

Novorodenecký skrining primárnych imunodeficiencií

doc. MUDr. Peter Čižnár, CSc.¹, MUDr. Júlia Horáková, PhD.²

¹1. detská klinika LF UK a DFNSP, Bratislava

²TJKB, Klinika detskej hematológie a onkológie LF UK a DFNSP, Bratislava

Jednou z ďalších skupín chorôb odporúčaných pre zaradenie do skriningového programu novorodencov sú ťažké kombinované poruchy imunity. Tieto zriedkavé, vrodené deficity imunity sú heterogénnou skupinou defektov lymfocytov, ktoré sa spájajú so závažnými klinickými komplikáciami. Symptómy nie sú zjavné v novorodeneckom období, ale prichádzajú postupne v prvých mesiacoch života a neliečené vedú k úmrtiu obvykle v období do dvoch rokov. Ťažké kombinované imunodeficiencie sú považované za medicínsky naliehavú situáciu vyžadujúcu neodkladnú a komplexnú špecializovanú starostlivosť. Napriek tomu, že ide o zriedkavé choroby, ich výskyt sa podľa novších údajov ukázal byť dvakrát častejší, ako sa v minulosti predpokladalo. Nové laboratórne metódy umožňujú relatívne jednoduchým a spoľahlivým spôsobom vyhľadávať postihnutých jedincov už v novorodeneckom období pomocou analýzy zo suchej kvapky krvi. Súčasne s rozvojom diagnostiky zaznamenáva pokroky aj liečba, najmä transplantácia krvotvorných buniek s využitím redukovaných prípravných režimov. Včasná diagnostika a liečba primárnych imunodeficiencií je veľkou výzvou pre modernú medicínu, ale zároveň aj veľkou nádejou pre pacientov.

Kľúčové slová: primárne imunodeficiencie, ťažká kombinovaná imunodeficiencia, novorodenecký skrining, metóda TREC, transplantácia krvotvorných buniek.

Pediatr. prax, 2014, 15(2): 52–56

Úvod

Primárne imunodeficiencie sú heterogénnou skupinou takmer dvoch stoviek vrodených porúch postihujúcich niektorú časť imunitného systému. Spoločným klinickým znakom je zvýšená vnímavosť na infekcie, prípadne dysregulácia imunitnej odpovede prejavujúca sa autoimunitou, lymfoproliferáciou alebo poruchou zápalovej odpovede. Mnohé z týchto defektov majú závažné klinické dôsledky. K takýmto poruchám patria aj ťažké kombinované imunodeficiencie, označované skratkou SCID z anglického názvu *severe combined immunodeficiency*. SCID patria do jednej z ôsmich skupín primárnych imunodeficiencií, podľa medzinárodnej klasifikácie medzi *kombinované imunodeficiencie* (1). Defekty v tejto skupine spája dominantné postihnutie T lymfocytov, prejavujúce sa v poklese ich počtu, alebo v poruche ich funkcie. T lymfocyty hrajú v imunitnom systéme kľúčovú úlohu, koordinujú jeho ďalšie zložky a ich porucha ovplyvňuje najmä funkciu B lymfocytov a NK buniek. SCID sú závažnými poruchami vývoja T lymfocytov, ktoré bez včasnej intervencie končia fatálne už v priebehu dojčenského obdobia. Za kauzálnu liečbu považujeme transplantáciu krvotvorných buniek, prípadne génovú terapiu. Klinická naliehavosť včasnej liečby je zrejma pri porovnaní výsledkov prognózy detí diagnostikovaných do ukončeného 15. týždňa života, pred rozvojom infekčných komplikácií a detí diagnostikovaných so symptómami infekcie, po tomto období. Transplantácia krvotvorných buniek dosiahla

v prvom prípade úspešnosť viac ako 90 %, v prípade neskoršej diagnózy len 40 % (2, 3). Navyše je liečba komplikácií nielen medicínsky, ale aj ekonomicky veľmi náročná. Všetky tieto fakty boli dôvodom, aby sa SCID stala dôležitým kandidátom na zaradenie do plošného novorodeneckého skriningového programu vo vyspelých krajinách.

Novorodenecký skriningový program

Podľa definície je cieľom novorodeneckého skriningu identifikovať závažné, zdravie a život ohrozujúce vrodené choroby a chyby, ktoré nie sú v čase narodenia, resp. v prvých mesiacoch života klinicky zjavné. K základným podmienkam patrí existencia efektívnej prevencie, alebo terapie, pomocou ktorej dokážeme zásadne ovplyvniť, alebo zvrátiť progresiu choroby, alebo následok defektu. Druhou základnou podmienkou je existencia dostatočne citlivého a špecifického skriningového testu, ktorý je po technickej a finančnej stránke dostupný. Rizík spojených s novorodeneckým skriningom je niekoľko. Falošná pozitivita zvyšuje náklady, predovšetkým ale spôsobuje stres a úzkosť u rodičov testovaného dieťaťa. Falošná negativita môže naopak oddialiť diagnózu, nakoľko ju v rámci diferencijálnej diagnostiky pri existujúcom skriningu považujeme za menej pravdepodobnú. Skrining môže tiež vyvolávať oprávnené obavy o súkromie a nepriaznivé dôsledky s tým spojené. Nakoniec je dôležitá aj otázka nákladov, pretože vždy ide o prerozdelenie jedného

balíku finančných prostriedkov podľa zásady, ak niekde pridáme, inde uberieme.

V skriningových programoch ekonomicky vyspelých krajín existujú významné rozdiely. V USA zahŕňa zoznam vrodených porúch, odporúčaných pre skrining viac ako 50 klinických jednotiek. V krajinách EÚ existujú veľké rozdiely a väčšina krajín testuje 5 základných diagnóz (4, 5). Podrobne to dokumentuje správa expertov členských štátov EÚ o stave novorodeneckého skriningu z roku 2011 (6). Správa expertov ale okrem definovania kritérií a postupov pre výber porúch zaraďovaných do skriningu, poukazuje aj na nové pokroky v diagnostike a liečbe zriedkavých chorôb. Zoznam skriningových vyšetrení, ktoré sa vykonávajú zo vzorky novorodeneckej krvi na Slovensku uvádza tabuľka 1.

Syndróm SCID

Syndróm ťažkej kombinovanej imunodeficiencie je heterogénna skupina porúch, ktorej spoločným menovateľom je závažná porucha vývoja T lymfocytov, prejavujúca sa zníženým počtom, alebo zníženou funkčnosťou buniek. Klinicky vedie k fatálnym oportúnnym infekciám, vyvolanými vírusmi, baktériami a hubami. Takýto obraz máva klasická forma SCID, predstavujúca takmer 20 genetických defektov (tabuľka 2), ale aj niektoré ďalšie poruchy zo skupiny primárnych kombinovaných imunodeficiencií. Príkladom komplexnej poruchy so závažným defektom T lymfocytov môže byť kompletná forma DiGeorgeovho syndrómu. Na rozdiel od klinicky miernejšej parciálnej formy sa

vyskytuje len približne u 1 % všetkých detí postihnutých týmto syndrómom. Každý z defektov vedúcich k obrazu SCID má určité špecifické klinické črty. K variabilite fenotypu prispieva aj typ mutácie, keď v prípadoch nekompletnej (hypomorfnej) mutácie máva ochorenie neskorý nástup, alebo miernejší priebeh. U časti pacientov s klasickým klinickým a imunologickým fenotypom sa genetický defekt nemusí podať identifikovať. Nakoniec s klinickým obrazom podobným SCID sa môžeme stretnúť aj v prípade sekundárne navodených stavov rôznej etiológie, napríklad pri neonatálnej leukémii alebo extrémnej prematurite.

Klinický obraz ťažkej kombinovanej imunodeficiencie

Perinatálne obdobie a vývoj v prvých mesiacoch, keď je detský organizmus čiastočne chránený materskými protilátkami, býva u postihnutých detí z klinického hľadiska zväčša asymptomatický, resp. oligosymptomatický. Prvé príznaky sa obvykle objavujú v 4. mesiaci a do typického obrazu patrí opakovaná, alebo pretrvávajúca hnačka, neprospievanie, dermatitída, perzistujúca otitída a vývoj pneumónie. Na rozdiel od imunokompetentných detí sa príznaky rozvíjajú menej nápadným spôsobom. Pneumónia sa manifestuje symptómami tachypnoe a dyspnoe, niekedy s prekvapivo rozsiahlym rádiologickým nálezom. Do roku 2009, keď sa v rámci celoplošného vakcinačného programu aplikovala všetkým novorodencom živá BCG vakcína, sa medzi prvými príznakmi objavovala u niektorých detí lymfadenopatia, kožné a orgánové granulómy ako prejav diseminovanej BCG infekcie. U iných pacientov ostávala diseminovaná BCG infekcia inaparentná až do obdobia rekonštitúcie imunity po transplantácii.

Etiologické agens infekčných komplikácií býva rôznorodé. Hnačky podmieňujú adenovírusy, enterovírusy, rotavírus podaný v živej vakcíne. V stolici sa identifikuje kryptosporídium a ďalšie mikroorganizmy parazitárneho a mykotického pôvodu. Závažné komplikácie spôsobujú herpetické vírusy. Získané infekcie ako EBV, CMV, parainfluenza a ďalšie nedokáže imunodeficitné dieťa spontánne eliminovať. Príčinou pneumónie býva *Pneumocystis jiroveci*, kvasinky rodu *Candida*, alebo ktorýkoľvek saprofytný bakteriálny kmeň. Podobnú etiológiu môže mať septikémia, meningitída, hepatitída s hepatosplenomegáliou. K neinfekčným komplikáciám patrí reakcia typu GvHD (reakcia štepu proti hostiteľovi) v dôsledku prenesených materských lymfocytov. Prejavmi sú erythrodermia, hepatosplenomegália, lymfadenopatia s hypereozinofiiliou. SCID je nutne pova-

Tabuľka 1. Aktuálne prebiehajúce skríningové vyšetrenia novorodencov zo suchej kvapky krvi a porovnanie s incidenciou ťažkej kombinovanej imunodeficiencie

	Názov	Skratka	Incidencia	Test
1.	Fenylketonúria a hyperfenylalaninémia	PKU	1 : 5 600 – 7 000	MS2
2.	Kongenitálna hypotyreóza	CH	1 : 4 000 – 6 000	TSH
3.	Kongenitálna adrenálna hyperplázia	CAH	1 : 18 000	17-OHP
4.	Cystická fibróza	CF	1 : 2 500	IRT
5.	Leucinóza alebo choroba javorového sirupu	MSUD	1 : 180 000	
6.	Deficit acyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselín so stredne dlhým reťazcom	MCADD	1 : 20 000	
7.	Deficit 3-hydroxyacyl CoA dehydrogenázy mastných kyselín s dlhými reťazcom	LCHADD	1 : 60 000	
8.	Deficit acyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselín s veľmi dlhým reťazcom	VLCADD	1 : 66 000	MS2
9.	Deficit karnitínpalmitoyltransferázy I	CPTD I	-	
10.	Deficit karnitínpalmitoyltransferázy II	CPTD II	-	
11.	Deficit karnitínacylkarnitíntranslokázy	CACTD	-	
12.	Glutarová acidúria typ I	GA I	1 : 80 000	
13.	Izovalerová acidúria	IVA	1 : 12 500	
	Ťažké kombinované imunodeficiencie	SCID	1 : 35 000	TREC
	Ťažké kombinované imunodeficiencie + ďalšie	SCID +	1 : 25 000	TREC + KREC

Vysvetlivky: MS² = tandemová hmotnostná spektrometria; IRT = imunoreaktívny trypsinogén; 17-OHP = 17-hydroxyprogesterón; TSH = tyreostimulačný hormón; TREC = excízne krúžky T-receptora; KREC = rekombinančné excízne krúžky kappa reťazcov

Tabuľka 2. Najčastejšie genetické defekty asociované s klasickou formou syndrómu ťažkej kombinovanej imunodeficiencie

Fenotyp	Názov choroby	Gén
T-B+	Deficit reťazca IL-7Ra	IL7RA
	Deficit CD3δ	CD3D
	Deficit CD3ε	CD3E
	Deficit CD3ζ	CD3Z
	Deficit CD45	PTPRC
	Deficit ZAP70	ZAP79
	Deficit CD25	IL2RA
	Deficit proteínu regulujúceho aktín coronin1A	CORO1A
	Deficit spoločného γ reťazca	IL2RG
	Deficit Janus kinázy 3	JAK3
T-B-	Deficit rekombinázy aktivujúcej gény 1	RAG1
	Deficit rekombinázy aktivujúcej gény 2	RAG2
	Deficit génu Artemis	DCLRE1C
	Deficit DNA ligázy IV	LIG4
	Deficit génu Cernunnos	NHEJ1
	Deficit proteín kinázovej katalytickej jednotky	PRKDC
	Deficit adenosín deaminázy	ADA
	Deficit fosforylázy purínových nukleotidov	PNP
	Retikulárna dysgenéza	AK2

zovať za naliehavú medicínsku situáciu. Iničiálne zdanlivo málo výrazné klinické príznaky vedú k rýchlej progresii s fatálnymi následkami. Priebeh výrazne komplikuje podanie krvných derivátov, ktoré neboli zbavené leukocytov. Tabuľka 3 uvádza najčastejšie klinické príznaky SCID.

Imunologická a genetická diagnostika SCID

Pri incidencii 1 prípadu na 30 – 50-tisíc živonarodených detí a malej početnosti rodinných príslušníkov, ako je tomu vo väčšine vyspelých štátov, je pravdepodobnosť predvídania poru-

Tabuľka 3. Klinické príznaky ťažkej kombinovanej imunodeficiencie

Neprospievanie, nízky prírastok na hmotnosti, slabé pitie
Chronické alebo opakované hnačky
Opakovaná purulentná otitída alebo konjunktivitída
Kožný exantém charakteru dermatitídy alebo erytrodermie
Generalizovaná lymfadenitída
Hepatosplenomegália
Pneumónia a pneumonitída s postupným vývojom tachypnoe a dyspnoe
Perzistujúca kandidová infekcia
Febrilita z dôvodu systémovej herpetickej infekcie (HSV, CMV, EBV)
Neobvykle ťažký a zdĺhavý priebeh inak bežných infekcií
Rodinná anamnéza SCID alebo úmrtia v dojčenskom veku na infekčnú komplikáciu

Tabuľka 4. Iničiálne opatrenia v prípade podozrenia na ťažkú kombinovanú imunodeficienciu

1. Izolácia pacienta a minimalizovanie mikróbovej expozície (rúžka, rukavice, návky)
2. Pozastavenie dojčenia v prípade CMV pozitívnej matky
3. Zákaz aplikácie živých vakcín (BCG, Rotavírus, Varicella)
4. Zákaz aplikácie živých vakcín rodinným príslušníkom v spoločnej domácnosti
5. Podanie krvných prípravkov len vo vitálnej indikácii, výlučne de leukocytovaných, oziarených
6. Profylaxia pneumocystovej infekcie (kotrimoxazol)
7. Profylaxia herpetickej infekcie (aciclovir)
8. Profylaxia mykobaktériovej infekcie (azitromycín)
9. Odber suchej kvaky krvi a odoslanie na vyšetrenie TREC
10. Transport na špecializované pracovisko

chy na základe rodinnej anamnézy veľmi nízka a to napriek tomu, že takmer polovica prípadov sa dedí spôsobom viazaným na chromozóm X. Nález nevysvetliteľnej perzistujúcej lymfopénie môže byť kľúčový, ale u mnohých detí ostáva celkový počet lymfocytov relatívne dobrý, prípadne aj v rozmedzí referenčného pásma pre daný vek. Diagnózu potvrdí až stanovenie počtu T, B a NK lymfocytov a podrobnejšia analýza ich subpopulácií pomocou prietokovej cytometrie. Na základe prítomnosti alebo neprítomnosti B a NK lymfocytov rozdeľujeme ďalej poruchy na B+ a B- formy, prípadne B+NK+/- a B-NK+/- formy.

Vyšetrenie imunoglobulínov v prvých mesiacoch života je málo preukazné, prevažnú časť IgG tvoria materské protilátky. Produkcia

Obrázok 1. Berlínska deklarácia na podporu zavedenia celoplošného skríningu SCID, ktorú podpísalo 212 špecialistov z 78 krajín sveta



Immunologists from all Jeffrey Modell Diagnostic and Research Centers were brought together by the Jeffrey Modell Foundation for a three day Global Summit in Berlin, Germany. The physician-experts represent the world's leadership and are authorities in the diagnosis, treatment and management of Primary Immunodeficiencies. At the conclusion of the Symposium, the physicians agreed to the following guiding principles:

Whereas infants born with Severe Combined Immune Deficiency (SCID) as well as related T cell Lymphopenia, suffer from serious, life threatening infections, and will likely not survive their first year of life without curative stem cell transplantation;

Whereas the condition can be detected by a simple screen using the same Guthrie dried blood spot samples already collected from newborns.

Whereas the TREC Assay will provide earliest possible identification before irreversible organ damage or death, and will allow children the chance to grow up and lead a normal life;

Whereas additional laboratory methods are still being developed, but, the current method of screening using the TREC Assay has the specificity and sensitivity to accurately identify affected newborns, with better than 99% accuracy;

Whereas the U.S. Secretary of Health and Human Services recommended that ALL newborns be screened for SCID and related T cell Lymphopenia, characterizing SCID screening using the TREC Assay as "The National Standard for Newborn Screening Programs";

Whereas there are established, dedicated, and specialized treatment centers for affected patients to be managed and receive care;

Whereas the cost of the screen is \$4-5 per infant, and more than 2.5 million babies have already been screened. To date, the incidence of this condition has ranged from 1:35,000 to 1:60,000 of all newborns;

Resolved by the undersigned, calling for the immediate implementation of TRECs screening in order to identify, treat and cure newborn babies born with SCID and related T cell Lymphopenia;

Resolved by the undersigned, calling for continuing encouragement and support of physician education and public awareness relating to all 200 Primary Immunodeficiency disorders. This program has generated a 70% increase in identified patients worldwide over the past 18 months, and includes activities in connection with World Primary Immunodeficiency Week (WPIW) that takes place annually throughout the world during the last week in April.

1



IgA a IgM býva prirodzene veľmi nízka. Po 3. mesiaci sa u detí s B- formou vyvíja hypogamaglobulinémia. Všeobecné genetické vyšetrenie bez cielej molekulárno-genetickej analýzy obvykle neprinesie očakávaný výsledok. V súčasnosti existujú viac ako dve desiatky genetických oblastí, v ktorých defekty vedú ku klinickému obrazu SCID. Nové metódy sekvenovania DNA (napr. celoexómové sekvenovanie, alebo celogenómové sekvenovanie), ktoré sa začínajú postupne uplatňovať, prinesú určite významný pokrok v diagnostike. Avšak ani tieto metódy nemusia vždy priniesť jednoznačný výsledok. Skutočná klinická závažnosť identifikovanej mutácie nemusí byť zrejmá, čo má významný vplyv na kvalifikované rozhodovanie o spôsobe liečby.

Analýza TREC a KREC

Pred viac ako 10 rokmi bola do laboratórnej praxe zavedená metóda, pomocou ktorej je možné detegovať segmenty DNA, ktoré vznikajú v procese dozrievania T lymfocytov, presnejšie pri vytváraní funkčného receptora T lymfocytov. Tieto fragmenty DNA vznikajú odštiepením počas rekombinácie A lokusu T receptora a označujú sa ako excízne krúžky T receptora (TRECs, T-Receptor Excision Circles). Sú veľmi stabilné, nedelia sa spolu s bunkou a dajú sa kvantitatívne merať z periférnej krvi pomocou polymerázovej reťazovej reakcie. Nízke hodnoty TREC poukazujú na nízku tvorbu T lymfocytov v týme. Na podobnom princípe sa podarilo založiť metódu KREC (kappa-deleting recombination excision circles), ktorá stanovuje DNA fragmenty vznikajúce pri genomickom preskupovaní

kappa ľahkých reťazcov imunoglobulínov. Pomocou metódy KREC sa dokáže identifikovať závažná porucha B lymfocytov pri tvorbe štruktúry imunoglobulínov. V roku 2005 Chan a Puck preukázali, že absencia TREC izolovaných zo suchej kvapky krvi novorodencov umožňuje identifikáciu SCID pacientov (7). Obdobne Nakagawa v roku 2011 dokázal, že KREC izolované zo suchej kvapky Guthrieho skríningovej kartičky je možné využiť na identifikovanie pacientov s poruchami vývoja B lymfocytov ako je X-viazaná agamaglobulinémia (8). Obidve uvedené metódy nenahradzujú metódy prietokovej cytometrie, ale umožňujú rýchlu a najmä včasnú detekciu závažných porúch vývoja T a B lymfocytov akými sú SCID, X-viazaná agamaglobulinémia, deficit DOCK8 (autozomálne recesívna forma Hyper-IgE syndrómu) alebo poruchy reparácie DNA ako Nijmegenský syndróm a ataxia telangiectázia.

Existujúce skúsenosti so skríningom SCID

Metódy prietokovej cytometrie sú vzhľadom na nákladovosť, ale aj nutnosť okamžitého spracovania vzoriek krvi, pre celoplošné testovanie nevhodné. Zdokonalenie metódy kvantitatívneho merania TREC umožnilo relatívne jednoduchým spôsobom identifikovať jedincov s ťažkou poruchou v tvorbe T lymfocytov. Prvým štátom, ktorý začal s celoplošným skríningom SCID bol štát Wisconsin v Spojených štátoch amerických v roku 2008 (9). V priebehu prvých troch rokov vyšetrili 207 676 novorodencov, z ktorých 72 malo pozitívny test (0,035 %). Z týchto skríningom identifikovaných detí sa v 38 prípadoch konfirmačnými testami pomocou prietokovej cytometrie vylúčila porucha T lymfocytov (falošná pozitivita). V 33 prípadoch sa potvrdila závažná T lymfopénia, čo predstavovalo pozitívnu prediktívnu hodnotu testu 45,83 %. U viac ako polovice detí (58 %) sa zistila sekundárna príčina lymfopénie v dôsledku anatomických defektov lymfatických orgánov a ciev, chromozomálnych anomálií, metabolických chorôb alebo rôznych vrodených vývojových chýb. U ostatných detí sa potvrdila delécia 22q11 (DiGeorgeov syndróm) a SCID. Incidencia klinicky významnej lymfopénie sa pohybovala na úrovni 1 na 44 000, čo je dvakrát častejšie ako uvádzali dovtedy publikované práce. Veľmi podobné skúsenosti postupne publikovali z pracovísk v štáte Kalifornia a v štáte New York (10), kde počet klasických prípadov SCID bol 1 : 50 000 a 1 : 48 500. Ukázalo sa, že v určitých populáciách môže byť incidencia ešte vyššia.

Skríning pomocou TREC sa ukázal spoľahlivým indikátorom závažnej poruchy T lymfocytov. Žiadne dieťa s klasickou formou SCID vyšetrené

skríningom TREC neostalo nediagnostikované. Skríning naopak nezachytáva viaceré poruchy funkcie T lymfocytov, akými sú napríklad poruchy rekombinácie (deficit CD40L, deficit MHC II. triedy, deficit ZAP-70 a ďalšie) označované skoršie pod názvom Hyper-IgM syndróm. Relatívnym problémom je aj vyšetrenie predčasne narodených detí, pretože tieto majú v dôsledku nezrelosti veľmi nízke hodnoty lymfocytov. Skríning sa u týchto detí musí prispôbiť gestačnému veku. V Európe celoplošný skríning nezavedla dosiaľ žiadna krajina. Priebeha viacerých pilotných štúdií v Nemecku, Švédsku, Veľkej Británii a v ďalších krajinách sa pripravuje. Nedávno publikované práce z týchto pilotných projektov preukázali veľmi efektívne posilnenie testovania použitím paralelného merania TREC a KREC, bez významnejšieho navýšenia nákladov (11). Podľa výsledku prvej analýzy bolo možné rozdeliť vzorky na tri skupiny. Najväčšiu tvorili vzorky s hodnotami nad hraničným limitom, t. j. normálne hodnoty. Druhú skupinu, 0,23 % z celého súboru tvorili vzorky s nedostatočnou koncentráciou DNA, ktoré nebolo možné spoľahlivo hodnotiť a vyžadovali druhý odber suchej kvapky krvi. Takmer všetky tieto druhé vzorky boli v norme. Tretiu skupinu tvorili vzorky pod detekčným limitom pre TREC alebo KREC, považované za pozitívny výsledok. Pozitívne testovaní pacienti vyžadujú konfirmačné vyšetrenie v imunologickom centre, ktoré overí nález ďalšími imunologickými a genetickými metódami. U určitej časti skríningom diagnostikovaných detí sa nepodarí preukázať príčinu T lymfopénie ani ďalšími komplexnými analýzami. Štúdium týchto prípadov ukáže v budúcnosti, či ide o doteraz nepoznané genetické defekty, alebo o funkčnú nezrelosť v dôsledku sekundárnych, environmentálnych vplyvov. Zásadnú podporu pre zavedenie skríningu SCID dala nedávno prijatá Berlínska deklarácia, ktorú podpísalo viac ako 212 expertov z 78 krajín celého sveta (12).

Ťažké kombinované imunodeficiencie na Slovensku

Presnú evidenciu diagnostikovaných detí s diagnózou SCID na Slovensku dosiaľ nemáme. V Detskej fakultnej nemocnici s poliklinikou v Bratislave, v ktorej ako jedinej sa vykonáva transplantácia krvotvorných buniek u detských pacientov v Slovenskej republike, bolo od roku 2003 diagnostikovaných a liečených celkovo 10 detí s ťažkou kombinovanou imunodeficienciou. Z nich u siedmich bola vykonaná transplantácia krvotvorných buniek od HLA identických súrodencov alebo zhodných nepríbuzenských darcov. V šiestich prípadoch bola úspešne dosiahnutá

imunitná rekonštitúcia a dlhodobá dobrá prognóza. V jednom prípade prebieha vyhľadávanie vhodného nepríbuzenského darcu. Napriek intenzívnej starostlivosti sa nepodarilo u troch pacientov zabrániť fatálnym infekčným komplikáciami, ktoré sa rozvinuli ešte pred transplantáciou alebo bezprostredne po nej. Celková úspešnosť liečby diagnostikovaných pacientov dosiahla tak 66 % (6 z 9 prípadov), úspešnosť transplantácie liečby až 85 % (6 z 7 prípadov).

Na základe podrobnejšej analýzy sa klasická forma SCID potvrdila u 7 detí. V ďalších prípadoch išlo o atypickú formu SCID s neskorým nástupom (zložený heterozygot v géne ADA a bližšie neidentifikovaný defekt) a o kompletný DiGeorgeov syndróm (del22q11). Celkovo sa u štyroch pacientov enzyimovou a genetikou analýzou potvrdil deficit ADA, u dvoch súrodencov sa potvrdil deficit spoločného reťazca cytokínov (na X chromozóm viazaný SCID). V 3 prípadoch z desiatich detí sa genetický defekt nepodarilo identifikovať a diagnóza bola postavená na klinickom a imunologickom fenotype, vrátane chýbajúcich kópií TREC v čase diagnózy a v izolovanej DNA z novorodeneckej skríningovej kartičky. Pri predpokladanom priemernom počte 55 000 živonarodených novorodencov na Slovensku ročne, môžeme doterajšiu úspešnosť diagnostiky klasickej formy SCID počítať na 1 prípad na 78 500, čo je o polovicu menej ako ukazujú novšie výsledky na základe skúseností z celoplošného skríningu v zahraničí.

Odporúčaný postup pri podozrení na SCID

Pri podozrení na ťažkú kombinovanú formu imunodeficiencie sú základom iniciálneho postupu opatrenia obmedzujúce mikróbnú expozíciu bakteriálneho, vírusového a fungálneho pôvodu. Hygienické opatrenia sa týkajú ošetrojúceho personálu a blízkych príbuzných. Pri manipulácii s dieťaťom musia nosiť ochranné rúška na tvár, dezinfikovať si ruky a pracovné nástroje a nosiť sterilné ochranné rukavice. Zdrojom závažnej mikróbovej expozície môže byť strava, vrátane materského mlieka. Pokiaľ nie je vylúčená CMV infekcia matky, je vhodnejšia náhrada mliečnym prípravkom bez obsahu laktózy. Ďalším rizikom sú živé atenuované vakcíny typu rotavírusovej vakcíny, vakcíny BCG, alebo vakcíny proti varicelle, morbilám, mumpsu a parotitíde. Zdrojom vírusu môže byť aj blízka osoba (napr. súrodenec), ktorej bola táto vakcína v bezprostrednom období podaná. Súčasťou iniciálnej liečby je profylaktické podávanie širokospektrálnych antibiotík, virostatik a antimykotík. Potrebná je substitúcia imuno-

globulínov intravenóznou cestou. Diagnostický proces zameraný na identifikovanie infekčných komplikácií vyžaduje použitie takmer výlučne priame metódy dôkazu infekčného agens. Výhodou býva úzka spolupráca s mikrobiologickým a virologickým laboratóriom.

Neinfekčné komplikácie ťažkej kombinovanej imunodeficiencie môžu spôsobiť živé bunky prenesené prenatálne alebo perinatálne od matky do krvného obehu dieťaťa. Zdrojom takýchto buniek môžu byť aj transfúzne prípravky. V oboch prípadoch vzniká reakcia štetu proti hostiteľovi (GvHD). Indikované krvné prípravky musia byť preto zbavené leukocytov a ožiarené. SCID sa považuje za medicínsky naliehavú situáciu. Starostlivosť by mala byť zabezpečovaná na špecializovanom pracovisku so zaškoleným personálom. Súčasne s diagnostickým procesom sa začína vyhľadávanie vhodného darcu a príprava na transplantáciu. Tabuľka 4 uvádza zoznam iniciálnych opatrení pri podozrení na ťažkú kombinovanú imunodeficienciu. V prípade podozrenia na syndróm SCID, či už na základe klinického obrazu, pozitívnej rodinnej anamnézy alebo prítomnej lymfopénie inak nejasnej etiológie, je možné kontaktovať pracoviská Detskej fakultnej nemocnice v Bratislave (1. detskú kliniku alebo TJ kliniky detskej hematológie a onkológie) za účelom konzultácie a ďalších vyšetrení.

Záver

Skríningový program je silným nástrojom preventívne orientovanej medicíny. Primárne imunodeficiencie zaznamenali v posledných rokoch veľký rozvoj poznatkov v oblasti patofyziológie s dosahom na ich diagnostiku a liečbu. Na základe klinických, sociálnych a ekonomických kritérií sa stali ideálnym kandidátom na rozšírenie novorodeneckého skríningu minimálne v prípade ťažkých porúch vývoja lymfocytov. K diskusií o tejto téme musia pochopiteľne prispieť nielen lekári, ale aj zástupcovia rodičov, zástupcovia poisťovní a ministerstva zdravotníctva. Metódy TREC a KREC nie sú úplnou zárukou vylúčenia primárnej imunodeficiencie, ale poskytujú včasné varovanie pri viacerých závažných poruchách imunity.

Literatúra

1. Waleed Al-Herz W, et al. Primary immunodeficiency diseases: an update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency. *Front Immunol*. 2011 Nov 8;2:54.
2. Puck JM. SCID Newborn Screening Working Group. Population-based newborn screening for severe combined immunodeficiency: steps toward implementation. *J Allergy Clin Immunol*. 2007 Oct;120(4):760–8.
3. Brown L, Xu-Bayford J, et al. Neonatal diagnosis of severe combined immunodeficiency leads to significantly improved survival outcome: the case for newborn screening. *Blood*. 2011;117(11):3243–3246.

4. Chovancová D. Novorodenecký skríning na Slovensku. *Pediatr. Prax*. 2007;1:13–16.
5. Dluholucký S, Knapková M. Novorodenecký skríning na Slovensku – od roku 1985 doposiaľ. *Acta Facultatis Pharmaceuticae Universitatis Comenianae*. Volume LX, Issue Supplementum VIII, Pages 32–36.
6. Loeber JG, Burgard P, et al. Newborn screening programmes in Europe; arguments and efforts regarding harmonization. Part 1. From blood spot to screening result. *J Inher Metab Dis*. 2012 Jul;35(4):603–11.
7. Chan K, Puck JM. Development of population-based newborn screening for severe combined immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;115:391–8.
8. Nakagawa N, Imai K, Kanegane H, et al. Quantification of kappa-deleting recombination excision circles in Guthrie cards for the identification of early B-cell maturation defects. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;128:223–225.
9. Chase NM, Verbsky JW, Routes JM. Newborn screening for SCID: three years of experience. *Ann. N.Y. Acad. Sci*. 2011;1238:99–105.
10. Kwan A, Church A, et al. Newborn screening for severe combined immunodeficiency and T-cell lymphopenia in California: Results of the first 2 years. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;132:140–50.
11. Borte M, et al. Neonatal screening for severe primary immunodeficiency diseases using high-throughput triplex real-time PCR. *Blood*. 2012;119(11):2552–2555.
12. http://www.acadip.org/docroot/demo/images/9.10.13_BerlinDeclaration_with_signatures.pdf

doc. MUDr. Peter Čižnár, CSc.

1. detská klinika LF UK a DFNSP
Limbová 1, 833 40 Bratislava
ciznar@dfnsp.sk

