

IMUNODEFICIENȚELE PRIMARE LA COPII – PRINCIPII DE DIAGNOSTIC

Cristina Tomacinschi,

doctorand, Departamentul Pediatrie USMF „Nicolae Testemițanu”,

Mihaela Bataneanț,

*Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș", Spitalul Clinic de Urgență
pentru Copii "Louis Țurcanu" Timișoara, România*

Rezumat

Imunodeficiențele primare (IDP) sunt afecțiuni genetice caracterizate prin funcționarea deficitară a unor componente ale sistemului imun crescând vulnerabilitatea la infecții și alte complicații. Diagnosticul IDP implică evaluarea istoricului clinic al pacientului, teste imunologice (ex. nivelul de imunoglobuline și funcția limfocitelor) și teste genetice avansate (WES, WGS) pentru identificarea mutațiilor specifice. Tratamentul include terapii de înlocuire cu imunoglobuline pentru pacienții cu deficiențe de anticorpi, profilaxia antimicrobiană pentru prevenirea infecțiilor și, în cazurile severe, transplantul de celule stem hematopoietice (HSCT). Terapia genică reprezintă o opțiune modernă și eficientă, ce nu necesită donatori compatibili. Măsurile de prevenție și educarea îngrijitorilor joacă un rol vital, contribuind la reducerea riscurilor infecțioase și la îmbunătățirea calității vieții pacienților.

Summary

Primary immunodeficiencies (PID) are genetic conditions characterized by impaired function of components of the immune system, increasing vulnerability to infections and other complications. Diagnosing PID involves assessing the patient's clinical history, conducting immunological tests (e.g., immunoglobulin levels and lymphocyte function), and performing advanced genetic testing (WES, WGS) to identify specific mutations. Treatment includes immunoglobulin replacement therapies for patients with antibody deficiencies, antimicrobial prophylaxis to prevent infections, and, in severe cases, hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). Gene therapy represents a modern and effective option that does not require compatible donors. Preventive measures and educating caregivers play a vital role in reducing infection risks and improving the quality of life for patients.

Sistemul imunitar este o rețea complexă de țesuturi, celule și molecule care lucrează împreună pentru a proteja organismul împotriva agenților patogeni.

Componentele principale includ măduva osoasă, timusul, ganglionii limfatici și splina, iar celulele-cheie implicate sunt limfocitele, neutrofilele și macrofagele [1]. Există două componente majore ale sistemului imunitar: imunitatea înăscută și imunitatea adaptativă. Imunitatea înăscută oferă o primă linie de apărare rapidă, nespecifică și fără memorie imunologică, iar imunitatea adaptativă asigură un răspuns personalizat, generând memorie imunologică pentru a proteja organismul la expuneri viitoare [1-3].

La naștere, bebelușii primesc o parte din protecție prin anticorpii materni, dar sistemul lor imunitar adaptativ este încă imatur și continuă să se dezvolte în primii ani. Pe măsură ce îmbătrânim, sistemul nostru imunitar se degradează treptat, ceea ce explică susceptibilitatea crescută a vârstnicilor la infecții și boli cronice, inclusiv cancer [2,3].

Imunodeficiențele primare (IDP) sunt afecțiuni genetice caracterizate prin funcționarea deficitară a unor componente ale sistemului imunitar. Acestea fac persoanele afectate mai vulnerabile la infecții severe și recurente, autoimunitate, inflamații și chiar unele tipuri de cancer. IDP cuprind aproximativ 500 de tulburări rare, cauzate de mutații genetice, afectând o persoană din 1.000 până la 5 la 1000 [4,5].

Din păcate, multe imunodeficiențe primare rămân nediagnosticate sau greșit diagnosticate. Această lipsă de diagnostic poate duce la complicații de sănătate severe și la o presiune suplimentară asupra resurselor medicale. De aceea, recunoașterea semnelor și evaluarea corectă sunt esențiale pentru a iniția tratamentul adecvat.

Pentru a suspecta o imunodeficiență primară, medicul trebuie să investigheze:

1. Creșterea și Dezvoltarea: La sugari și copii, monitorizarea creșterii în greutate și înălțime este esențială, deoarece întârzierile de creștere pot indica o afecțiune imunologică.
2. Istoricul Infecțiilor: Natura, frecvența și severitatea infecțiilor pot sugera un tip specific de imunodeficiență. Frecvența, durata, severitatea și răspunsul la tratamentele anterioare; organele afectate și tipul de patogen implicat (virus, bacterie, fungi sau agent patogen oportunist). modelele de infecții pot indica anumite tipuri de defecte imunitare.
3. Vârsta de debut a simptomelor: Diferite imunodeficiențe se manifestă la vârste diferite.
4. Sexul Pacientului: Defectele imunitare legate de cromozomul X sunt mai frecvente la băieți.

5. Istoricul Familiar: Antecedentele de infecții frecvente sau afecțiuni autoimune pot indica o predispoziție genetică.

6. Simptome Non-Imunologice: Semnele non-imunologice din alte sisteme ale corpului pot completa tabloul clinic.

Evaluarea Imunodeficiențelor

Diagnosticul preliminar începe cu o analiză generală de sânge. O serie de modificări hematologice (cum ar fi limfopenia, neutropenia, eozinofilia) pot oferi indicii importante. **Limfopenie** este caracteristică pentru mai multe imunodeficiențe combinate și se definește printr-un număr absolut de limfocite sub 1500 celule/microL la adulți și sub 2500 celule/microL la sugari; **neutropenia** poate apărea în tulburările primare ale fagocitelor și în anumite tulburări ale neutrofilelor care duc la imunodeficiențe secundare; **leucocitoza** poate indica o infecție cronică persistentă; **monocitopenia** este caracteristică deficienței de proteine GATA2 sau **eozinofilia** întâlnită în tulburările atopice primare și în unele erori înăscute ale imunității.

Alte teste, cum ar fi radiografia toracică, pot evidenția absența umbrei timice la sugari, un indiciu al unei imunodeficiențe severe, ceea ce necesită investigații urgente. Cu toate acestea, timusul poate să se micșoreze ca răspuns la stres, iar prezența unei umbre timice nu exclude SCID. La copiii mai mari și adulți, radiografia toracică poate arăta cicatrizări din cauza infecțiilor anterioare, boli pulmonare interstițiale sau bronșiectazii.

Evaluarea Deficiențelor de Anticorpi

Deficiențele de anticorpi sunt deseori asociate cu infecții respiratorii recurente. Diagnosticul acestora necesită măsurarea nivelurilor serice de imunoglobuline și evaluarea funcționalității anticorpilor. În funcție de vârstă, pot fi diagnosticate diverse forme de deficiențe de anticorpi, cum ar fi hipogamaglobulinemia fiziologică la sugari sau deficiența de IgA la adulți.

Vârsta reprezintă un indicator care poate ajuta pentru un diagnostic diferențial, cele mai frecvente deficiențe de anticorpi care apar în copilăria mică includ:

- Hipogamaglobulinemia fiziologică – până la aproximativ 6 luni
- Hipogamaglobulinemia tranzitorie a sugarului – care se manifestă după 6 luni și poate persista până la vârsta de 6 ani
- Deficitul selectiv de anticorpi – observat de obicei după vârsta de 2 ani

Pentru a stabili un diagnostic precis al deficiențelor de anticorpi, o etapă esențială constă în măsurarea nivelurilor serice ale principalelor imunoglobuline:

IgG, IgA, IgM și IgE. Aceste măsurători sunt fundamentale în cazurile suspectate de deficiență de anticorpi, iar rezultatele trebuie analizate folosind intervale de referință specifice fiecărei grupe de vârstă, deoarece nivelurile normale de imunoglobuline variază odată cu înaintarea în vârstă. În funcție de laboratorul care efectuează analiza, metodele utilizate pot varia, așa că ajustarea corespunzătoare a referințelor de vârstă este crucială pentru interpretarea corectă a datelor [8,9].

Termeni importanți în diagnosticul deficiențelor de anticorpi includ:

- Hipogamaglobulinemia: Se caracterizează printr-un nivel de IgG cu cel puțin două deviații standard sub limita normală, fiind un indicator al unei posibile deficiențe imunitare.
- Agamaglobulinemia: Apare atunci când nivelul de IgG este extrem de scăzut (sub 100 mg/dL), indicând absența aproape totală a imunoglobulinelor și, implicit, o deficiență imunitară severă.
- Panhipogamaglobulinemia: Este termenul folosit pentru scăderea concomitentă a nivelurilor de IgA, IgG și IgM, fiind adesea asociată cu defecte ale celulelor B, inclusiv în cazurile severe de imunodeficiență combinată (SCID) sau în anumite variante genetice ale imunodeficienței variabile comune (CVID). În aceste cazuri, profilul imunoglobulinelor poate oferi indicii suplimentare despre tipul specific de imunodeficiență, fiind utile pentru un diagnostic corect și diferențiat.

Evaluarea funcției anticorpilor se realizează chiar și atunci când nivelurile de imunoglobuline par normale. Aceasta implică testarea titrurilor de anticorpi (de obicei IgG) față de antigene specifice, fie ca răspuns la vaccinare, fie la infecții anterioare. Testarea are două scopuri: (1) verificarea capacității celulelor B naive de a reacționa la un nou antigen, și (2) evaluarea răspunsului celulelor B de memorie la un antigen cunoscut din trecut. Alegerea vaccinului corespunzător pentru acest test este importantă, permițând o evaluare mai detaliată și precisă a funcției anticorpilor [8,9].

Nivelurile scăzute de imunoglobuline pot fi cauzate, uneori, de pierderi de proteine, care se pot produce în anumite afecțiuni cronice. Acestea pot implica tractul gastrointestinal, urină, plămâni, piele, spațiul pleural, bronhii sau lichidul peritoneal (la pacienții cu dializă). În asemenea situații, nivelurile scăzute de imunoglobuline sunt adesea însoțite de pierderi și ale altor proteine serice, cum ar fi albumina și alfa-1 antitripsina, precum și de limfopenie (scăderea numărului de limfocite). Evaluarea ratei de pierdere a proteinelor poate fi necesară, iar această evaluare trebuie abordată separat.

Astfel, un diagnostic corect al deficiențelor de anticorpi presupune atât o măsurare detaliată și corectă a nivelurilor de imunoglobuline, cât și o evaluare aprofundată a funcției și eventualelor pierderi de anticorpi, toate acestea contribuind la o înțelegere mai completă a cauzelor și implicațiilor acestor deficiențe [8,9].

Importanța Evaluării Imunității Celulare

Imunitatea celulară specifică este asigurată de celulele T, care joacă un rol esențial în răspunsul imun adaptativ. Defectele care afectează funcționarea celulelor T sunt deseori asociate cu forme severe de imunodeficiență primară, caracterizate prin susceptibilitate crescută la infecții și alte disfuncții imunitare. Totuși, cum producția specifică de anticorpi de către celulele B depinde de funcționarea corectă a celulelor T, un defect al acestora poate duce la imunodeficiențe combinate — un tip de imunodeficiență care afectează atât imunitatea celulară, cât și pe cea umorală (bazată pe anticorpi). Prin urmare, evaluarea atât a numărului, cât și a funcției celulelor T devine esențială la pacienții care prezintă deficiențe de anticorpi, în special dacă manifestă infecții recurente, severe sau autoimunitate semnificativă [8,9].

O evaluare detaliată a imunității celulare este indicată în cazurile în care pacienții suferă de infecții virale și/sau bacteriene severe sau de infecții oportuniste, care sunt în mod obișnuit gestionate de un sistem imun funcțional. Tulburările care afectează imunitatea celulară variază însă în funcție de grupa de vârstă, iar identificarea timpurie a acestor tulburări permite intervenții mai eficiente [8,9].

La copiii cu vârsta sub un an, imunodeficiențele primare sunt printre cele mai frecvente cauze ale imunității celulare afectate. Infecțiile perinatale cu citomegalovirus (CMV) sau alte virusuri din familia herpesvirusurilor pot produce, de asemenea, o imunodeficiență celulară temporară sau chiar de durată. Mai mult, expunerea maternală la medicamente imunosupresoare (precum azatioprina) poate induce o imunodeficiență celulară temporară la nou-născut, iar în aceste cazuri, este esențială monitorizarea copilului pentru identificarea oricăror semne de imunodeficiență.

Pentru copiii mai mari și adulți, principalele cauze ale imunodeficienței celulare sunt infecția cu virusul imunodeficienței umane (HIV) și imunosupresia iatrogenă, asociată frecvent cu terapia pentru boli autoimune, tratamente pentru malignități sau necesități post-transplant. În plus, anumite forme mai ușoare de imunodeficiență combinată primară (CID) sau sindrom DiGeorge pot rămâne nediagnosticate până în adolescență sau chiar la vârsta adultă, datorită

manifestărilor clinice subtile sau a progresiei lente a simptomelor. Aceste cazuri pot fi deseori dificil de identificat și necesită o evaluare atentă a istoricului clinic, a infecțiilor recurente și a posibilelor semne de autoimunitate [8,9].

Diagnosticarea și evaluarea corectă a defectelor imunității celulare sunt critice în stabilirea unui plan de îngrijire eficient. Identificarea timpurie a deficiențelor celulare permite gestionarea optimă a pacienților cu IEI, reducând riscul de infecții severe sau oportuniste și minimizând riscul unor complicații autoimune. Totodată, aceasta permite o mai bună adaptare a tratamentelor imunosupresoare la pacienții cu boli cronice care necesită o astfel de terapie, oferind un echilibru între eficacitate și siguranță [9,10].

Limfopenia persistentă (scăderea numărului de limfocite din sânge) este un indicator important al unei potențiale disfuncții imune și necesită o investigație aprofundată pentru a determina ce tipuri specifice de limfocite sunt afectate. În mod obișnuit, limfopenia este asociată cu diverse tipuri de imunodeficiență. Cu toate acestea, există și cazuri rare în care, deși numărul total de limfocite pare normal, pacientul prezintă totuși o imunodeficiență severă. De exemplu, sugarii cu deficit de Janus kinase 3 (JAK3) SCID (imunodeficiență combinată severă) pot prezenta un număr crescut de celule B, care maschează această deficiență în analiza de bază a limfocitelor [9,10].

Dacă simptomatologia clinică sugerează o afecțiune imunodeficientă, precum pneumonie pneumocistică sau candidoză invazivă, este necesară o investigație suplimentară a subtipurilor de limfocite. Aceasta se realizează prin citochimie de flux (cytofluorometrie), o tehnică avansată care permite evaluarea precisă a diverselor categorii de celule imune și a potențialelor lor disfuncții, chiar și atunci când numărul total de limfocite este în limite normale.

Rolul Citometriei de Flux în Diagnosticarea Imunodeficiențelor

Citochimia de flux reprezintă un instrument esențial în analiza subtipurilor de limfocite. Tehnica se bazează pe utilizarea de anticorpi monoclonali specifici care se leagă de antigeni celulari, denumiți "grupuri de diferențiere" (CD-uri). Acești antigeni permit identificarea precisă a diverselor populații de celule din sistemul hematopoietic, oferind informații detaliate despre compoziția și funcționalitatea sistemului imun al pacientului. Tabelele standardizate, prezintă markerii specifici și celulele pe care aceștia le definesc, ghidând diagnosticul către identificarea tipului specific de imunodeficiență.

Un panou tipic de markeri utilizați în citochimia de flux include:

- CD3 – marker al limfocitelor T totale
- CD4 – marker al limfocitelor T helper (CD4+)

- CD8 – marker al limfocitelor T citotoxice (CD8+)
- CD19 sau CD20 – markeri pentru limfocitele B
- CD16 și CD56 – markeri pentru celulele natural killer (NK)

Acești markeri permit o evaluare detaliată a proporției și funcționalității fiecărei subcategorii de limfocite, necesară în stabilirea diagnosticului de imunodeficiență combinată (CID) și alte tipuri de disfuncții imunitare.

Evaluarea Celulelor T naivă și de Memorie

Analiza celulelor T naivă și de memorie oferă informații suplimentare esențiale în cazul pacienților cu CID. Markerii CD45RA (utilizați împreună cu CD62L sau CCR7) sunt asociați celulelor T naive, indicând capacitatea sistemului imun de a reacționa la antigene noi. În schimb, markerul CD45RO este specific pentru celulele T de memorie și este relevant în evaluarea răspunsului imun adaptativ. Prin monitorizarea echilibrului dintre celulele T naivă și de memorie, medicii pot evalua eficiența imunității adaptive la pacienți, permițând astfel un diagnostic diferențial mai precis al imunodeficiențelor [9,10].

Pentru pacienții cu limfopenie persistentă sau cu simptome clinice ce sugerează o disfuncție imunitară substanțială, citochimia de flux devine o metodă de diagnostic indispensabilă. Aceasta permite identificarea precisă a subtipurilor de limfocite afectate, oferind o imagine clară asupra funcționalității sistemului imun și ajutând la stabilirea unui diagnostic corect și rapid pentru diverse forme de imunodeficiență.

Studii Genomice Avansate în Diagnosticarea Imunodeficiențelor Primare

În prezent, cercetările genomice au identificat peste 500 de erori congenitale monogenice ale imunității, fiecare fiind definită prin gene specifice ce prezintă fie o pierdere, fie o câștigare de funcție din cauza unor variante genetice patogene. Aceste erori determină diverse disfuncții ale sistemului imun, ceea ce face ca testarea genetică să devină o etapă esențială în diagnosticul IEI [9-11].

Instrumentele de secvențiere de nouă generație (NGS) au revoluționat diagnosticul IEI, oferind metode precise și accesibile pentru identificarea mutațiilor genetice. Cele mai frecvente tehnici NGS includ:

- Secvențierea întregului exom (WES) – aceasta permite analizarea tuturor regiunilor codante din genom, acoperind o gamă largă de gene implicate în imunodeficiențe.

- Secvențierea întregului genom (WGS) – oferă o imagine completă a genomului, inclusiv a regiunilor non-codante, dar esențiale în reglarea funcțiilor genelor.
- NGS cu îmbogățire țintită sau „panouri genice” – focalizată pe un set de gene asociate frecvent cu IEI, oferind o alternativă rapidă și eficientă pentru diagnosticare.

Inițial, aceste tehnici erau disponibile doar în centre de cercetare, dar ele s-au extins semnificativ și sunt acum disponibile în laboratoare academice și comerciale, având costuri mai accesibile. Acest progres a permis ca tot mai mulți pacienți suspecți de IEI să poată beneficia de un diagnostic genetic precis ca parte din evaluarea standard. Astfel, testarea genetică este acum realizată frecvent în fazele incipiente ale evaluării clinice. Rezultatele obținute pot indica necesitatea unor investigații suplimentare de laborator și pot orienta direct tratamentul [9-11].

Tehnici Genomice Complementare și Importanța lor în Diagnosticul Imunodeficiențelor

Înainte de apariția NGS, metode precum analiza legăturilor genetice și cartografierea homozigotei erau esențiale pentru identificarea caracteristicilor monogenice, fiind utile mai ales în cazul pacienților cu trăsături sindromice distincte. Aceste metode necesitau însă o cunoaștere detaliată a arborelui genealogic, fie unul extins, fie multiple genealogii mai restrânse.

Metoda de hibridizare genomică comparativă prin microarray rămâne de asemenea relevantă, permițând identificarea unor modificări importante la nivel de copie de gene. Această metodă detectează cu precizie regiunile genomice cu câștiguri sau pierderi semnificative de copii, informații esențiale pentru un diagnostic clinic complet.

Integrarea studiilor genomice în diagnosticul IEI a îmbunătățit substanțial capacitatea de a identifica rapid și precis cauzele genetice ale imunodeficiențelor. Având în vedere costurile reduse și accesibilitatea crescută a testării genetice, recomandarea actuală este ca toți pacienții cu suspiciune de IEI să beneficieze de această investigație în faza inițială a evaluării lor. Această abordare permite o diagnoză personalizată, orientarea optimă a tratamentului și îmbunătățirea prognosticului pentru pacienții cu imunodeficiențe primare [9-11].

Imunodeficiențele primare au manifestări clinice care, prin complicațiile severe pe care le pot genera, lasă adesea sechele semnificative, afectând considerabil calitatea vieții pacienților. Tradițional, tratamentul IDP s-a concentrat pe gestionarea simptomatică, excepție fiind cazurile în care pacienții au fost eligibili pentru transplant de măduvă osoasă. În ultimii ani, terapia genică a devenit

o opțiune promițătoare, iar descoperirile privind mecanismele moleculare ale IDP au permis dezvoltarea de tratamente biologice noi, deschizând oportunități mai eficiente de gestionare și tratare a acestor afecțiuni [12,13].

Concluzie

Un număr mare de pacienți cu PID rămân fie nediagnosticați, fie primesc un diagnostic tardiv, ceea ce poate duce la complicații grave, inclusiv mortalitate prematură și reducerea calității vieții.

Obiectivul tratamentelor este nu doar minimizarea riscului de infecție, ci și de a îmbunătățirea calității vieții pacientului, având în vedere aspecte legate de sănătate, viața socială și confortul general.

Bibliografie

1. Sompayrac, L. M. (2022). *How the immune system works*. John Wiley & Sons.
2. Parkin, J., & Cohen, B. (2001). An overview of the immune system. *The Lancet*, 357(9270), 1777-1789
3. Janeway Jr, C. A. (2001). How the immune system protects the host from infection. *Microbes and infection*, 3(13), 1167-1171
4. Picard C, Al-Herz W, Bousfiha A. Primary immunodeficiency diseases: an update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency 2015. *J Clin Immunol*. 2015;35(8):696–726
5. Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2022 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol* 2022; 42:1473
6. Humanitas Research Hospital. Primary Immunodeficiency. Available at: <https://www.humanitas.net/diseases/primary-immunodeficiency/>
7. Fried, A. J., & Bonilla, F. A. (2009). Pathogenesis, diagnosis, and management of primary antibody deficiencies and infections. *Clinical microbiology reviews*, 22(3), 396-414;
8. Driessen, G., & Van Der Burg, M. (2011). Educational paper: primary antibody deficiencies. *European journal of pediatrics*, 170, 693-702
9. Tu W, Chen S, Sharp M, et al. Persistent and selective deficiency of CD4+ T cell immunity to cytomegalovirus in immunocompetent young children. *J Immunol* 2004; 172:3260.;
10. Kuo CY, Garcia-Lloret MI, Slev P, et al. Profound T-cell lymphopenia associated with prenatal exposure to purine antagonists detected by TREC newborn screening. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2017; 5:198.
11. Meyts I, Bosch B, Bolze A, et al. Exome and genome sequencing for inborn errors of immunity. *J Allergy Clin Immunol* 2016; 138:957.
12. Marciano BE, Holland SM. Primary Immunodeficiency Diseases: Current and Emerging Therapeutics. *Front Immunol* 2017; 8:937;
13. Leiding JW, Forbes LR. Mechanism-Based Precision Therapy for the Treatment of Primary Immunodeficiency and Primary Immunodysregulatory Diseases. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2019; 7:761