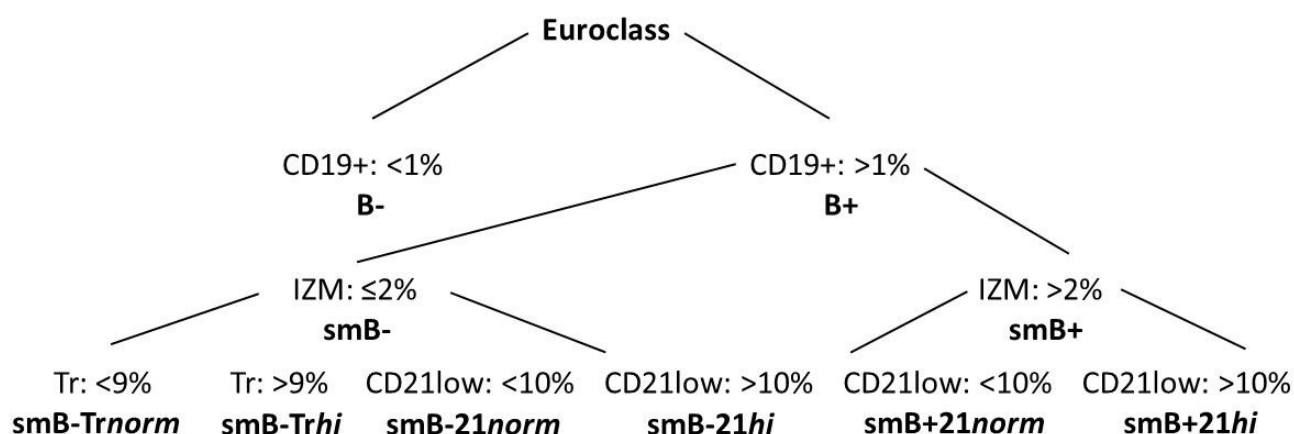


**Obr. 8:** Schéma Pařížské klasifikace CVID založené na zastoupení celkové počtu paměťových B lymfocytů (CD27+) a IZM (CD27+IgM-IgD-). (Warnatz and Schlesier 2008)

## 7.4.3 Euroclass klasifikace

Tato klasifikace kombinuje rozdělení podle předchozích dvou, navíc hodnotí i celkový počet B lymfocytů a transientních buněk. (Obrázek 9) Podle celkového počtu B lymfocytů jsou nejprve pacienti rozřazeni do skupin B- (<1% CD19+ buněk) a B+ (>1). Skupina B+ se dále rozřazuje podle zastoupení IZM (< nebo > 2%): smB+ a smB-. Obě skupiny se pak dělí dle počtu CD21low B lymfocytů (< nebo > 10%), u smB- navíc dle počtu transientních (Tr) B lymfocytů (< nebo > 9%): smB+21norm, smB+21hi, smB-Trnorm, smB-Trhi, smB-21norm, smB-21h. (Wehr, Kivioja et al. 2008)

Obrázek 9



**Obr. 9:** Schéma Euroclass klasifikace založené na zastoupení celkové počtu B lymfocytů (CD19+), IZM (CD27+IgM-IgD-), tranzientních (IgD+ IgM+ CD24+ CD38+ CD27-) a CD21low B lymfocytů. (Wehr, Kivioja et al. 2008)

## 7.5 Mechanismy dysregulace imunitního systému u běžného variabilního imunodeficitu

Výše uvedená klasifikační schémata mají důležitý prognostický význam. Především u skupin pacientů s expanzí CD21low B lymfocytů (Freiburgská skupina Ib, Euroclass smB-21hi a smB+21hi). Základní charakteristika této subpopulace je popsána v kapitole 6. Jejich zvýšený počet se nachází hlavně u pacientů s CVID, kteří rozvinuli neinfekční komplikace – splenomegalii či autoimunitní onemocnění. K významným změnám ale dochází také na úrovni T-lymfocytů. Na úrovni Th lymfocytů se jedná především o posun k terminálně diferencovaným formám, které vykazují známky chronické aktivace (zvýšená exprese aktivačních markerů HLA-DR, CD29, CD95) a vyčerpání až senescence (posun k terminálně diferencovaným CCR7<sup>-</sup>CD45RA<sup>+</sup> Th lymfocytům, zvýšená exprese CD57 a PD-1). Tento fenotyp podporuje i snížená proliferační aktivita. Naopak na úrovni naivních Th lymfocytů dochází k jejich redukci, a to především díky snížené produkci v thymu (vedle snížení počtu naivních lymfocytů dochází také k redukci RTE – Recent thymic emigrants). Obdobné změny se odehrávají také na úrovni Tc lymfocytů. (Azizi, Rezaei et al. 2016, Wong and Huissoon 2016) Ty se pak odrážejí jak na počtu T lymfocytů, tak na jejich funkčních vlastnostech. To je patrné například v narušené produkci cytokinů, kdy dochází k redukci IL-2 a TNF $\alpha$  a naopak ke zvýšení produkce cytokinů Th1 imunitní odpovědi (IFN $\gamma$ ). (Varzaneh, Keller et al. 2014)

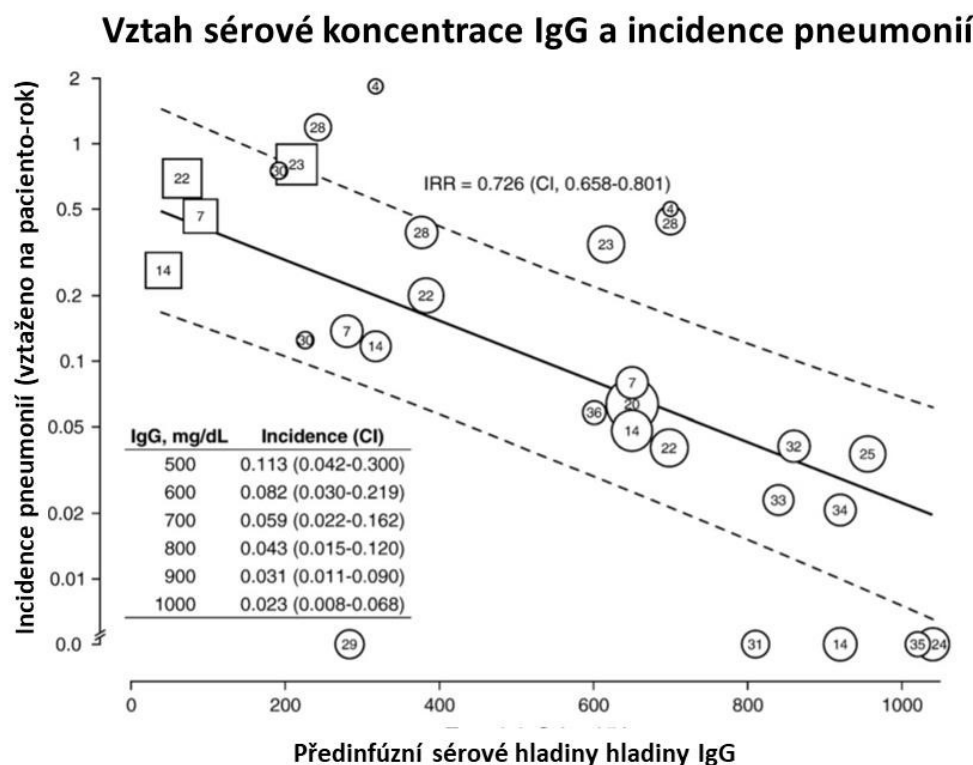
K narušené regulaci imunitního systému dále přispívají změny i v dalších subpopulacích T a B, které mají především regulační úlohu, jako jsou Treg a Breg lymfocyty. (Barsotti, Almeida et al. 2016, Azizi, Hafezi et al. 2017, Yesillik, Agrawal et al. 2019)

K dysregulaci imunitního systému mohou přispívat také změny na úrovni vrozené imunity. Jedná se především o produkci IFN I a BAFF. Oba typy cytokinů jsou produkovány DC (MacLennan and Vinuesa 2002, Montoya, Schiavoni et al. 2002) a jejich úloha byla popsána při rozvoji autoimunitních onemocnění jako je například SLE, kde se účastní aktivace autoreaktivních klonů B lymfocytů. (Niewold 2014, Steri, Orru et al. 2017) Jedním z důležitých mechanismů vedoucích k aktivaci DC je signalizace přes intracelulární receptory TLR 7,8 a 9. Ty jsou umístěné v endosomech buněk a rozeznávají ssRNA a nemetylované dinukleotidy CG v DNA (molekulární motivy asociované s patogeny, PAMPs). (Farrugia and Baron 2017) Tyto typy TLR jsou exprimovány především plasmocytoidními DC – hlavním zdrojem IFN $\alpha$ . (Fitzgerald-Bocarsly, Dai et al. 2008) Obdobné změny popsané u autoimunitních chorob pak byly zjištěny také u pacientů s COVID, a to jak na úrovni TLR, tak produkci BAFF a IFN I. Předpokládá se tedy jejich role při rozvoji autoimunitních komplikací. (Warnatz and Voll 2012)

## **7.6 Terapie běžného variabilního imunodeficitu**

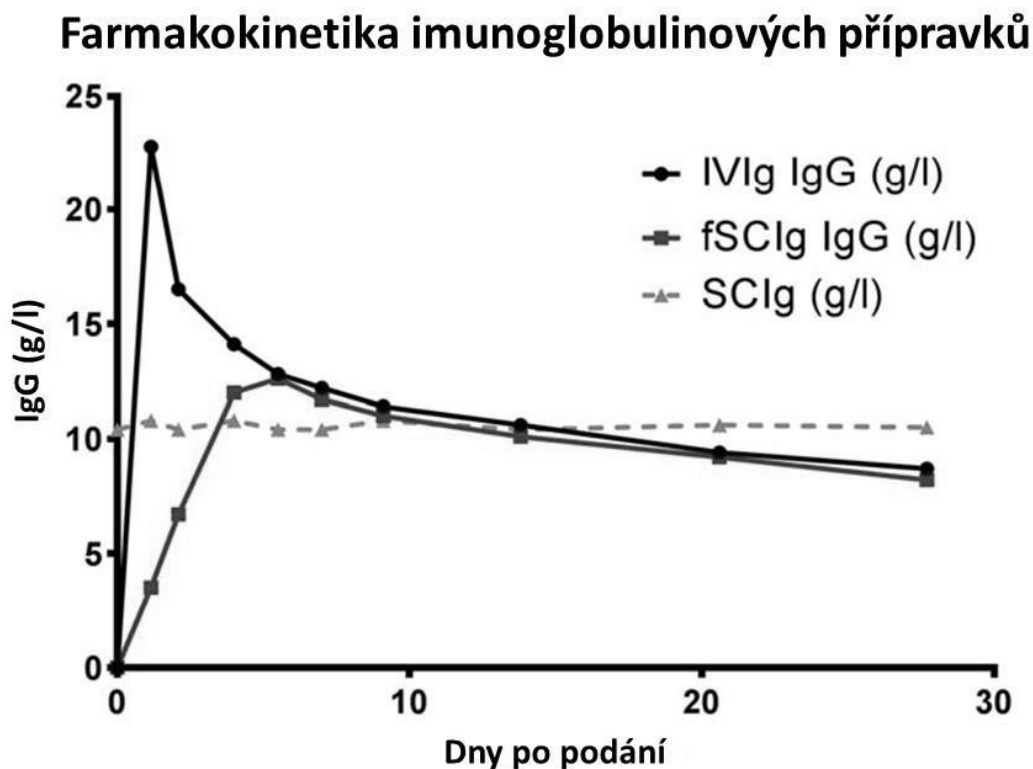
Imunoglobulinová substituční terapie patří k hlavním terapeutickým přístupům u pacientů s protilátkovými deficitem. Jejím hlavním cílem je prevence rozvoje závažných infekčních komplikací, především respiračních zahrnující pneumonie. Bylo prokázáno, že nárůst sérové koncentrace o 1g/l snižuje incidenci pneumonií o 27%. (Orange, Grossman et al. 2010) (Obrázek 10)

Obrázek 10



**Obr. 10:** Závislost incidence pneumonií na předinfúzní sérové hladině IgG. (Orange, Grossman et al. 2010)

Doporučené dávkování substituční léčbou je 400 – 600mg/kg/měsíc, přičemž vyšší dávky jsou doporučeny u plicních komplikací spojených s recidivujícími a chronickými infekcemi (jako jsou bronchiectázie, chronická obstrukční plicní nemoc), ale i ostatních neinfekčních komplikací vyžadujících imunosupresivní terapii. Cílová sérová před infuzní koncentrace IgG je 5 - 6g/l. (Favre, Leimgruber et al. 2005, Cunningham-Rundles 2010) Existuje několik cest podání: 1. intravenózní (IVIg), 2. subkutánní (SCIg), 3. subkutánní s facilitovaným podáním za použití hyaluronidázy (fSCIg). Výše uvedené metody se liší v mnoha aspektech. Mezi nejvýznamnější patří frekvence podání (interval 3-4 týdny u IVIg a fSCIg, 1-2 týdny u SCIg), aplikační objem (prakticky neomezený u IVIg a fSCIg, 15 – 20ml/aplikační místo), biologická dostupnost (100% u IVIg, 93% u fSCIg a 65 - 69% u SCIg), incidence závažných nežádoucích účinků (až 29% pacientů u IVIg, do 3% u SCIg). ) (Berger, Jolles et al. 2013, Ponsford, Carne et al. 2015) (Obrázek 11)



**Obr. 11:** Srovnání farmakokinetiky jednotlivých imunoglobulinových přípravků (IVIg, SCIg a fSCIg). (Berger, Jolles et al. 2013, Ponsford, Carne et al. 2015)

Tyto aspekty nám umožňují maximálně přizpůsobit léčbu pacientovým potřebám a dosáhnout tak nejvyšší compliance a adherence k léčbě spolu s odpovídající účinností a bezpečností terapie. (Shapiro, Wasserman et al. 2017)

Antibiotická profylaxe u CVID je indikovaná u pacientů s přetrvávajícími infekty (především horních cest dýchacích) a progredujícím plicním postižením (bronchiektázie), u kterých k těmto komplikacím dochází i přes adekvátní imunoglobulinovou substituční terapii. Antibiotika volíme především na základě epidemiologických znalostí. U CVID převažuje výskyt respiračních infekcí způsobených *Streptococcus pneumoniae* a *Haemophilus influenzae*, u GIT infekcí pak *Gardia intestinalis*, *Salmonella species* či *Campylobacter species*. Lékem volby jsou tedy cotrimoxazol nebo makrolidová antibiotika. Preferenční podání cotrimoxazolu je indikováno především u pacientů s postižením buněčné složky adaptivní imunity, tedy u skupiny CVID pacientů spadající pod diagnózu LOCID. Mimo antibakteriálního spektra je totiž účinný také proti *Pneumocystis jiroveci*. Z dalších možností



jsou využívána makrolidová antibiotika. (Aguilar, Malphettes et al. 2014) U těchto antibiotik je pozorovatelný mimo antibakteriálního také imunomodulační protizánětlivý účinek. (Lopez-Boado and Rubin 2008)

Očkování u pacientů s CVID má hlavně diagnostickou úlohu. Selhání specifické postvakcinační odpovědi je jedním z diagnostických kritérií. Stanovujeme obvykle odpověď na polysacharidové (obvykle nekonjugovaná polysacharidová vakcína proti pneumokokům-Pneumovax 23) a proteinové antigeny (vakcína obsahující inaktivovaný tetanický toxoid-Tetavax). Jako dostatečná odpověď je bráno dosažení definované protektivní sérové hladiny specifických protilátek. Této odpovědi však pacienti s CVID nedosahují. (Goldacker, Draeger et al. 2007) Terapeutické využití vakcín, u kterých je dominantní především protilátková odpověď, je tedy minimální. Otázkou zůstává použití vakcín indukující buněčnou odpověď. Jedná se především o očkování proti virovým či mykobakteriálním infekcím, obsahující atenuované živé virové částice nebo BCG (bacil Calmette-Guérin). Vakcinace BCG a orální vakcína proti poliomyelitidě (dětská přenosná obrna) je obecně kontraindikovaná u všech pacientů s PID. Ostatní živé atenuované vakcíny jsou kontraindikované především u pacientů s narušenou adaptivní buněčnou imunitou – např. SCID/CID. Obecně lze rizikové pacienty určit na základě počtu CD4+ T lymfocytů: <500 CD4+ T lymfocytů /mm<sup>3</sup> (dospělí), <1000 CD4+ T lymfocytů /mm<sup>3</sup> (1–6 let) a <1500 CD4+ T lymfocytů /mm<sup>3</sup> (<1 rok). Z tohoto pohledu je tedy očkování těmito vakcínami kontraindikováno u pacientů s diagnózou LOCID, kteří se mohou skrývat v kohortě CVID pacientů. Významnou limitací je i provádění vakcinace u pacientů na imunoglobulinové substituční terapii, která odpověď imunitního systému na její podání snižuje. (Eibl and Wolf 2015) Neméně významným omezením je také možnost měření imunitní odpovědi na vakcinaci. U většiny vakcín jsou dány protektivní sérové hladiny specifických protilátek. Ty jsou sice definovány i pro celou řadu virových infekcí, nejsou však použitelné u CVID. Nicméně nepřítomnost specifických protilátek u těchto infekcí nevylučuje možnost T buněčnou odpovědi, která je v obraně proti virovým infekcím klíčová. Její měření je ale většinou metodicky složitější. Využívá především ELIspot, esejí detekující intracelulární (průtoková cytometrie, FACS) nebo extracelulární (Luminex, LegendPlex) produkci cytokinů. Tyto metody však nejsou rutinně používané a slouží spíše k experimentálním účelům. (Flaxman and Ewer 2018)

Standardní terapie neinfekčních komplikací obvykle odpovídá terapeutickým postupům zavedeným u imunokompetentních pacientů zahrnujícím širokou škálu imunosupresiv. U ITP a AIHA (nejčastějších autoimunitních komplikací u CVID pacientů) se používají především vysokodávkované glukokortikoidy, lze využít i vysokodávkové režimy IVIG. Rituximab (anti CD20 chimerická monoklonální protilátka) je pak obvykle terapií druhé linie. Použití

nespecifické imunosupresivní terapie však dále prohlubuje imunodeficitní stav. Je proto klíčové důsledné sledování pacientů, včasná diagnostika, především infekčních komplikací a jejich aktivní terapie, udržování dostatečných sérových hladin imunoglobulinů. (Cunningham-Rundles 2010, Gereige and Maglione 2019) Výjimku představují autoimunitní a lymfoproliferativní komplikace u skupiny CVID pacientů s odhalenou genetickou podstatou onemocnění. (Bonilla 2020) Identifikace monogenní příčiny v některých z těchto případů umožňuje zahájení specifické intervence. Jedná se například o pacienty s průkazem mutace v genu pro CTLA4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4), LRBA (LPS Responsive Beige-Like Anchor Protein) či PIK3CD (katalytická doména fosfatidylinositol-3-kinázy) / PI3KR1 (regulační podjednotka 1 fosfatidylinositol-3-kinázy. Někteří autoři tak doporučují rutinní genetické vyšetření u všech CVID pacientů. (Ameratunga, Lehnert et al. 2019) U CTLA4 a LRBA deficiencí zahrnuje specifická terapie použití abataceptu – fúzního proteinu molekuly CTLA4 a imunoglobulinu, který je indikován především u autoimunitních chorob jako je revmatoidní artritida. Terapii lze z tohoto pohledu považovat za substituci CTLA4 proteinu. (Gamez-Diaz, August et al. 2016, Verma, Burns et al. 2017) U APDS pak máme možnost inhibovat přímo PI3K specifickými inhibitory (idelalisib, leniolisib) nebo zasáhnout do signální dráhy AKT-mTOR (rapamycin), jejíž aktivitu významně ovlivňuje. (Michalovich and Nejentsev 2018)

HSCT (transplantace hematopoietických kmenových buněk) má v terapii CVID pouze marginální význam. Je vyhrazena především u pacientů s významnými a těžkými komplikacemi nezvladatelnými standardní terapií. HSCT u CVID je zatížena významnou mortalitou, přesahující 50% případů. K nejvýznamnějším příčinám se řadí hlavně infekce a reakce štěpu proti hostiteli (GvHD). Na druhou stranu úspěšně provedená HSCT vede nejen k úplné rekonstrukci imunitního systému s obnovením tvorby protilátek, ale také k vymizení neinfekčních projevů. (Wehr, Gennery et al. 2015)

## 8 Cíle práce

Epidemiologické znalosti neinfekčních projevů CVID, jejich charakter a klinický obraz, pochopení mechanismů dysregulace imunitního systému a odhalení rizikových faktorů významně přispívá ke včasné diagnostice těchto komplikací s možností zahájení adekvátní léčby. V našich projektech jsme se u pacientů se CVID zaměřili především na problematiku plicních neinfekčních komplikací, výskytu a charakterizaci asociovaných nádorů, významu určení genetického pozadí a jeho vztahu ke specifické terapii a úlohu nových přístupů imunoglobulinové substituční terapie.

Tyto cíle a otázky byly řešeny v následujících projektech a studiích:

- 1) monocentrická prospektivní neintervenční studie zaměřená na zhodnocení plicních funkcí, určení rizikových faktorů pro rozvoj bronchiálního astmatu, bronchiální hyperreaktivitu a jejich charakteru u CVID,
- 2) multicentrická retrospektivní neintervenční studie zaměřené na epidemiologii, rizikové faktory a genetické pozadí u pacientů s CVID, kteří rozvinuli maligní nádorové onemocnění,
- 3) mezinárodní multicentrická retrospektivní neintervenční studie zaměřená na klinické, radiologické a histopatologické rysy u celkem 53 pacientů s geneticky potvrzeným syndromem APDS1 a APDS2 fenotypově odpovídajícím CVID, CID či HIGM,
- 4) mezinárodní multicentrická prospektivní studie hodnotící terapeutické možnosti u 77 pacientů s APDS1 a APDS2,
- 5) multicentrická prospektivní neintervenční studie zkoumající bezpečnost, účinnost a tolerabilitu u pacientů po nemedicínské záměně (non-medical switch) z předchozího intravenózního preparátu nebo subkutánního aplikovaného lineárním dávkovačem.

## 9 Výsledky

V následující kapitole je uveden soubor publikovaných prací, které vznikly při řešení cílů definovaných v předchozí kapitole. Tyto práce jsou opatřeny komentářem definujícím a shrnujícím obsah celého sdělení. Komentář zahrnuje stručný úvod, popis použitých metod, dosažených výsledků a závěr. Plné znění jednotlivých prací je uvedeno v příloze této disertační práce. Experimentální práce, které do této koncepce nezapadají, a další typy publikací, např. přehledné články či články z českých recenzovaných časopisů, jsou uvedeny na konci práce v seznamu literatury.

### 9.1 Plicní neinfekčních projevy CVID z pohledu bronchiálního astmatu a jeho charakteru

**Milota, T., et al., *Bronchial Asthma and Bronchial Hyperresponsiveness and Their Characteristics in Patients with Common Variable Immunodeficiency. Int Arch Allergy Immunol, 2019. 178(2): p. 192-200.***

Plicní infekční a neinfekční projevy patří k nejčastějším komplikacím CVID, které významně přispívají k morbiditě pacientů. Mezi neinfekční komplikace se řadí celé spektrum onemocnění zahrnující také astma bronchiale. V této studii jsme se zaměřili na tuto klinickou jednotku a charakterizovali ji z pohledu epidemiologie a fenotypu, a možnosti diagnostiky.

**Metody:** Do studie bylo zahrnuto celkem 23 subjektů – 14 mužů (61%) a 9 žen (39%) s potvrzenou diagnózou CVID, kteří splnili vstupní/vylučovací kritéria a podepsali informovaný souhlas. U všech zařazených bylo provedeno spirometrické vyšetření, metacholinových bronchoprovokační test, měření oxidu dusnatého ve vydechaném vzduchu (FENO), stanoveny hladiny sérových imunoglobulinů IgG, IgA, IgM a IgE včetně alergen specifických IgE pokrývajících spektrum inhalačních alergenů a provedeny kožní prick testy k průkazu specifické senzibilizace. K posouzení aktivity plicního onemocnění byl použit upravený test kontroly astmatu (ACT). Z ostatních laboratorních parametrů byl hodnocen krevní obraz (především z pohledu eozinofilů a neutrofilů), základní lymfocytární populace (CD3+ a CD19+ lymfocyty) a sérová koncentrace eozinofilního kationického proteinu (ECP).

**Výsledky:** BHR byla zjištěna celkem u 12 z 23 pacientů (52%). Všichni tito pacienti měli při provedení klidové spirometrie normální hodnoty usilovného výdechu v 1. sekundě (FEV1) a poměru FEV1/ funkční vitální kapacity (FVC) ve srovnání s náležitými hodnotami zdravé

populace, ovšem ve srovnání se skupinou BHR negativních pacientů byla hodnota FEV1 [100% (95%CI: 96.3–103.7) vs. 93.2% (95%CI: 88.6–97.8);  $p = 0.021$ ] i FEV1/FVC [88.9% (95%CI: 84.8–93.1) vs. 82% (95%CI: 77.9–86.1);  $p = 0.013$ ] signifikantně nižší. Pacienti s pozitivním nálezem BHR při metacholinovém testu měli také signifikantně snížený průtok v periferních dýchacích cestách (MEF25): 106.5% (95%CI: 86.7–126.2) vs. 76.7% (95%CI: 64.3–89.3);  $p = 0.0053$ . Tito pacienti také udávali ve větší míře symptomy spojené s bronchiální obstrukcí (hodnoceno dle ACT). Z celkového počtu 23 zařazených pacientů se dg. astmatu na konci studie potvrdila u 8 z nich (odpovídalo prevalenci 35%). Vyšší prevalence BHR byla nalezena u žen s odpovídajícím relativním rizikem 2.89 pro její vznik. V ostatních sledovaných parametrech nebyl mezi skupinou BHR+ a BHR- zjištěn signifikantní rozdíl.

**Závěr:** V našem hodnoceném souboru byla prokázána vyšší prevalence BHR a AB ve srovnání s běžnou populací České republiky (výskyt AB 5%, data pro BHR nejsou dostupná). Za jednoznačný rizikový faktor bylo možné považovat ženské pohlaví. Toto pozorování bylo ve shodě s běžnou populací. V parametrech FENO, zastoupení eozinofilů a neutrofilů, základních lymfocytárních populací (CD3+ a CD19+ lymfocyty) v periferní krvi, sérových koncentrací ECP a imunoglobulinů nebyl nalezen signifikantní rozdíl mezi hodnocenými skupinami. Nealergické a neozinofilní astma lze tedy považovat za dominantní fenotyp u pacientů s CVID.

## 9.2 Nádorová onemocnění u pacientů s CVID z pohledu epidemiologie, rizikových faktorů přispívajících k jejich rozvoji a genetickému pozadí

**Kralickova, P., Milota, T. et al., *CVID-Associated Tumors: Czech Nationwide Study Focused on Epidemiology, Immunology, and Genetic Background in a Cohort of Patients With CVID*. Front Immunol, 2018. 9: p. 3135.**

Tato práce reprezentuje výsledky první české multicentrické studie zaměřené na nádorová onemocnění asociovaná s CVID. Studie byla zaměřena především na epidemiologii, rizikové faktory a genetické pozadí a jejich roli při vzniku malignit.

**Metody:** Do studie bylo celkem zahrnuto 295 pacientů, kteří splnili zařazovací/vylučovací kritéria a podepsali informovaný souhlas. Tito pacienti byli sledováni 3070 paciento-roků. SIR (standardized incidence ratio) bylo vypočítáno pro každý typ nádoru spolu s RR (risk ratio) kurčení významu komorbidit ve vztahu k nádorovému onemocnění. Dále byla provedena imunofenotypizace zahrnující hladinu imunoglobulinů a lymfocytárních

subpopulací. Imunofenotypizace byla provedena v době stanovení diagnózy nádorového onemocnění a po jeho terapii. Hodnoty byly srovnány s kohortou CVID pacientů, kteří nádorové onemocnění nerozvinuli. V následující části projektu bylo provedeno celoexomové sekvenování (WES) metodou sekvenování příští generace (NGS) u pacientů s lymfomy k identifikaci genetického pozadí.

**Výsledky:** V hodnocené kohortě bylo za sledované období diagnostikováno celkem 25 malignit u 22 pacientů, což odpovídá celkové prevalenci 7,4%. Celkové SIR pro všechny nádory bylo 6x větší ve srovnání s obecnou populací (6.3 (95%CI: 4.08–9.31). Nejčastějšími nádorovými onemocněními byly karcinomy žaludku tvořící 24% (n=6/22) diagnostikovaných malignit (SIR 5,7), B buněčný non-Hodgkinský lymfom (B-NHL) s 16% (n= 4/22); SIR 5,5), Hodgkinův lymfom (HL) s 20% (n=5/22; SIR 5). Průměrný věk při stanovení diagnózy byl 52,3 roku a významně se lišil u jednotlivých diagnostikovaných malignit: 55 – 59 let u karcinomu žaludku, 35 – 39 let u B-NHL a 40 – 44 let u HL. Průměrná doba trvání onemocnění byla 15 let od stanovení diagnózy, respektive 19 let od objevení se prvních symptomů. Nejvýznamnějším rizikovým faktorem výskytu nádorových nemocí byla identifikována přítomnost trombocytopenické purpury (ITP) s 3,5x vyšším rizikem ve srovnání s CVID pacienty bez ITP. V době diagnózy CVID se počty T a B lymfocytů výrazně nelišily mezi kohortami s malignitou a bez ní. K signifikantnímu poklesu absolutního počtu B lymfocytů však došlo u pacientů s lymfomy v době diagnózy malignity (0.11E9/l, 95%CI: 0–0.13 vs. 0.195 E9/l, 95%CI: 0.16–0.29; p = 0.006) U všech pacientů pak došlo k významnému poklesu T (0.65 E9/l, 95%CI: 0.46–0.75 vs. 1.22 E9/l, 95%CI: 1.07–1.47; p = 0.0004) i B lymfocytů (0.11 E9/l, 95%CI: 0–0.46 vs. 0.08 E9/l, 95%CI: 0.03–0.197; p = 0.02) po chemoterapii s výjimkou NK buněk, jejichž počet zůstal chemoterapií neovlivněn. Nejpoužívanějším léčivým přípravkem v rámci chemoterapeutických režimů byl rituximab způsobující depleci B lymfocytů. K jejich úplné depleci došlo u 67% (n= 6/9). Obnovení počtu B lymfocytů pak nastalo pouze u 50% (n=3/6) z nich. Nicméně i u těchto pacientů byl redukován počet zralých forem, plné rekonstituce tak nebylo dosaženo u žádného (průměrný interval sledování od chemoterapie 102 měsíců, rozmezí 6–204měsíců). Následné genetické vyšetření odhalilo varianty genů asociované jak s rozvojem PID (*CTLA4*, *PIK3CD*, *PMS2*), tak zvýšenou vnímavostí k malignitám (*BRCA1*, *RABEP1*, *EP300*, *KDM5A*).

**Závěr:** V souladu s výsledky předchozích publikovaných studií i v této práci reprezentující výsledky prvního multicentrického hodnocení zaměřeného výskyt nádorových onemocnění u pacientů s CVID byly karcinomy žaludku a lymfomy nejčastěji diagnostikovanou malignitou. Celkově bylo riziko pro rozvoj nádorového onemocnění až 6x vyšší u CVID

pacientů ve srovnání s obecnou populací. B-NHL a karcinomy žaludku pak byly diagnostikovány u významně mladších pacientů. Nejvýznamnější komorbiditou spojenou s 3,5x vyšším rizikem rozvoje malignity byla identifikována ITP. V době diagnózy CVID se počty T, B a NK buněk nelišily mezi kohortami CVID pacientů s nádorovým onemocněním a bez něj. Při chemoterapii došlo k výraznému poklesu především v počtu T lymfocytů u většiny pacientů. Chemoterapie měla také významný dopad na B lymfocyty. Pouze u poloviny pacientů došlo k obnovení jejich počtu. Ale ani u této skupiny nedošlo k plné rekonstituci zahrnující obnovu zralých forem B lymfocytů. Počet NK buněk zůstal neovlivněn. Při genetické analýze pak byly identifikovány varianty genů spojené s rozvojem PID. Jednalo se o mutace v genech pro *CTLA4*, *PIK3CD*, *PMS2*. Mimo těchto variant byly nalezeny i změny v genech asociovaných se zvýšeným rizikem a vnímavostí k nádorovým onemocněním jako *BRCAl*, *RABEP1*, *EP300*, *KDM5A*.

### 9.3 Význam genetického vyšetření pro diagnostiku a terapii pacientů s CVID

Genetické vyšetření hraje důležitou roli v dg. pacientů s protilátkovými imunodeficity. I přes to, že se v této skupině daří zjistit monogenní příčinu u malého procenta z nich, je pokus o identifikaci patologické mutace zásadní nejen pro definitivní potvrzení diagnózy a genetické poradenství, ale také pro odhad rizika pro potomky, určení rizika a charakteru komplikací a v některých případech umožňuje i zahájení specifické terapie.

#### 9.3.1 PI3KCD jako příklad monogenní příčiny CVID

**Coulter, T.I., et al., *Clinical spectrum and features of activated phosphoinositide 3-kinase delta syndrome: A large patient cohort study.* J Allergy Clin Immunol, 2017. 139(2): p. 597-606 e4.**

Mutace v genu pro PI3K je příkladem monogenní etiologie protilátkového deficitu s označením APDS. Tato studie byla cílena především na určení spektra klinických projevů a ostatních rysů spojených s tímto onemocněním.

**Metody:** Jednalo se o retrospektivní multicentrickou mezinárodní studii hodnotící 53 pacientů s potvrzenou mutací v genu *PIK3CD* asociovanou se syndromem APDS. Data byla získaná od pacientů po podepsání informovaného souhlasu po splnění daných zařazovacích a vylučujících kritérií. Studie byla provedena na základě vyplnění klinického dotazníku lékařem.

**Výsledky:** Dominujícím nálezem při genetické analýze byla mutace E1021K nalezená celkem u 50 pacientů, u zbývajících 3 příbuzensky spjatých subjektů se jednalo o mutaci E525K. Klinicky se APDS manifestoval především recidivujícími respiračními infekcemi (96%, n=51/53) s převahou infekčních pneumonií (85%, n=45/53) a infekcí horních cest dýchacích. Recidivující respirační infekce byly doprovázeny v 60% (n=32/53) případů rozvojem bronchiectázií. Mimo bakteriální infekce byl syndrom APDS doprovázen také zvýšenou náchylností k herpetickým virům (HSV, VZV, EBV, CMV) pozorovanou u 49% (n=26/53). Z neinfekčních komplikací byla nejčastěji diagnostikována lymfadenopatie a hepato/splenomegalie u 75% (n=40/53) pacientů. Lymfadenopatie byla signifikantně asociována s lymfoidní slizniční hyperplázií a herpetickými infekty. Autoimunitní a autoinflamatorní komplikace byly zjištěny v průběhu onemocnění u celkem 34% (n=18/53) pacientů, klinicky dominovaly autoimunitní cypopénie (17%, n=9/53). Nádorová onemocnění se rozvinula u 13% (n=7/53). Převažovaly lymfomy s obrazem difúzního velkobuněčného B lymfomu (15%, n=2/13), které byly diagnostikovány u pacientů s věkovým rozmezím 2 měsíce – 27 let, u 2/13 (15%) byly příčinou úmrtí. Žádné jiné typy nádorů, včetně solidních, se nevyskytly. Imunologické nálezy byly v celé kohortě velmi variabilní. Snížená sérová koncentrace byla zjištěna u 43% (n=23/53) APDS pacientů, u 58% (n=31/53) pacientů s normální sérovou hladinou IgG byl potvrzen deficit IgG2 podtřídy. Nejčastějšími nálezy bylo snížení IgA (50%, n=26/53) a zvýšení IgM (79%, n=42/53). Většina pacientů měla také významně sníženou postvakcinační odpověď. Při vyšetření parametrů buněčné imunity byl charakteristickým nálezem snížený počet CD4+ T lymfocytů (84%, n=45/53) a RTE Th (64%, n=34/53) buněk s posunem k zralým formám T lymfocytů (effector memory, senescentní). Jejich zvýšený počet byl nalezen až u 94% (n=50/53) pacientů. Naopak u B lymfocytů převažovaly hlavně méně zralé formy- tranzietní B lymfocyty (75%, n=40/53), zralé B lymfocyty (paměťové B lymfocyty) pak byly redukovány u 57% (n=30/53) APDS pacientů.

**Závěr:** Tato studie reprezentuje výsledky dosud největší hodnocené kohorty zahrnující celkem 53 pacientů s APDS syndromem, kteří byli identifikováni mezi pacienty s CVID, atypickým HIGM nebo CID. Klinicky u nich dominovaly respirační a virové infekce herpetického původu. Z neinfekčních komplikací pak byla zjištěna celá škála autoimunitních, autoinflamatorních či lymfoproliferativních projevů, významně přispívajících k mortalitě a morbiditě APDS pacientů. Imunofenotypově pak byla výrazná redukce zralých forem B lymfocytů, Th a RTE lymfocytů. Naopak byly zvýšeny počty méně zralých forem



B lymfocytů zahrnující tranzientní B lymfocyty a zralé formy T lymfocytů (effector memory, senescentní). Významně byly ovlivněny také hladiny imunoglobulinů, doprovázené narušenou tvorbou specifických protilátek.

### 9.3.2 Inhibice PI3K a AKT – mTOR dráhy jako příklad specifické terapie CVID

**Maccari, M.E., et al., *Disease Evolution and Response to Rapamycin in Activated Phosphoinositide 3-Kinase delta Syndrome: The European Society for Immunodeficiencies-Activated Phosphoinositide 3-Kinase delta Syndrome Registry*. Front Immunol, 2018. 9: p. 543.**

U některých klinických jednotek odhalení monogenní příčiny umožňuje bližší pochopení patofyziologických mechanismů vedoucích k rozvoji onemocnění. Tyto poznatky pak mohou vést k zahájení nebo objevu specifické terapie. Příkladem takového onemocnění je APDS1 a APDS2 a použití inhibitorů mTOR dráhy či přímo specifických inhibitorů PI3K. V této studii byly prezentovány výsledky týkající se bezpečnosti a účinnosti jednoho z mTOR inhibitorů – rapamycinu (sirolimus).

**Metody:** Retrospektivní multicentrická mezinárodní studie zahrnující pacienty s potvrzenou mutací v genu *PIK3CD* nebo *PIK3RI* asociovanou se syndromem APDS1 nebo APDS2. Data byla získána od pacientů po podepsání informovaného souhlasu se zařazením do ESID – APDS registru po splnění daných zařazovacích a vylučujících kritérií.

**Výsledky:** Celkem bylo do studie zahrnuto 51/77 pacientů s APDS1 (66%) a 26/77 s APDS2 (34%). Recidivující respirační infekce byly hlavním projevem onemocnění, který se vyskytl u 96% (n=74/77) pacientů, 59% (n=45/77) pak vyvinulo alespoň 1 epizodu infekční pneumonie a 51% (n= 39/77) bronchiektázie. Nejčastěji diagnostikovanou chronickou infekcí pak byla EBV (24%). Z neinfekčních komplikací dominovaly lymfoproliferační zahrnující periferní lymfadenopatie, splenomegalii a slizniční lymfoidní hyperplázii. Rozvoj lymfoproliferačních komplikací byl obvykle zjištěn později po manifestaci respiračních infekcí, předcházely ale rozvoji autoimunit a gastrointestinálnímu postižení. Celkem 8/77 (10%) pacientů v průběhu onemocnění vyvinulo lymfom – 2/8 (25%) Hodgkinovy a 6/8 (75%) non-Hodgkinské lymfomy. K dalším nejčastějším komplikacím onemocnění, které se v této kohortě vyskytly, patří ekzém (21%, n=16/77) a autoimunitní cytopénie (30%, n=23/77). Z pohledu terapie u 70% (n=54/77) byla zavedena profylaktická antibiotická terapie ve srovnání s 8% (n=6/77) pacientů na antimykotické profylaktické terapii. Imunoglobulinová substituční terapie byla podávána u 57% (n=44/77). U významného počtu pacientů byla

indikována také imunosupresivní terapie - 40% (n=31/77) kortikoterapie, 47% (n=36/77) jiný typ imunosuprese zahrnující azathioprim (1/77; 1,5%), mykofenolát (3/77; 4%), cyclosporin (5/77; 6,5%) a rapamycin (27/77; 35%). Rituximab pak byl podán u celkem 8/77 (10%) pacientů. Podrobná analýza pacientů užívajících rapamycin (sirolimus) ukázala, že hlavními indikacemi byla lymfoproliferace, kolitida nebo autoimunitní cytopénie. Rapamycin prokázal největší účinek na lymfoproliferativní projevy, kde celkem 8/27 (30%) pacientů dosáhlo kompletní remise a 11/27 (41%) pacientů remise částečné. U ostatních indikací nebyl efekt rapamycinu tak zřejmý. U 7 pacientů z 8 (87,5%), kteří před podáním rapamycinu užívali kortikoterapii, vedlo jeho podání k ukončení léčby kortikosteroidy. Nejčastějšími důvody k ukončení terapie rapamycinem pak byla non-compliance a vedlejší nežádoucí účinky (závažné bolesti hlavy, anorexie, renální toxicita).

**Závěr:** APDS1 a APDS2 reprezentují PID vyžadující v mnoha případech jak imunoglobulinovou substituční terapii a/nebo profylaktické podání ATB k prevenci infekčních projevů, tak imunosupresivní terapii, která je indikovaná především u neinfekčních komplikací. Ta zahrnuje širokou škálu léčivých přípravků od glukokortikoidů po celou řadu kortikoid šetřících chorobu modifikujících preparátů (azathioprim, cyclosporin, mykofenolát atd.). Z hlediska etiopatogeneze však specifický účinek poskytuje rapamycin (sirolimus) patřící do skupiny mTOR inhibitorů. Jeho účinek byl v této studii prokázán především u lymfoproliferativních komplikací. Méně efektivní však byl u projevů kolitidy a cytopenií. Významnou limitací byly také nežádoucí účinky, které byly jedním z nejčastějších důvodů ukončení terapie.

#### **9.4 Postavení imunoglobulinové substituční terapie v léčbě pacientů s CVID**

**Milota, T., et al., *Czech Hizentra Noninterventional Study With Rapid Push: Efficacy, Safety, Tolerability, and Convenience of Therapy With 20% Subcutaneous Immunoglobulin*. Clin Ther, 2019. 41(11): p. 2231-2238.**

Imunoglobulinová substituční terapie je základní léčebnou modalitou pacientů s CVID. Dostupnost celé řady imunoglobulinových preparátů lišících se svými vlastnostmi i způsoby podání nám umožňuje terapii maximálně přizpůsobit pacientovým potřebám. Jedním z nových léčivých přípravků, spojeným i s odlišným způsobem podání, je 20% imunoglobulin k subkutánnímu podání aplikovaný metodou „rapid push“ (bez použití lineárního dávkovače). Tato studie byla zaměřena především na hodnocení efektivity, nežádoucích účinků a tolerabilitu tohoto preparátu.

**Metody:** Neintervenční otevřená prospektivní multicentrická klinická studie fáze IV posuzující efektivitu, nežádoucí účinky a tolerabilitu nového 20% imunoglobulinu k subkutánnímu použití aplikovaného metodou „rapid push“. Hodnocení bylo prováděno za použití české jazykové verze TSQM II (Treatment Satisfaction Questionnaire for Medication). Předinfúzní sérové hladiny IgG, trvání aplikace, počet infekcí, počet hospitalizací a spotřeba antibiotik byly hodnoceny jako sekundární endpointy klinického hodnocení. Pacienti byli zařazeni po splnění daných zařazovacích a vylučujících kritérií a podepsání informovaného souhlasu.

**Výsledky:** Do studie bylo zahrnuto celkem 50 pacientů (21 mužů a 29 žen) s širokým spektrem primárních imunodeficiencí vyžadujících imunoglobulinovou substituční terapii. Průměrný věk pacientů při zařazení byl 43,3 roku (rozmezí 12 – 78 let). Z celkového počtu hodnocených subjektů byla nejvýznamněji zastoupenou skupinou pacientů pacienti s CVID (71%), následovaní deficitem IgG podtříd (18,5%). Ostatní deficiencie tvořily po 2% zařazených pacientů v každé kategorii. Z primárních endpointů došlo k signifikantnímu vzestupu ve všech doménách TSQM tj. – účinnosti (66; SD: 9,74 vs. 74,5; SD:10,38 bodů;  $p < 0,001$ ), tolerabilitě (63,6; SD:13,77 vs. 73,3; SD: 13,18 bodů;  $p < 0,001$ ) a celkové spokojenosti (67,1; SD: 13,81 vs. 76,3; SD:11,17 bodů;  $p < 0,001$ ). Došlo i k významné redukci nežádoucích účinků. Ve sledovaném roce před zahájením studie byla jejich prevalence 8,33% paciento-roků, resp. 0,36% ze všech aplikací ve srovnání s 6,25% a 0,1% v průběhu studie. Ve všech případech se jednalo o málo závažné nežádoucí reakce hodnocené jako stupeň 1 či 2. V žádném z případů nebyla splněna kritéria závažné nežádoucí reakce (hodnoceno dle Common Terminology Criteria for Adverse Events). Ze sledovaných sekundárních endpointů navzdory ekvivalentní dávce podávaných imunoglobulinů odpovídající dávkovacímu schématu před zahájením studie předinfúzní sérová koncentrace IgG postupně rostla z průměrné hodnoty 4,9 g/l (SD 2,39) na 6,5 g/l (SD 2,5). Rozdíly byly statisticky signifikantní ( $p < 0,001$ ). Vzestup sérové koncentrace byl jak u skupiny s předchozí léčbou IVIG, tak SCIG. Došlo také k významné redukci celkových (69% vs. 44% pacientů, kteří prodělali infekci) i závažných infekcí (11 vs. 1 případů pneumonie), spotřeby antibiotik/antimykotik (46 vs. 34 podání antibiotik) a hospitalizací (27% vs. 8% pacientů, kteří byli hospitalizováni) ve srovnání s rokem před zařazením do studie.

**Závěr:** V naší studii byla hodnocena bezpečnost, účinnost a tolerabilita nového preparátu - 20% subkutánního imunoglobulinu aplikovaného inovativní aplikační metodou „rapid push“. Studie splnila primární endpointy, kdy došlo ke zlepšení ve všech sledovaných doménách hodnocených dle TSQM. Během studie byl zaznamenán minimální počet nežádoucích účinků, jejichž prevalence byla nižší ve srovnání s referenčním obdobím 1 roku před zařazením

do studie. Pozitivního výsledku bylo dosaženo i u sledovaných sekundárních cílových parametrů zahrnující počet celkových a závažných infekcí, spotřebu antibiotik, počet hospitalizací a předinfúzní sérové hladiny imunoglobulinů, u které došlo k významnému zvýšení i přes ekvivalentní dávku podávanou před zahájením klinického hodnocení. Naše studie tak potvrdila, že podání 20% subkutánního imunoglobulinu metodou „rapid push“ (bez použití lineárního dávkovače) je účinná s uspokojivým bezpečnostním profilem a tolerabilitou.

## 10 Závěr a diskuze

Při řešení našich projektů jsme dospěli k celé řadě poznatků týkajících se širokého spektra komplikací onemocnění CVID. Naše závěry tak dále doplňují a potvrzují předchozí pozorování, že CVID je velmi heterogenní skupina onemocnění s variabilním klinickým průběhem. V našich studiích a projektech jsme se zaměřili především na zhodnocení epidemiologické situace, rizikových faktorů, etiopatofyziologických mechanismů, vlivu genetického pozadí a terapeutických možností vybraných komplikací spojených s CVID.

Z pohledu plicních neinfekčních komplikací jsme se zaměřili především na AB. V našem hodnoceném souboru byla prokázána vyšší prevalence BHR a AB ve srovnání s běžnou populací České republiky. Na základě našich výsledků lze předpokládat, že snížené hodnoty MEF25 mohou umožnit identifikovat rizikové pacienty vyžadující další vyšetření, včetně metacholinového bronchoprovakčního testu k vyloučení nebo průkazu AB či BHR. Jedním z významných rizikových faktorů rozvoje BHR a AB bylo identifikováno ženské pohlaví (relativní riziko rozvoje BHR pro ženy 2,89). AB a BHR měly u většiny pacientů s CVID nealergický a neozinofilní charakter. I přes dominantní charakter tohoto typu zánětu je vhodné doporučit i vyšetření FENO a ECP, které nám umožňuje rozpoznat skupinu pacientů, u kterých předpokládáme podíl alergického a eozinofilního fenotypu a kteří mohou profitovat z podání inhalačních kortikosteroidů. Na základě našich výsledků lze doporučit, aby se spirometrické vyšetření zahrnující stanovení FEV1, FEV1/FVC a MEF25, ale také stanovení FENO a ECP, staly základními vyšetřeními, která by měla být v pravidelných intervalech prováděna u všech pacientů s CVID. (Milota, Bloomfield et al. 2019)

K dalším neinfekčním komplikacím významně ovlivňujícím morbiditu i mortalitu pacientů patří malignity. V této části práce jsme prezentovali výsledky prvního multicentrického hodnocení provedeného v České republice zaměřeného na výskyt nádorových onemocnění u pacientů s CVID. V souladu se závěry předchozích studií i v této byly karcinomy žaludku a lymfomy nejčastěji diagnostikovanými malignitami. Nejvýznamnější komorbiditou

spojenou s výrazně vyšším rizikem (3,5x) pro rozvoj malignity byla zjištěna ITP. Na základě tohoto faktu můžeme nepřímo předpokládat, že k rozvoji nádorových komplikací výrazně přispívá i dysregulace imunitního systému. Na zastoupení jednotlivých lymfocytárních populací měla významný dopad také chemoterapie. K dramatickému poklesu došlo především v počtu T lymfocytů. U většiny pacientů bylo odhaleno dlouhodobé snížení pod  $<0.343$  E109/l, které je považováno za prognosticky negativní faktor pro 5-ti leté přežití nemocných po chemoterapii. Z tohoto pohledu se tak dají pacienti s CVID podstupující tuto léčbu označit za vysoce rizikovou skupinu. Dlouhodobý dopad měla chemoterapie také na B lymfocyty. Obnovení jejich počtu po depleční terapii rituximabem bylo zjištěno pouze u poloviny z nich. Ale ani u této skupiny nedošlo k plné rekonstrukci zahrnující zralé formy B lymfocytů. V kontrastu s ostatními studiemi zabývajícími se vlivem chemoterapie na NK buněk zůstal překvapivě jejich počet chemoterapií neovlivněn a po celou dobu stabilní. Při genetické analýze pak byly identifikovány varianty genů spojené jak s rozvojem PID (*CTLA4*, *PIK3CD*, *PMS2*), tak se zvýšeným rizikem a vnímavostí k nádorovým onemocněním jako *BRC1*, *RABEP1*, *EP300*, *KDM5A*. Vznik nádorů u pacientů s CVID lze na základě těchto výsledků označit za polygenní a multifaktoriální. Genetické vyšetření nám umožňuje identifikovat pacienty s významně zvýšeným rizikem vzniku těchto komplikací. Mělo by tedy být indikováno u pacientů s přítomností rizikových faktorů jako je například ITP, která patří mezi neinfekční projevy rozvíjející se na podkladě dysregulace imunitního systému. Pacienti s CVID pak patří k rizikovým pacientům i z pohledu možných komplikací ve vztahu k chemoterapii. (Kralickova, Milota et al. 2018)

Jedním z genů, který byl v předchozí studii identifikován u pacienta s protilátkovým imunodeficitem a nádorovým onemocněním, je *PIK3CD*. Tento gen je spojen především s rozvojem syndromu, který je označován jako APDS, resp. APDS1. Fenotypově se jedná o velmi heterogenní skupinu pacientů s velmi variabilním průběhem onemocnění, který byl demonstrován na kohortě 53 pacientů analyzovaných v rámci mezinárodní retrospektivní multicentrické studie. Variabilita byla zjištěna nejen na úrovni klinického obrazu, ale také v laboratorních nálezech. Pacienti s APDS byli identifikováni v kohortách pacientů CVID, atypickým HIGM nebo CID. Z infekčních projevů tak u nich dominovaly především respirační infekce spolu s redukcí zralých forem B lymfocytů - znaky typické pro protilátkové deficiencie jako je CVID, ale vzhledem k výrazné redukcí Th lymfocytů a zvýšené vnímavosti k virovým infekcím obraz odpovídal také kombinovanému imunodeficitu. Důležitá je také klinická podobnost s HIGM. Na základě těchto výsledků lze doporučit, aby pacienti s HIGM po vyloučení typických mutací asociovaných s HIGM (*CD40*, *CD40L*, *AICDA*) byli vyšetřeni také na *PIK3CD*.

Určení genetické příčiny u pacientů je důležité nejen v rámci genetického poradenství, ale hraje důležitou roli i při volbě vhodné léčebné strategie. Tu ovlivňuje především rozsah onemocnění od asymptomatických jedinců nevyžadujících terapii po pacienty s velmi závažným průběhem a nutností provedení HSCT. Specifická terapie pak zahrnuje již dostupné inhibitory mTOR dráhy (sirolimus, everolimus) a přímé inhibitory PI3K (testované v rámci klinických hodnocení, které ovlivňují především neinfekční komplikace jako autoimunitní, autoinflamatorní či lymfoproliferativní projevy. (Coulter, Chandra et al. 2017). V roce 2018 byly publikovány výsledky dosud největší mezinárodní multicentrické prospektivní studie hodnotící jednotlivé terapeutické možnosti použité v terapii 77 pacientů s APDS1 a APDS2. Terapii těchto onemocnění můžeme rozdělit na léčbu infekčních a neinfekčních komplikací. Infekční projevy jsou z terapeutického hlediska zvladatelné substituční imunoglobulinovou léčbou, antibiotiky či antivirotyky. Komplikovanější je ale řešení neinfekčních projevů vyžadující imunosupresivní léčbu. Před objasněním podstaty tohoto onemocnění bylo nejrozšířenější imunosupresivní léčbou podání glukokortikoidů, jejichž dlouhodobé užívání může ale být asociováno s řadou závažných nežádoucích účinků. Objasnění a pochopení etiopatogeneze APDS vedlo k využití mTOR inhibitorů (sirolimus, everolimus), které byly předtím známé především v onkologii. Ty svou efektivitu potvrdily hlavně u lymfoproliferativních projevů. Méně efektivní však byly u projevů kolitidy a cytopenií. Toto pozorování je v souladu s nálezy potvrzující efektivitu mTOR inhibitorů i u jiných PID spojených s lymfoproliferací jako je autoimunitní lymfoproliferativní syndrom (ALPS). Mimo mTOR inhibitorů mají nadějně výsledky i specifické PI3K inhibitory (jako např. leniosilib). Nicméně použití těchto léčiv bylo prozatím vyzkoušeno pouze u malého spektra pacientů. K ověření jejich účinnosti a bezpečnosti bude zapotřebí dalších klinických hodnocení, podobně jako u HSCT reprezentující možnou léčebnou modalitu, u které jsou dostupná data pouze omezeného počtu pacientů. (Maccari, Abolhassani et al. 2018). Podobná situace je u celé řady dalších onemocnění ze skupiny protilátkových deficiencí, u kterých byla odhalena monogenní příčina a je dostupná specifická terapie. Jako příklad lze uvést CTLA4 či LRBA deficienci a terapeutickém použití abataceptu.

Základním terapeutickým přístupem a zlatým standardem léčby protilátkových imunodeficiencí však zůstává imunoglobulinová substituční terapie, která vede k významné redukci závažných infekcí a jejich následků. V současnosti existuje několik typů imunoglobulinových přípravků lišících se svými vlastnostmi a odlišnými cestami podání zahrnující intravenózní a subkutánní podání. Jedním z nejnovějších preparátů je 20% roztok imunoglobulinů stabilizovaný prolinem určený k subkutánnímu podání. Vedle nového

přípravku s odlišnými vlastnostmi je jeho aplikace spojena také s novou metodou podání „rapid push“ bez nutnosti použití lineárního dávkovače.

V naší studii byla hodnocena bezpečnost, účinnost a tolerabilita tohoto nového preparátu i inovativní aplikační metody „rapid push“. Jednalo se o vůbec první hodnocení tohoto typu ve střední a východní Evropě. Studie splnila sledované primární i sekundární endpointy, kdy došlo ke zlepšení ve všech sledovaných doménách hodnocených dle TSQM. Navíc byl během studie zaznamenán minimální počet nežádoucích účinků, jejichž prevalence byla nižší ve srovnání s referenčním obdobím 1 roku před zařazením do studie. Zajímavým nálezem bylo zjištění, že u předinfúzních sérové hladiny imunoglobulinů došlo k jejich významnému zvýšení i přes ekvivalentní dávku podávanou před zahájením klinického hodnocení formou IVIG. Tento fakt koresponduje s evropskými doporučeními, které při převodu z IVIG na SCIG doporučují ponechat poměr 1:1 v porovnání s americkými postupy, které dop. navýšit dávku v poměru 1:1,5 z důvodu odlišné biologické dostupnosti. Tyto výsledky jsou tedy srovnatelné s výsledky předchozích studií. SCIG v těchto studiích ovšem nebyly aplikovány metodou „rapid push“, ale lineárním dávkovačem. Naše studie tak potvrdila, že podání 20% subkutánního imunoglobulinu metodou „rapid push“ je bezpečné, účinné a velmi dobře tolerované. Tím odpadá nutnost použití lineárního dávkovače k aplikaci, která může být limitující jak z pohledu finanční zátěže, tak technické dovednosti pacientů. Tento preparát tedy rozšiřuje dostupné spektrum imunoglobulinů k subkutánnímu podání a svými novými vlastnostmi umožňuje se dále přizpůsobit potřebám pacientů a zvýšit tak jejich adherenci a compliance k léčbě, které jsou klíčové. (Milota, Bloomfield et al. 2019)

Celá řada otázek během řešení tohoto projektu byla zodpovězena díky mezinárodní, multicentrické a multioborové spolupráci, která je zásadní při řešení vzácných onemocnění, kam se primární imunodeficiencie bezesporu řadí. Při realizaci těchto studií a projektů bylo použité také široké spektrum laboratorních vyšetřovacích metod, které nám umožnily významně rozšířit rutinně využívané spektrum diagnostických možností. Nicméně mnoho dalších otázek zůstává nevyřešeno. V návaznosti na výsledky tohoto projektu bychom chtěli pokračovat ve výzkumu úlohy autoprotilátek u autoimunitních komplikací běžného variabilního imunodeficitu, v rámci mezinárodní spolupráce i s dalšími centry získat podrobnější znalosti o epidemiologii a rizikových faktorech pro vznik maligních nádorů, v neposlední řadě se také blíže zaměřit na úlohu jednotlivých buněčných populací a subpopulací zahrnující především T lymfocyty a dendritické buňky z pohledu jejich fenotypu či spektra produkovaných cytokinů, chemokinů a dalších látek podílejících se na regulaci/dysregulaci imunitního systému.

## 11 Použitá literatura

- Agondi, R. C., M. T. Barros, L. V. Rizzo, J. Kalil and P. Giavina-Bianchi (2010). "Allergic asthma in patients with common variable immunodeficiency." *Allergy* **65**(4): 510-515.
- Aguilar, C., M. Malphettes, J. Donadieu, O. Chandesris, H. Coignard-Biehler, E. Catherinot, I. Pellier, J. L. Stephan, V. Le Moing, V. Barlogis, F. Suarez, S. Gerart, F. Lanternier, A. Jaccard, P. H. Consigny, F. Moulin, O. Launay, M. Lecuit, O. Hermine, E. Oksenhendler, C. Picard, S. Blanche, A. Fischer, N. Mahlaoui and O. Lortholary (2014). "Prevention of infections during primary immunodeficiency." *Clin Infect Dis* **59**(10): 1462-1470.
- Ameratunga, R., M. Brewerton, C. Slade, A. Jordan, D. Gillis, R. Steele, W. Koopmans and S. T. Woon (2014). "Comparison of diagnostic criteria for common variable immunodeficiency disorder." *Front Immunol* **5**: 415.
- Ameratunga, R., K. Lehnert and S. T. Woon (2019). "All Patients With Common Variable Immunodeficiency Disorders (CVID) Should Be Routinely Offered Diagnostic Genetic Testing." *Front Immunol* **10**: 2678.
- Azizi, G., N. Hafezi, H. Mohammadi, R. Yazdani, T. Alinia, M. Tavakol, A. Aghamohammadi and A. Mirshafiey (2017). "Abnormality of regulatory T cells in common variable immunodeficiency." *Cell Immunol* **315**: 11-17.
- Azizi, G., N. Rezaei, F. Kiaee, N. Tavakolinia, R. Yazdani, A. Mirshafiey and A. Aghamohammadi (2016). "T-Cell Abnormalities in Common Variable Immunodeficiency." *J Investig Allergol Clin Immunol* **26**(4): 233-243.
- Bang, T. J., J. C. Richards, A. L. Olson, S. D. Groshong, E. W. Gelfand and D. A. Lynch (2018). "Pulmonary Manifestations of Common Variable Immunodeficiency." *J Thorac Imaging* **33**(6): 377-383.
- Barsotti, N. S., R. R. Almeida, P. R. Costa, M. T. Barros, J. Kalil and C. M. Kokron (2016). "IL-10-Producing Regulatory B Cells Are Decreased in Patients with Common Variable Immunodeficiency." *PLoS One* **11**(3): e0151761.
- Berger, M., S. Jolles, J. S. Orange and J. W. Sleasman (2013). "Bioavailability of IgG administered by the subcutaneous route." *J Clin Immunol* **33**(5): 984-990.
- Bertinchamp, R., L. Gerard, D. Boutboul, M. Malphettes, C. Fieschi, E. Oksenhendler and D. s. group (2016). "Exclusion of Patients with a Severe T-Cell Defect Improves the Definition of Common Variable Immunodeficiency." *J Allergy Clin Immunol Pract* **4**(6): 1147-1157.
- Bogaert, D. J., M. Dullaers, B. N. Lambrecht, K. Y. Vermaelen, E. De Baere and F. Haerynck (2016). "Genes associated with common variable immunodeficiency: one diagnosis to rule them all?" *J Med Genet* **53**(9): 575-590.
- Bonilla, F. A. (2020). "Personalized therapy for common variable immunodeficiency." *Allergy Asthma Proc* **41**(1): 19-25.
- Bonilla, F. A., I. Barlan, H. Chapel, B. T. Costa-Carvalho, C. Cunningham-Rundles, M. T. de la Morena, F. J. Espinosa-Rosales, L. Hammarstrom, S. Nonoyama, I. Quinti, J. M. Routes, M. L. Tang and K. Warnatz (2016). "International Consensus Document (ICON): Common Variable Immunodeficiency Disorders." *J Allergy Clin Immunol Pract* **4**(1): 38-59.
- Bousfiha, A., L. Jeddane, C. Picard, F. Ailal, H. Bobby Gaspar, W. Al-Herz, T. Chatila, Y. J. Crow, C. Cunningham-Rundles, A. Etzioni, J. L. Franco, S. M. Holland, C. Klein, T. Morio, H. D. Ochs, E. Oksenhendler, J. Puck, M. L. K. Tang, S. G. Tangye, T. R. Torgerson, J. L. Casanova and K. E. Sullivan (2018). "The 2017 IUIS Phenotypic Classification for Primary Immunodeficiencies." *J Clin Immunol* **38**(1): 129-143.
- Cerutti, A., M. Cols and I. Puga (2013). "Marginal zone B cells: virtues of innate-like antibody-producing lymphocytes." *Nat Rev Immunol* **13**(2): 118-132.
- Coulter, T. I., A. Chandra, C. M. Bacon, J. Babar, J. Curtis, N. Sreaton, J. R. Goodlad, G. Farmer, C. L. Steele, T. R. Leahy, R. Doffinger, H. Baxendale, J. Bernatoniene, J. D. Edgar, H. J. Longhurst, S. Ehl, C. Speckmann, B. Grimbacher, A. Sediva, T. Milota, S. N. Faust, A. P. Williams, G. Hayman, Z. Y. Kucuk, R. Hague, P. French, R. Brooker, P. Forsyth, R.



Herriot, C. Cancrini, P. Palma, P. Ariganello, N. Conlon, C. Feighery, P. J. Gavin, A. Jones, K. Imai, M. A. Ibrahim, G. Markelj, M. Abinun, F. Rieux-Laucat, S. Latour, I. Pellier, A. Fischer, F. Touzot, J. L. Casanova, A. Durandy, S. O. Burns, S. Savic, D. S. Kumararatne, D. Moshous, S. Kracker, B. Vanhaesebroeck, K. Okkenhaug, C. Picard, S. Nejentsev, A. M. Condliffe and A. J. Cant (2017). "Clinical spectrum and features of activated phosphoinositide 3-kinase delta syndrome: A large patient cohort study." J Allergy Clin Immunol **139**(2): 597-606 e594.

Cunningham-Rundles, C. (2010). "How I treat common variable immune deficiency." Blood **116**(1): 7-15.

Durandy, A., S. Kracker and A. Fischer (2013). "Primary antibody deficiencies." Nat Rev Immunol **13**(7): 519-533.

Eibl, M. M. and H. M. Wolf (2015). "Vaccination in patients with primary immune deficiency, secondary immune deficiency and autoimmunity with immune regulatory abnormalities." Immunotherapy **7**(12): 1273-1292.

Eto, D., C. Lao, D. DiToro, B. Barnett, T. C. Escobar, R. Kageyama, I. Yusuf and S. Crotty (2011). "IL-21 and IL-6 are critical for different aspects of B cell immunity and redundantly induce optimal follicular helper CD4 T cell (T<sub>fh</sub>) differentiation." PLoS One **6**(3): e17739.

Farrugia, M. and B. Baron (2017). "The Role of Toll-Like Receptors in Autoimmune Diseases through Failure of the Self-Recognition Mechanism." Int J Inflam **2017**: 8391230.

Favre, O., A. Leimgruber, A. Nicole and F. Spertini (2005). "Intravenous immunoglobulin replacement prevents severe and lower respiratory tract infections, but not upper respiratory tract and non-respiratory infections in common variable immune deficiency." Allergy **60**(3): 385-390.

Fitzgerald-Bocarsly, P., J. Dai and S. Singh (2008). "Plasmacytoid dendritic cells and type I IFN: 50 years of convergent history." Cytokine Growth Factor Rev **19**(1): 3-19.

Flaxman, A. and K. J. Ewer (2018). "Methods for Measuring T-Cell Memory to Vaccination: From Mouse to Man." Vaccines (Basel) **6**(3).

Gamez-Diaz, L., D. August, P. Stepensky, S. Revel-Vilk, M. G. Seidel, M. Noriko, T. Morio, A. J. J. Worth, J. Blessing, F. Van de Veerdonk, T. Feuchtinger, M. Kanariou, A. Schmitt-Graeff, S. Jung, S. Seneviratne, S. Burns, B. H. Belohradsky, N. Rezaei, S. Bakhtiar, C. Speckmann, M. Jordan and B. Grimbacher (2016). "The extended phenotype of LPS-responsive beige-like anchor protein (LRBA) deficiency." J Allergy Clin Immunol **137**(1): 223-230.

Geijtenbeek, T. B. and S. I. Gringhuis (2016). "C-type lectin receptors in the control of T helper cell differentiation." Nat Rev Immunol **16**(7): 433-448.

Gereige, J. D. and P. J. Maglione (2019). "Current Understanding and Recent Developments in Common Variable Immunodeficiency Associated Autoimmunity." Front Immunol **10**: 2753.

Goldacker, S., R. Draeger, K. Warnatz, D. Huzly, U. Salzer, J. Thiel, H. Eibel, M. Schlesier and H. H. Peter (2007). "Active vaccination in patients with common variable immunodeficiency (CVID)." Clin Immunol **124**(3): 294-303.

Grimbacher, B. and E. R. W. Party (2014). "The European Society for Immunodeficiencies (ESID) registry 2014." Clin Exp Immunol **178 Suppl 1**: 18-20.

Chapel, H. (2016). "Common Variable Immunodeficiency Disorders (CVID) - Diagnoses of Exclusion, Especially Combined Immune Defects." J Allergy Clin Immunol Pract **4**(6): 1158-1159.

Chu, V. T., P. Enghard, G. Riemekasten and C. Berek (2007). "In vitro and in vivo activation induces BAFF and APRIL expression in B cells." J Immunol **179**(9): 5947-5957.

Kelly, B. T., J. S. Tam, J. W. Verbsky and J. M. Routes (2013). "Screening for severe combined immunodeficiency in neonates." Clin Epidemiol **5**: 363-369.

Kotlarz, D., N. Zietara, J. D. Milner and C. Klein (2014). "Human IL-21 and IL-21R deficiencies: two novel entities of primary immunodeficiency." Curr Opin Pediatr **26**(6): 704-712.

Kralickova, P., T. Milota, J. Litzman, I. Malkusova, D. Jilek, J. Petanova, J. Vydlakova, A. Zimulova, E. Fronkova, M. Svaton, V. Kanderova, M. Bloomfield, Z. Parackova, A. Klocperk, J. Haviger, T. Kalina and A. Sediva (2018). "COVID-Associated Tumors: Czech Nationwide Study Focused on Epidemiology, Immunology, and Genetic Background in a Cohort of Patients With COVID." *Front Immunol* **9**: 3135.

Kubiczkova, L., L. Sedlarikova, R. Hajek and S. Sevcikova (2012). "TGF-beta - an excellent servant but a bad master." *J Transl Med* **10**: 183.

LeBien, T. W. and T. F. Tedder (2008). "B lymphocytes: how they develop and function." *Blood* **112**(5): 1570-1580.

Lopez-Boado, Y. S. and B. K. Rubin (2008). "Macrolides as immunomodulatory medications for the therapy of chronic lung diseases." *Curr Opin Pharmacol* **8**(3): 286-291.

Maccari, M. E., H. Abolhassani, A. Aghamohammadi, A. Aiuti, O. Aleinikova, C. Bangs, S. Baris, F. Barzaghi, H. Baxendale, M. Buckland, S. O. Burns, C. Cancrini, A. Cant, P. Cathebras, M. Cavazzana, A. Chandra, F. Conti, T. Coulter, L. A. Devlin, J. D. M. Edgar, S. Faust, A. Fischer, M. Garcia-Prat, L. Hammarstrom, M. Heeg, S. Jolles, E. Karakoc-Aydiner, G. Kindle, A. Kiykim, D. Kumararatne, B. Grimbacher, H. Longhurst, N. Mahlaoui, T. Milota, F. Moreira, D. Moshous, A. Mukhina, O. Neth, B. Neven, A. Nieters, P. Olbrich, A. Ozen, J. Pachlopnik Schmid, C. Picard, S. Prader, W. Rae, J. Reichenbach, S. Rusch, S. Savic, A. Scarselli, R. Scheible, A. Sediva, S. O. Sharapova, A. Shcherbina, M. Slatter, P. Soler-Palacin, A. Stanislas, F. Suarez, F. Tucci, A. Uhlmann, J. van Montfrans, K. Warnatz, A. P. Williams, P. Wood, S. Kracker, A. M. Condliffe and S. Ehl (2018). "Disease Evolution and Response to Rapamycin in Activated Phosphoinositide 3-Kinase delta Syndrome: The European Society for Immunodeficiencies-Activated Phosphoinositide 3-Kinase delta Syndrome Registry." *Front Immunol* **9**: 543.

MacLennan, I. and C. Vinuesa (2002). "Dendritic cells, BAFF, and APRIL: innate players in adaptive antibody responses." *Immunity* **17**(3): 235-238.

Malphettes, M., L. Gerard, M. Carmagnat, G. Mouillot, N. Vince, D. Boutboul, A. Berezne, R. Nove-Josserand, V. Lemoing, L. Tetu, J. F. Viallard, B. Bonnotte, M. Pavic, J. Haroche, C. Larroche, J. C. Brouet, J. P. Femand, C. Rabian, C. Fieschi, E. Oksenhendler and D. S. Group (2009). "Late-onset combined immune deficiency: a subset of common variable immunodeficiency with severe T cell defect." *Clin Infect Dis* **49**(9): 1329-1338.

Mauri, C. and M. Menon (2017). "Human regulatory B cells in health and disease: therapeutic potential." *J Clin Invest* **127**(3): 772-779.

Michalovich, D. and S. Nejentsev (2018). "Activated PI3 Kinase Delta Syndrome: From Genetics to Therapy." *Front Immunol* **9**: 369.

Milota, T., M. Bloomfield, P. Kralickova, D. Jilek, V. Novak, J. Litzman, H. Posova, L. Mrazova, J. Poloniova, M. Prucha, P. Rozsival, V. Rauschova, G. Philipp and A. Sediva (2019). "Czech Hizentra Noninterventional Study With Rapid Push: Efficacy, Safety, Tolerability, and Convenience of Therapy With 20% Subcutaneous Immunoglobulin." *Clin Ther* **41**(11): 2231-2238.

Milota, T., M. Bloomfield, Z. Parackova, A. Sediva, J. Bartunkova and R. Horvath (2019). "Bronchial Asthma and Bronchial Hyperresponsiveness and Their Characteristics in Patients with Common Variable Immunodeficiency." *Int Arch Allergy Immunol* **178**(2): 192-200.

Montoya, M., G. Schiavoni, F. Mattei, I. Gresser, F. Belardelli, P. Borrow and D. F. Tough (2002). "Type I interferons produced by dendritic cells promote their phenotypic and functional activation." *Blood* **99**(9): 3263-3271.

Niewold, T. B. (2014). "Type I interferon in human autoimmunity." *Front Immunol* **5**: 306.

Okada, T., V. N. Ngo, E. H. Ekland, R. Forster, M. Lipp, D. R. Littman and J. G. Cyster (2002). "Chemokine requirements for B cell entry to lymph nodes and Peyer's patches." *J Exp Med* **196**(1): 65-75.

Oksenhendler, E., L. Gerard, C. Fieschi, M. Malphettes, G. Mouillot, R. Jaussaud, J. F. Viallard, M. Gardembas, L. Galicier, N. Schleinitz, F. Suarez, P. Soulas-Sprauel, E. Hachulla, A. Jaccard, A. Gardeur, I. Theodorou, C. Rabian, P. Debre and D. S. Group (2008).

"Infections in 252 patients with common variable immunodeficiency." Clin Infect Dis **46**(10): 1547-1554.

Orange, J. S., W. J. Grossman, R. J. Navickis and M. M. Wilkes (2010). "Impact of trough IgG on pneumonia incidence in primary immunodeficiency: A meta-analysis of clinical studies." Clin Immunol **137**(1): 21-30.

Peng, B., Y. Ming and C. Yang (2018). "Regulatory B cells: the cutting edge of immune tolerance in kidney transplantation." Cell Death Dis **9**(2): 109.

Picard, C., H. Bobby Gaspar, W. Al-Herz, A. Bousfiha, J. L. Casanova, T. Chatila, Y. J. Crow, C. Cunningham-Rundles, A. Etzioni, J. L. Franco, S. M. Holland, C. Klein, T. Morio, H. D. Ochs, E. Oksenhendler, J. Puck, M. L. K. Tang, S. G. Tangye, T. R. Torgerson and K. E. Sullivan (2018). "International Union of Immunological Societies: 2017 Primary Immunodeficiency Diseases Committee Report on Inborn Errors of Immunity." J Clin Immunol **38**(1): 96-128.

Ponsford, M., E. Carne, C. Kingdon, C. Joyce, C. Price, C. Williams, T. El-Shanawany, P. Williams and S. Jolles (2015). "Facilitated subcutaneous immunoglobulin (fSCIg) therapy--practical considerations." Clin Exp Immunol **182**(3): 302-313.

Pritchard, N. R. and K. G. Smith (2003). "B cell inhibitory receptors and autoimmunity." Immunology **108**(3): 263-273.

Pulvirenti, F., A. Pecoraro, F. Cinetto, C. Milito, M. Valente, E. Santangeli, L. Crescenzi, F. Rizzo, S. Tabolli, G. Spadaro, C. Agostini and I. Quinti (2018). "Gastric Cancer Is the Leading Cause of Death in Italian Adult Patients With Common Variable Immunodeficiency." Front Immunol **9**: 2546.

Resnick, E. S., E. L. Moshier, J. H. Godbold and C. Cunningham-Rundles (2012). "Morbidity and mortality in common variable immune deficiency over 4 decades." Blood **119**(7): 1650-1657.

Rosser, E. C. and C. Mauri (2015). "Regulatory B cells: origin, phenotype, and function." Immunity **42**(4): 607-612.

Roth, D. B. (2014). "V(D)J Recombination: Mechanism, Errors, and Fidelity." Microbiol Spectr **2**(6).

Seidel, M. G., G. Kindle, B. Gathmann, I. Quinti, M. Buckland, J. van Montfrans, R. Scheible, S. Rusch, L. M. Gasteiger, B. Grimbacher, N. Mahlaoui, S. Ehl, E. R. W. Party and collaborators (2019). "The European Society for Immunodeficiencies (ESID) Registry Working Definitions for the Clinical Diagnosis of Inborn Errors of Immunity." J Allergy Clin Immunol Pract **7**(6): 1763-1770.

Selenius, J. S., T. Martelius, S. Pikkarainen, S. Siitonen, E. Mattila, R. Pietikainen, P. Suomalainen, A. H. Aalto, J. Saarela, E. Einarsdottir, A. Jarvinen, M. Farkkila, J. Kere and M. Seppanen (2017). "Unexpectedly High Prevalence of Common Variable Immunodeficiency in Finland." Front Immunol **8**: 1190.

Shapiro, R. S. (2011). "Malignancies in the setting of primary immunodeficiency: Implications for hematologists/oncologists." Am J Hematol **86**(1): 48-55.

Shapiro, R. S., R. L. Wasserman, V. Bonagura and S. Gupta (2017). "Emerging Paradigm of Primary Immunodeficiency Disease: Individualizing Immunoglobulin Dose and Delivery to Enhance Outcomes." J Clin Immunol **37**(2): 190-196.

Stavnezer, J. and C. E. Schrader (2014). "IgH chain class switch recombination: mechanism and regulation." J Immunol **193**(11): 5370-5378.

Steri, M., V. Orru, M. L. Idda, M. Pitzalis, M. Pala, I. Zara, C. Sidore, V. Faa, M. Floris, M. Deiana, I. Asunis, E. Porcu, A. Mulas, M. G. Piras, M. Lobina, S. Lai, M. Marongiu, V. Serra, M. Marongiu, G. Sole, F. Busonero, A. Maschio, R. Cusano, G. Cuccuru, F. Deidda, F. Poddie, G. Farina, M. Dei, F. Viridis, S. Olla, M. A. Satta, M. Pani, A. Delitala, E. Cocco, J. Frau, G. Coghe, L. Lorefice, G. Fenu, P. Ferrigno, M. Ban, N. Barizzone, M. Leone, F. R. Guerini, M. Piga, D. Firinu, I. Kockum, I. Lima Bomfim, T. Olsson, L. Alfredsson, A. Suarez, P. E. Carreira, M. J. Castillo-Palma, J. H. Marcus, M. Congia, A. Angius, M. Melis, A. Gonzalez, M. E. Alarcon Riquelme, B. M. da Silva, M. Marchini, M. G. Danieli, S. Del

Giacco, A. Mathieu, A. Pani, S. B. Montgomery, G. Rosati, J. Hillert, S. Sawcer, S. D'Alfonso, J. A. Todd, J. Novembre, G. R. Abecasis, M. B. Whalen, M. G. Marrosu, A. Meloni, S. Sanna, M. Gorospe, D. Schlessinger, E. Fiorillo, M. Zoledziewska and F. Cucca (2017). "Overexpression of the Cytokine BAFF and Autoimmunity Risk." N Engl J Med **376**(17): 1615-1626.

Tangye, S. G., W. Al-Herz, A. Bousfiha, T. Chatila, C. Cunningham-Rundles, A. Etzioni, J. L. Franco, S. M. Holland, C. Klein, T. Morio, H. D. Ochs, E. Oksenhendler, C. Picard, J. Puck, T. R. Torgerson, J. L. Casanova and K. E. Sullivan (2020). "Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee." J Clin Immunol.

Thorarinsdottir, K., A. Camponeschi, I. Gjertsson and I. L. Martensson (2015). "CD21<sup>-</sup>/low B cells: A Snapshot of a Unique B Cell Subset in Health and Disease." Scand J Immunol **82**(3): 254-261.

Toth, B., A. Volokha, A. Mihas, M. Pac, E. Bernatowska, I. Kondratenko, A. Polyakov, M. Erdos, S. Pasic, M. Bataneant, A. Szaflarska, K. Mironska, D. Richter, K. Stavrik, T. Avcin, G. Marton, K. Nagy, B. Derfalvi, M. Szolnok, A. Kalmar, M. Belevtsev, M. Guseva, A. Rugina, G. Krivan, L. Timar, Z. Nyul, B. Mosdosi, L. Kareva, S. Peova, L. Chernyshova, I. Gherghina, M. Serban, M. E. Conley, L. D. Notarangelo, C. I. Smith, J. van Dongen, M. van der Burg and L. Marodi (2009). "Genetic and demographic features of X-linked agammaglobulinemia in Eastern and Central Europe: a cohort study." Mol Immunol **46**(10): 2140-2146.

Varin, M. M., L. Le Pottier, P. Youinou, D. Saulep, F. Mackay and J. O. Pers (2010). "B-cell tolerance breakdown in Sjogren's syndrome: focus on BAFF." Autoimmun Rev **9**(9): 604-608.

Varzaneh, F. N., B. Keller, S. Unger, A. Aghamohammadi, K. Warnatz and N. Rezaei (2014). "Cytokines in common variable immunodeficiency as signs of immune dysregulation and potential therapeutic targets - a review of the current knowledge." J Clin Immunol **34**(5): 524-543.

Verma, N., S. O. Burns, L. S. K. Walker and D. M. Sansom (2017). "Immune deficiency and autoimmunity in patients with CTLA-4 (CD152) mutations." Clin Exp Immunol **190**(1): 1-7.

Vincent, F. B., E. F. Morand, P. Schneider and F. Mackay (2014). "The BAFF/APRIL system in SLE pathogenesis." Nat Rev Rheumatol **10**(6): 365-373.

Warnatz, K., U. Salzer, M. Rizzi, B. Fischer, S. Gutenberger, J. Bohm, A. K. Kienzler, Q. Pan-Hammarstrom, L. Hammarstrom, M. Rakhmanov, M. Schlesier, B. Grimbacher, H. H. Peter and H. Eibel (2009). "B-cell activating factor receptor deficiency is associated with an adult-onset antibody deficiency syndrome in humans." Proc Natl Acad Sci U S A **106**(33): 13945-13950.

Warnatz, K. and M. Schlesier (2008). "Flowcytometric phenotyping of common variable immunodeficiency." Cytometry B Clin Cytom **74**(5): 261-271.

Warnatz, K. and R. E. Voll (2012). "Pathogenesis of autoimmunity in common variable immunodeficiency." Front Immunol **3**: 210.

Wehr, C., A. R. Gennery, C. Lindemans, A. Schulz, M. Hoenig, R. Marks, M. Recher, B. Gruhn, A. Holbro, I. Heijnen, D. Meyer, G. Grigoleit, H. Einsele, U. Baumann, T. Witte, K. W. Sykora, S. Goldacker, L. Regairaz, S. Aksoylar, O. Ardeniz, M. Zecca, P. Zdziarski, I. Meyts, S. Matthes-Martin, K. Imai, C. Kamae, A. Fielding, S. Seneviratne, N. Mahlaoui, M. A. Slatter, T. Gungor, P. D. Arkwright, J. van Montfrans, K. E. Sullivan, B. Grimbacher, A. Cant, H. H. Peter, J. Finke, H. B. Gaspar, K. Warnatz, M. Rizzi, B. Inborn Errors Working Party of the European Society for, T. Marrow and I. the European Society for (2015). "Multicenter experience in hematopoietic stem cell transplantation for serious complications of common variable immunodeficiency." J Allergy Clin Immunol **135**(4): 988-997 e986.

Wehr, C., T. Kivioja, C. Schmitt, B. Ferry, T. Witte, E. Eren, M. Vlkova, M. Hernandez, D. Detkova, P. R. Bos, G. Poerksen, H. von Bernuth, U. Baumann, S. Goldacker, S. Gutenberger, M. Schlesier, F. Bergeron-van der Cruyssen, M. Le Garff, P. Debre, R. Jacobs,

J. Jones, E. Bateman, J. Litzman, P. M. van Hagen, A. Plebani, R. E. Schmidt, V. Thon, I. Quinti, T. Espanol, A. D. Webster, H. Chapel, M. Vihinen, E. Oksenhendler, H. H. Peter and K. Warnatz (2008). "The EUROclass trial: defining subgroups in common variable immunodeficiency." Blood **111**(1): 77-85.

Wong, G. K. and A. P. Huissoon (2016). "T-cell abnormalities in common variable immunodeficiency: the hidden defect." J Clin Pathol **69**(8): 672-676.

Woyach, J. A., A. J. Johnson and J. C. Byrd (2012). "The B-cell receptor signaling pathway as a therapeutic target in CLL." Blood **120**(6): 1175-1184.

Yazdani, R., G. Azizi, H. Abolhassani and A. Aghamohammadi (2017). "Selective IgA Deficiency: Epidemiology, Pathogenesis, Clinical Phenotype, Diagnosis, Prognosis and Management." Scand J Immunol **85**(1): 3-12.

Yazdani, R., S. Fekrvand, S. Shahkarami, G. Azizi, B. Moazzami, H. Abolhassani and A. Aghamohammadi (2019). "The hyper IgM syndromes: Epidemiology, pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis and management." Clin Immunol **198**: 19-30.

Yazdani, R., S. Habibi, L. Sharifi, G. Azizi, H. Abolhassani, P. Olbrich and A. Aghamohammadi (2019). "Common Variable Immunodeficiency: Epidemiology, Pathogenesis, Clinical manifestations, Diagnosis, Classification and Management." J Investig Allergol Clin Immunol: 0.

Yesillik, S., S. Agrawal, S. V. Gollapudi and S. Gupta (2019). "Phenotypic Analysis of CD4+ Treg, CD8+ Treg, and Breg Cells in Adult Common Variable Immunodeficiency Patients." Int Arch Allergy Immunol **180**(2): 150-158.

## 12 Seznam vlastních publikací

### 12.1 Zahraniční recenzované publikace s impakt faktorem

1. Milota, T., et al., *Czech Hizentra Noninterventional Study With Rapid Push: Efficacy, Safety, Tolerability, and Convenience of Therapy With 20% Subcutaneous Immunoglobulin*. Clin Ther, 2019. **41**(11): p. 2231-2238.
2. Milota, T., et al., *Bronchial Asthma and Bronchial Hyperresponsiveness and Their Characteristics in Patients with Common Variable Immunodeficiency*. Int Arch Allergy Immunol, 2019. **178**(2): p. 192-200.
3. Milota, T., et al., *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): p. 197-204.
4. Kralickova, P., Milota, T. et al., *CVID-Associated Tumors: Czech Nationwide Study Focused on Epidemiology, Immunology, and Genetic Background in a Cohort of Patients With CVID*. Front Immunol, 2018. **9**: p. 3135.
5. Coulter, T.I., et al., *Clinical spectrum and features of activated phosphoinositide 3-kinase delta syndrome: A large patient cohort study*. J Allergy Clin Immunol, 2017. **139**(2): p. 597-606 e4.
6. Maccari, M.E., et al., *Disease Evolution and Response to Rapamycin in Activated Phosphoinositide 3-Kinase delta Syndrome: The European Society for Immunodeficiencies-Activated Phosphoinositide 3-Kinase delta Syndrome Registry*. Front Immunol, 2018. **9**: p. 543.

### 12.2 Domácí recenzované publikace

1. Milota T. *Diagnostika a terapie sekundárních protilátkových imunodeficiencí u hematoonkologických pacientů z pohledu imunologa*. Acta Medicinæ, 2019. **8**(10): 141-140.
2. Milota T, Vernerová E, Bartůňková J. *Eozinofilní granulomatóza s polyangiitidou aneb od astmatu k autoimunitě*. Alergie, 2015. **17**(3): 193-201.
3. Milota T, Horváth R. *Hyrimoz - nový biosimilární lék v terapii revmatoidní artritidy*. Remedia, 2019. **29**(2): 175-179.
4. Milota T. *Imunomodulační účinky imunoglobulinů a jejich využití v terapii autoimunitních chorob*. Farmakoterapeutická revue, 2019. **4**: 580-585.
5. Milota T, Šedivá A. *Nové možnosti a perspektivy imunoglobulinové terapie*. Alergie, 2016. **18**(4): 248-253.

6. Milota T. *Plicní postižení u protilátkových deficitů. Farmakoterapeutická revue* , 2018. **2**: 171-177.
7. Milota T. *Úloha biologické léčby v terapii hypereozinofilních stavů. Acta Medicinæ*, 2019. **8**(1): 48-52.

### **13 Abecední seznam zkratk**

AB – asthma bronchiale

ADA – adenosin deamináza

AICDA – aktivací indukovaná cytidin deamináza

APRIL - A Proliferation- Inducing Ligand

BAFF - B cell- Activating Factor

BE - bronchiektázie

BCG - bacil Calmette-Guérin

BCMA - B Cell Maturation Ag

BCR – B buněčný receptor (z angl. B Cell Receptor)

BHR – Bronchiální hyperreaktivita

BLNK – B cell linker

BTK – Brutonova tyrozinkináza

CXCR, CCR, CX3CR, XCR – chemokinové receptor (různé motivy)

CD – cluster of differentiation

CHOPN – chronická obstrukční plicní nemoc

CID – kombinovaný imunodeficit (z angl. Combined Immunodeficiency)

CML – společná myeloidní progenitorová buňka (z angů. Common Myeloid Progenitor)

CMV - Cytomegalovirus

CTLA4 - cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4

CVID – Běžný variabilní imunodeficit (z angl. Common Variable Immunodeficiency)

DC - dendritická buňka (z angů. Dendritic Cell)

DNA – kyselina deoxyribonukleová

EAE - Experimentální autoimunitní encefalomyelitida



EBV – Ebstein-Barrové virus

ESID - Evropská společnost pro imunodeficiencie (z angl. European Society for Immunodeficiencies)

FAB – Antigen vázající fragment (Fragment Antigen-Binding)

FACS – průtoková cytometrie založená na fluorescenčním značení (z angl. Fluorescence-activated cell sorting)

FENO – Frakce exhalovaného (vydechovaného) oxidu dusnatého

FEV1 – Objem vzduchu během 1. sekundy usilovného výdechu (z angl. Forced Expiratory Volume)

FVC – Funkční vitální kapacita (z angl. Functional Vital Capacity)

GIT – gastrointestinální trakt

GLILD – Granulomatózní lymfocytární intersticiální plicní choroba (z angl. Granulomatous Lymphocytic Interstitial Lung Disease)

GvHD - reakce štěpu proti hostiteli (z angů. Graft versus Host Disease)

HIGM – Hyper IgM syndrom

HSCT - transplantace hematopoietických kmenových buněk (z angl. Hematopoietic Stem Cell Transplantation)

HSV – Herpes simplex viru

IBA MUNI – Institut biostatistiky a analýzy Masarykovy Univerzity v Brně

IFN- interferon

Ig (M, G, A, E, D) – imunoglobulin (M, G, A, E, D)

IL- interleukin

ILC – Innate Lymphoid Cell

ITAM - Immunoreceptor Tyrosine-based Activation Motif

ITIM - Immunoreceptor Tyrosine-based Inhibition Motif

IVIG – intravenózní imunoglobuliny

IUIS – International Union of Immunological Societies, Mezinárodní unie imunologických společností

JAK – Janusova (tyrozin) kináza

LOCID – kombinovaný imunodeficit s opožděnou manifestací (z angl. Late Onset Combined Deficiency)

LRBA - LPS Responsive Beige-Like Anchor Protein

MEF25 – Střední výdechová rychlost v první čtvrtině výdechu (z angl. Mean Expiratory Flow)

MLP – lymfoidní progenitorová buňka (z angl. Multi-lymphoid Progenitor)

MZL B lymfocyt – B lymfocyt marginální zóny (z angl. Marginal Zone Like)

NHEJ – nehomologní rekombinace (z angl. Non-Homologous End Joining)

NHL - non-Hodgkinské lymfomy

NK – přirozený zabíječ (Natural Killer)

NOD mouse model – non- obese myši model diabetu 1. typu

PAD – primární protilátkový deficit (z angl. Primary Antibody Deficiency)

PAMPs – molekulární motivy asociované s patogeny (Pathogen-Associated Molecular Patterns)

PID – primární imunodeficiencie (z angl. Primary Immunodeficiency)

PI3KCD – katalytická doména fosfatidylinositol-3-kinázy

PI3KR1 – regulační podjednotka 1 fosfatidylinositol-3-kinázy

PLC – fosfolipáza C

RA – Revmatoidní artritida

RAG – rekombinaci aktivující gen

RS – roztroušená skleróza

SCID - těžký kombinovaný imunodeficit (z angl. Severe Combined Immunodeficiency)

SCIG – subkutánní imunoglobuliny

SLC – náhradní lehký řetězec (z angl. Surrogate Light Chain)

SLE – Systémový lupus erythematoses

SS – Sjogrenův syndrom

sIgAD- selektivní IgA deficit

T1DM – diabetes mellitus 1. typu

TACI - Transmembrane Activator and Calcium modulator ligand Interactor

TCR – T buněčný receptor (z angl. T Cell Receptor)

TdT – Terminální deoxynukleotidyl transferáza

TGF – Transformující růstový faktor (z angl. Transforming Growth Factor)

TNF – Tumor nekrotizující faktor (z angl. Tumor Necrosis Factor)

Th – T pomocný lymfocyt (z angl. T helper cell)

Tfh – T folikulární pomocný lymfocyt

TLR – Toll – like receptor

Treg – T regulační lymfocyt

ÚI 2.LF UK a FNM – Ústav imunologie 2. Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze a  
Fakultní nemocnice Motol

VZV – Varicella zoster virus

WHO – Světová zdravotnická organizace (z angl. World Health Organization)

XLA – X vázaná agammaglobulinémie (z angl. X linked Agammaglobulinemia)

## 14 Přílohy disertační práce

V této části disertační práce jsou uvedena plná znění manuskriptů přijatých k publikování v mezinárodních časopisech s impakt faktorem, které vznikly při řešení postgraduálního projektu s názvem Mechanismy dysregulace imunitního systému u pacientů s běžným variabilním imunodeficitem. Jedná se o následující publikace:

- 1) Milota, T., et al., *Bronchial Asthma and Bronchial Hyperresponsiveness and Their Characteristics in Patients with Common Variable Immunodeficiency*. Int Arch Allergy Immunol, 2019. 178(2): p. 192-200.
- 2) Kralickova, P., Milota T. et al., *CVID-Associated Tumors: Czech Nationwide Study Focused on Epidemiology, Immunology, and Genetic Background in a Cohort of Patients With CVID*. Front Immunol, 2018. 9: p. 3135.
- 3) Coulter, T.I., et al., *Clinical spectrum and features of activated phosphoinositide 3-kinase delta syndrome: A large patient cohort study*. J Allergy Clin Immunol, 2017. 139(2): p. 597-606 e4.
- 4) Maccari, M.E., et al., *Disease Evolution and Response to Rapamycin in Activated Phosphoinositide 3-Kinase delta Syndrome: The European Society for Immunodeficiencies-Activated Phosphoinositide 3-Kinase delta Syndrome Registry*. Front Immunol, 2018. 9: p. 543.
- 5) Milota, T., et al., *Czech Hizentra Noninterventional Study With Rapid Push: Efficacy, Safety, Tolerability, and Convenience of Therapy With 20% Subcutaneous Immunoglobulin*. Clin Ther, 2019. 41(11): p. 2231-2238.