

Novinky v oblasti vrozených poruch imunitního systému

Zita Chovancová

Ústav klinické imunologie a alergologie LF MU a FN u sv. Anny v Brně

Vrozené poruchy imunitního systému (PID/IEIs) představují dynamicky se rozvíjející skupinu onemocnění, která je kromě zvýšené náchylnosti k infekcím charakterizována také výskytem autoimunitních, autoinflamatorních, alergických a maligních komplikací. V dnešní době bylo popsáno kolem 500 těchto onemocnění a jejich počet se neustále zvyšuje.

Výsledkem dynamického pokroku v diagnostice a terapii těchto onemocnění je rozvoj genetické diagnostiky, zavedení screeningového vyšetření PID/IEIs u novorozenců, stejně tak jako používání nových terapeutických přístupů včetně genové terapie. V České republice bylo na počátku roku 2024 zavedeno plošné screeningové vyšetření těžké kombinované imunodeficiency (SCID). Rozvoj nových technologií umožňuje zlepšení genetické diagnostiky a získávání nových poznatků týkajících se patogeneze PID/IEIs, které lze využít k vývoji cílené terapie. Symptomatická léčba pacientů s PID/IEIs je kromě antimikrobiální profylaxe a imunoglobulinové substituční léčby obohacena o terapii tzv. malými molekulami a biologickou léčbou monoklonálními protilátkami namířenými proti buňkám nebo jejich produktům. V kauzální léčbě pacientů s PID/IEIs dochází ke zlepšení postupů v provádění transplantace hematopoetických krevních buněk (HSCT) a pokrokům na poli genové terapie. Budoucí vývoj v oblasti PID/IEIs bude směřovat k dalšímu zpřesnění jejich diagnostiky a rozvoji cílené terapie včetně personalizovaného přístupu k léčbě.

Klíčová slova: primární imunodeficiency, vrozené poruchy imunitního systému, screening SCID, genová terapie, monoklonální protilátky, malé molekuly.

New trends in the field of inborn errors of immunity

Congenital disorders of the immune system (PIDs/IEIs) represent a dynamically developing group of diseases characterized not only by an increased susceptibility to infections but also by the occurrence of autoimmune, autoinflammatory, allergic, and malignant complications. Around 500 of these diseases have been described to date, and their number continues to grow. The result of dynamic progress in the diagnosis and therapy of these diseases is the progress of genetic diagnostics, the introduction of screening for PID/IEIs in newborns, as well as the use of new therapeutic approaches including gene therapy. Since the beginning of 2024, nationwide screening for severe combined immunodeficiency (SCID) has been introduced in the Czech Republic. Advances in genetic diagnostic technologies have allowed for more precise diagnostics and the acquisition of new data regarding the pathogenesis of PIDs/IEIs, which can be used to develop targeted therapies. Symptomatic treatment for patients with PIDs/IEIs, in addition to antimicrobial prophylaxis and immunoglobulin replacement therapy, has been enhanced with small molecules and biological therapy using monoclonal antibodies targeted against cytokines, cells, or their products. In the causal treatment of patients with PIDs/IEIs, there have been improvements in the procedures for hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) and advances in the field of gene therapies.

Future developments in the field of PID/IEIs will focus on more precise diagnostics, targeted therapies, and a personalized approach to treatment.

Key words: inborn errors of immunity, primary immunodeficiencies, SCID screening, gene therapy, monoclonal antibodies, small molecules.

doc. MUDr. Zita Chovancová, Ph.D.

Ústav klinické imunologie a alergologie LF MU a FN u sv. Anny v Brně

zita.chovancova@fnusa.cz

Cit. zkr: Vnitř Lék. 2024;70(8):533-538

Článek přijat redakcí: 1. 8. 2024

Úvod

Imunitní systém představuje základní homeostatický systém organismu, který se podílí na udržení jeho rovnováhy. Mezi jeho základní funkce patří obranyschopnost, autotolerance a imunitní dohled nad rozvojem maligního bujení. Nedostatečná, nadměrná nebo jinak porušená funkce jednotlivých složek imunitního systému vede k rozvoji imunodeficitních, autoimunitních, alergických nebo nádorových onemocnění. Imunodeficience představují imunopatologické stavy, pro které je charakteristická snížená schopnost adekvátně reagovat na původce infekčních onemocnění a bránit rozvoji maligního bujení. Tento stav může být způsoben vrozenými genetickými faktory (primární imunodeficience) nebo nastává druhotně v důsledku infekčních či chronických onemocnění nebo jejich léčby (sekundární imunodeficience).

Pojem „primární imunodeficience (PID)“ začal v posledních letech nahrazován termínem „vrozené poruchy imunity (IEIs)“. Toto novější označení lépe vystihuje skutečnost, že se u těchto onemocnění kromě snížené funkce imunitního systému vyskytuje také jeho dysregulace, což může vést k rozvoji autoimunitních, autoinflamatorních, alergických nebo maligních komplikací. Ačkoli jsou jednotlivá onemocnění z této skupiny považována většinou za vzácná, přesné odhady celkové prevalence PID/IEIs chybí. Dle systematického přehledu vycházejícího z publikovaných dat PID/IEIs registrů je prevalence těchto onemocnění odhadována na 1 případ na 8 500–100 000 obyvatel (1). Nicméně se předpokládá, že frekvence těchto onemocnění je ve skutečnosti mnohem vyšší a že mohou postihovat až 1 % světové populace (2). Pro větší přehlednost byla tato onemocnění rozčleněna do deseti základních kategorií dle typu poruchy funkce imunitního systému, přičemž některé kategorie jsou rozděleny do dalších podkategorií (Tab. 1). Nejvýznamnější skupinou jsou převážně protilátkové deficiencie, které tvoří více než polovinu všech vrozených poruch imunitního systému.

V posledních desetiletích dochází k dynamickému rozvoji diagnostiky a terapie těchto onemocnění. Za nejvýznamnější pokroky na poli PID/IEIs můžeme považovat rozvoj genetické diagnostiky, zavedení screeningového vyšetření PID/IEIs u novorozenců, stejně tak jako nové terapeutické přístupy včetně genové terapie.

Pokroky v genetické diagnostice vrozených poruch imunitního systému

V dnešní době představuje genetické testování základní součást diagnostického procesu u pacientů s PID/IEIs. Molekulárně genetická analýza s nálezem kauzální mutace znamená definitivní potvrzení diagnózy. Navíc znalost konkrétního genotypu umožňuje genetické poradenství v rodině včetně stanovení rizika narození dalšího postiženého dítěte a s tím související možnost prenatální nebo předimplantační diagnostiky. Genetická diagnostika dnes disponuje různými metodami sekvenování DNA, mezi které patří Sangerova metoda sekvenování jednotlivých genů, cílené sekvenování nové generace (tNGS), sekvenování celého exomu (WES) nebo sekvenování celého genomu (WGS) (3). Výběr konkrétní metody závisí na klinickém obrazu daného pacienta a z něho odvozené diferenciální diagnostiky PID/IEIs. Kromě klasických genetických metod se objevuje řada nových technologií, mezi které patří například optické mapování genomu, sekvenování genomu jed-

notlivých buněk, aplikace umělé inteligence pro analýzu a interpretaci genetických dat a další (3). Nicméně s obrovským pokrokem v genetické diagnostice pacientů s PID/IEIs přichází do popředí také některé výzvy, které souvisí zejména s rostoucím množstvím genetických dat získaných od konkrétního pacienta. Jedná se především o klinickou interpretaci variant genu neznámého významu (3). Použití nových technologií přinese v blízké době ještě podrobnější vhled do etiologie PID/IEIs, což umožní vývoj cílené terapie. Na druhou stranu je třeba si uvědomit, že navzdory pokrokům v genetické diagnostice se u některých pacientů s příznaky svědčícími pro PID/IEIs nedaří v daném čase identifikovat příčinnou genetickou mutaci, takže negativní nález genetického vyšetření nevylučuje diagnózu PID/IEIs.

Novorozenecký screeningový program těžké kombinované imunodeficiencie (SCID) v České republice

Časná diagnostika a léčba závažných poruch imunitního systému umožňuje předcházet rozvoji fatálních infekčních komplikací nebo nevratnému poškození organismu opakovanými infekcemi a rozvojem přidružených komplikací. Nejúčinnější a mnohdy jedinou kurativní procedurou je časně provedení transplantace hematopoetických krevních buněk (HSCT). To platí zejména o diagnóze těžké kombinované imunodeficiencie (SCID), která se rozvíjí v důsledku defektu v diferenciaci hematopoetických kmenových buněk do stadia zralých T lymfocytů, přičemž dle konkrétního genotypu jsou postiženy i další lymfoidní linie (4). Výsledkem je kombinovaná porucha imunitního systému v důsledku porušení buněčné i humorální imunitní odpovědi. Rozvoj fenotypu SCID může být způsoben poruchou jakéhokoli z více než 20 genů, které řídí diferenciaci a proliferaci vy zralých lymfocytů (5).

Jednotlivé formy SCID jsou klasifikovány podle typu genetické poruchy a jejího vztahu k počtu a porušené funkci T lymfocytů, B lymfocytů nebo NK buněk. Klinické příznaky SCID odpovídají kompletnímu rozvratu imunitního systému a nastupují časně během několika týdnů

Tab. 1. Dělení vrozených poruch imunity do skupin dle IUIS klasifikace

1	Imunodeficiencie postihující buněčnou i protilátkovou imunitu ■ těžké kombinované imunodeficiencie definované CD3+ T lymfocytopenií (SCID) ■ kombinované imunodeficiencie klinicky méně závažné oproti SCID
2	Kombinované imunodeficiencie asociované se syndromy
3	Převážně protilátkové imunodeficiencie ■ hypogamaglobulinémie ■ další protilátkové imunodeficiencie
4	Choroby spojené s imunitní dysregulací ■ hemofagocytující lymfohistiocytóza a náchylnost k EBV infekcím ■ syndromy s autoimunitním poškozením a ostatní
5	Vrozené poruchy počtu a funkce fagocytárních buněk ■ neutropenie ■ defekty funkce fagocytárních buněk
6	Poruchy rezistence k infekcím a vrozené imunity ■ predispozice k virovým infekcím ■ predispozice k bakteriálním, houbovým a parazitárním onemocněním
7	Autoinflamatorní onemocnění
8	Deficiencie komplementového systému
9	Selhání kostní dřeně
10	Fenokopie vrozených poruch imunitního systému

až prvních měsíců od narození. Objevují se klasické i oportunní bakteriální, virové a plísňové infekce postihující různé orgány, které nereagují adekvátně na antibiotickou, antivirovou nebo antimykotickou léčbu. Jedná se zejména o opakované, závažné a perzistující infekce horních a dolních dýchacích cest způsobené klasickými nebo oportunními patogeny (například *Pneumocystis jirovecii*) a dále kandidové infekce orofaryngeální oblasti (6). Kromě recidivujících závažných infekčních komplikací se objevují také průjmy a neprospívání (7). Před provedením první úspěšné transplantace kostní dřeně u pacienta s touto diagnózou v roce 1968 bylo toto onemocnění letální (8). Dnes je možné pacienty vyléčit pomocí včasné provedené HSCT, ale v některých případech také náhradou tvorby chybějícího enzymu SCID v důsledku deficitu enzymu adenosindeaminázy (ADA-SCID) nebo dokonce genovou terapií (6).

Většina genových mutací způsobujících toto onemocnění vzniká sporadicky bez předchozího výskytu v rodinách, což bylo v minulosti jedno z mála vodítek umožňující časnější diagnózu SCID (9). Navíc bylo prokázáno, že pokud byli pacienti s touto diagnózou zejména díky pozitivní rodinné anamnéze diagnostikováni a podstoupili HSCT během svých prvních 3,5 měsíců života, měli lepší naději na přežití než děti, které byly diagnostikovány a залечены později, a tím pádem již trpěly na závažnější a vnitřní orgány poškozující infekce (10). Vzhledem k výše uvedenému se tato skupina onemocnění ukázala být ideálním kandidátem pro zavedení screeningové vyšetření novorozenců (11). Jedná se totiž o onemocnění, které je bez provedení rekonstituce imunitního systému fatální, po narození má krátkou asymptomatickou periodu, k dispozici je účinná terapie, časnější terapeutický zásah znamená lepší prognózu pacienta a navíc existuje laboratorní vyšetření, které umožňuje detekci závažného postižení lymfocytů ihned po narození (12).

S prvním pokusem o časný záchyt novorozenců s diagnózou SCID přišla v roce 1997 skupina kolem Buckleyové a Puckové, která ukázala na to, že u většiny pacientů s diagnózou SCID se vyskytuje snížení absolutního počtu lymfocytů v diferenciálním krevním obraze (13). Nicméně SCID pacienti se sníženým počtem T lymfocytů, ale zároveň zvýšeným počtem B lymfocytů nebo NK buněk nemuseli mít celkovou lymfopenii, čímž by při použití této screeningové metody unikli ze zřetele. Podobně falešně negativní výsledky byly získány v případě přítomnosti maternofetálního engraftmentu T lymfocytů, při kterém se v cirkulaci kojence nacházejí mateřské T lymfocyty. Zavedení screeningového vyšetření bylo umožněno až zjištěním, že během vývoje T lymfocytů dochází k přeskupování genů kódujících T-buněčný receptor, což vede ke vzniku široké škály T lymfocytů, které dokáží rozpoznat velké množství různých antigenů. Při tomto procesu dochází k odštěpení již dále nepotřebných fragmentů DNA, které se na koncích spojí do kroužku. Takto vznikají tzv. TRECs z anglického „T cell receptor excision circles“. Tyto nadbytečné kroužky DNA nejsou schopny další replikace, proto se jejich množství v buňkách postupně snižuje s každým dalším kolem buněčného dělení. Kvantifikace počtu TRECs pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) odpovídá počtu nově vytvořených naivních T lymfocytů, které se dostávají z thymu do periferní cirkulace. Děti mají po narození vyšší počet TRECs (přibližně 1 TREC na 10 T lymfocytů) v porovnání se staršími dětmi nebo dospělými osobami (10–100krát nižší počet TRECs), kdy ke zvýšení počtu T lym-

focytů dochází proliferací již dříve vytvořených T lymfocytů v periferní místo zvýšené produkce naivních T lymfocytů thymem (14). Později byly popsány také KRECs (z anglického „kappa-deleting recombination excision circles“), což jsou malé kruhové DNA molekuly, které vznikají během vývoje B lymfocytů při rekombinaci genů pro těžký a lehký řetězec imunoglobulinů (15). Podobně jako TRECs se neúčastní další replikace a jejich počet zůstává stabilní v buňkách, které se již nedělí. TRECs jsou tvořeny během pozdních fází vývoje T lymfocytů prakticky před jejich uvolněním z thymu do periferní cirkulace, takže jejich hladina v periferní krvi odráží aktivitu thymu (16, 17). Na druhou stranu KRECs jsou vytvářeny v časných fázích vývoje B lymfocytů až po vyzrálé B lymfocyty. Počet TRECs v periférii odráží počet naivních vyzrálých B lymfocytů (15). Je třeba si však uvědomit, že vyšetření pomocí TRECs a KRECs nezachytí poruchy funkce lymfocytů, které vzniknou až po přeskupení DNA v procesu VDJ rekombinace.

Novorozenecký laboratorní screening je součástí preventivní péče a jeho cílem je rychlá diagnostika a včasná léčba novorozenců se vzácnými onemocněními. První novorozenecký screeningový program byl vyvinut v 60. letech minulého století ve Spojených státech amerických profesorem Robertem Guthriem, kterému se podařilo vyvinout metodu, která umožňovala stanovení fenylalaninu v suché kapce kapilární krve odebrané na filtrační papírek (18). Screening fenylketonurie se stal prvním a je doposud nejvíce rozšířeným novorozeneckým screeningem na světě. V České republice projde každoročně screeningovým vyšetřením přibližně 110–115 tisíc novorozenců, což jsou téměř všichni novorozenci daného roku až na malé množství nově narozených dětí, které přišly na svět mimo zdravotnická zařízení či jejich zákonní zástupci odmítli provedení screeningového vyšetření. Odběr krve z paty novorozence je prováděn 48–72 hodin po porodu.

Pod záštitou Národní screeningového centra České republiky se do počátku roku 2024 provádělo screeningové vyšetření novorozenců na přítomnost celkem 18 onemocnění (kongenitální hypotyreózy, kongenitální adrenální hyperplazie, cystické fibrózy a celkem 15 typů dědičných poruch metabolismu). Mezi ně se od 1. ledna 2024 zařadil nově také screening těžké kombinované imunodeficiency (SCID) a spinální muskulární atrofie (SMA). Pro screeningovou analýzu těchto onemocnění není nutný další odběr vzorku, protože vyšetření se provádí ze stejné suché kapky krve odebírané pro rutinní novorozenecký screening.

Zavedení plošného screeningu SCID předcházely 2 roky trvající pilotní projekt. Primárním cílem pilotního projektu bylo zachytit pacienty s diagnózou SCID. Nicméně vyšetřením počtu TRECs a KRECs je možné zachytit kromě SCID také část pacientů s některými dalšími závažnými imunodeficiency, pro které je charakteristická lymfopenie. Mezi ně patří například Xvázaná agamaglobulinemie (XLA), autozomálně recesivně dědičná agamaglobulinemie (ARAG), diGeorgův syndrom (DGS), ataxia teleangiectasia (AT), Downův syndrom (DS), Nijmegen breakage syndrom (NBS) a další.

Laboratorní vyšetření SCID metodou kvantitativní polymerázové řetězové reakce v reálném čase (QR-PCR) provádějí dvě pracoviště, a to Diagnostické laboratoře dědičných poruch metabolismu Všeobecné fakultní nemocnice v Praze a Centrum molekulární biologie a genetiky Interní hematologické a onkologické kliniky Fakultní nemocnice Brno.

U pacientů s podezřením na zachycení vyšetřovaného onemocnění následuje podrobnější imunologické vyšetření z čerstvých krevních vzorků, které zajišťuje Ústav imunologie Fakultní nemocnice v Motole a Pediatrická klinika Fakultní nemocnice Brno ve spolupráci s Ústavem klinické imunologie a alergologie FN u sv. Anny v Brně (19). Dle předběžných výsledků zveřejněných na webových stránkách Národního screeningového centra (<https://nsc.uzis.cz>) bylo v časovém období od ledna 2022 do prosince 2023 provedeno 178 639 screeningových vyšetření, kterými bylo odhaleno 21 novorozenců s diagnózou SMA, 1 novorozenec s diagnózou SCID a dalších 17 novorozenců s jinou poruchou funkce imunitního systému (např. XLA, ARAG, DGS a další) (20). Nedílnou součástí celého projektu je mezioborová spolupráce biochemiků, genetiků, imunologů a dalších klinických lékařů.

Zavedením novorozeneckého screeningu je naprostá většina kojenců s diagnózou SCID odhalena časně po narození namísto klasické prezentace infekčními komplikacemi v prvních měsících života, což vede k jejich časné léčbě, a tím pádem lepším klinickým výsledkům. Navíc vyšetření pomocí TRECs a KRECs neodhalí pouze většinu forem SCID, ale také celou řadu méně závažných poruch funkce imunitního systému, které by byly dle povahy své závažnosti odhaleny až s různě dlouhým diagnostickým zpožděním. Na druhou stranu screeningové vyšetření pomocí TRECs a KRECs nemusí zachytit celou škálu vrozených poruch imunity. Obecně se jedná o vrozené poruchy imunitního systému, které mají lehce snížené nebo normální počty lymfocytů, ale také některé formy SCID nebo hypogamaglobulinemii, které mohou být mírnější nebo se mohou rozvinout až později během života.

Novinky v symptomatických možnostech léčby pacientů s PID/IEIs

Díky rozšiřujícímu se povědomí o patogenezi PID/IEIs se zvyšuje množství léčiv, která lze k terapii těchto onemocnění využít. Kromě základních symptomatických terapeutických přístupů k pacientům s diagnózou PID/IEIs, kam patří antimikrobiální léčba, imunoglobulinová substituční léčba nebo případně enzymová substituční léčba, se v poslední době dostává do popředí zejména biologická terapie pomocí monoklonálních protilátek a tzv. malých molekul. Jejich výhodou je schopnost zacílit na některou ze složek imunitní dráhy nebo molekulární defekt, čímž se zvyšuje jejich schopnost kontrolovat klinické příznaky daného onemocnění za současného snížení množství nežádoucích účinků. Tyto léčiva se využívají zejména u podskupiny PID/IEIs, která se označuje jako primární imunodeficience s imunitní dysregulací (PIRDs) (21). Z hlediska klinického obrazu je pro ně kromě zvýšené náchylnosti k infekcím charakteristická především přítomnost autoimunitních, lymfoproliferativních, autoinflamatorních, těžkých atopických nebo maligních komplikací (21). Ideální vybalancování léčby těchto pacientů je mnohdy obtížné, protože imunosupresivní terapie ovlivňující příznaky dysregulace imunitního systému je na druhou stranu spojena s rizikem rozvoje infekčních komplikací.

V dnešní době se u pacientů s PID/IEIs používá nebo je zkoušena celá řada moderních léčiv. První skupinou jsou monoklonální protilátky (mAb) působící jako antagonisté různých cytokinů nebo jejich receptorů, kam patří antagonisté tumor nekrotizujícího faktoru alfa anti-TNF-alfa

(adalimumab, infliximab, etanercept), cytokinu IL-1 (anakinra, canakinumab), receptoru pro IL-4 (dupilumab), cytokinu IL-5 (mepolizumab, reslizumab, benralizumab), IL-6 (tocilizumab), IL12/23 (ustekinumab) a interferonu gamma IFN-gamma (emapalumab). Další skupinou jsou mAb namířené proti různým buňkám nebo jejich produktům, jako je mAb proti molekule CD20 cílící na B lymfocyty (rituximab), mAb namířená proti imunoglobulinu IgE (omalizumab) nebo mAb namířená proti C5 složce komplementu (eculizumab). Mezi tzv. inhibitory malých molekul se řadí analoga molekuly CTLA-4 (abatacept) a inhibitory Janusových kináz JAK (ruxolitinib, tofacitinib, baricitinib). Skupinu kinázových inhibitorů tvoří mTOR inhibitory (sirolimus, everolimus, temsirolimus) a inhibitory fosfatidylinositol 3-kinázy PI3K (leniolisib). Do poslední skupiny léčiv patří imunostimulační látky, a to rekombinantní cytokin IFN-gamma (22).

Příkladem jednoho z nejvíce zastoupených prototypických onemocnění patřících do skupiny PIRDs, u kterého se nabízí užívání těchto moderních léčiv, je běžná variabilní imunodeficience (CVID) (23). Jedná se o nejčastější symptomatickou vrozenou poruchu tvorby protilátek, kde se kromě zvýšené náchylnosti k infekčním komplikacím objevují také důsledky přítomnosti imunodysregulace v podobně rozvoje granulomatózně-lymfocytárního intersticiálního plicního onemocnění (GLILD), CVID enteropatie nebo jaterního postižení. Mezi léčiva s potenciálem ovlivnit tyto komplikace patří mTOR inhibitory (sirolimus), JAK inhibitory (tofacitinib), mAb anti-IL-12/23 (ustekinumab), mAb namířené proti faktoru aktivujícímu B lymfocyty BAFF (belimumab) nebo analoga molekuly CTLA-4 (abatacept) (23). Dalším příkladem jsou onemocnění, která byla původně vzhledem k podobným klinickým a laboratorním rysům řazena do diagnózy CVID a jejich oddělení došlo až po odhalení genetické příčiny těchto fenotypů. Jedná se o CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte antigen 4) haploinsuficienci a LRBA (lipopolysaccharide-responsive and beige-like anchor protein) deficienci. CTLA-4 představuje protein exprimovaný na povrchu T lymfocytů, který hraje klíčovou roli v negativní regulaci jejich aktivity, čímž zabraňuje nadměrné imunitní reakci. U těchto onemocnění se vyskytuje snížené množství molekuly CTLA-4 nebo její porušený intracelulární transport. Proto se k jejich léčbě využívá CTLA-4 fúzní protein (abatacept, belatacept), který se skládá z Fc fragmentu lidské IgG1 molekuly připojené k extracelulární doméně CTLA-4 (21). Inhibitory Janusových kináz (JAK inhibitory) jsou skupinou léčiv, která se používají k modulaci imunitního systému a hrají tak klíčovou roli v léčbě různých autoimunitních a zánětlivých onemocnění (24). Janusovy kinázy představují skupinu enzymů, které přenášejí signály z povrchu buněk do jejich jádra prostřednictvím tzv. JAK-STAT signalizační dráhy. Tato dráha je důležitá pro aktivaci různých imunitních buněk a regulaci produkce cytokinů (24). Jednotlivé složky této dráhy (JAK1–3, STAT1–6 a TYK2) mohou být postiženy „gain-of-function“ (GOF) nebo „lost-of-function“ (LOF) mutací, což vede k rozvoji imunitní dysregulace a autoimunitní manifestace. Blokování JAK-STAT signalizační dráhy pomocí JAK inhibitorů (ruxolitinib, tofacitinib, baricitinib) může snížit nadměrnou imunitní aktivaci, která je často spojena s autoimunitními a zánětlivými stavy (25). JAK inhibitory byly úspěšně použity v léčbě autozomálně dominantního hyper-IgE syndromu (AD-HIES) způsobeného STAT3 GOF mutací, chronické mukokutánní kandidózy

(CMC) způsobené STAT1 GOF a dalších pacientů s onemocněními charakterizovanými zvýšenou aktivací JAK/STAT signální dráhy (25). U JAK inhibitoru ruxolitinibu byla také prokázána účinnost u pacientů s hemofagocytující lymfohistiocytózou (HLH) (26). Inhibitory mTOR se ukázaly být účinné u pacientů s poruchou T regulačních lymfocytů, jako je IPEX syndrom (imunitní dysregulace, polyendokrinopatie, enteropatie, X-vázaný) (27) nebo autoimunitní polyglandulární syndrom (ALPS) (28). Inhibitory PI3K inhibitory společně s mTOR inhibitory je možné využít v terapii pacientů se syndromem aktivované fosfatidylinositol 3-kinázy (APDS) (29).

Novinky v kurativních možnostech léčby pacientů s PID/IEIs

Zatím nejrozšířenějším kurativním přístupem u pacientů se závažnými formami PID/IEIs je alogenní HSCT. Na rozdíl od HSCT prováděné z důvodu terapie maligního krevního onemocnění není cílem eradikace nádorové buněčné linie, ale navození rekonstituce imunitního systému dlouhodobým udržením stabilního dárcovského chimerismu, a tím pádem korekce klinického fenotypu pacienta (30). První úspěšná HSCT u pacienta s diagnózou SCID byla provedena v roce 1968 (8), přičemž v České republice se HSCT provádí od 90. let minulého století. Postupem času došlo k rozšíření portfolia závažných PID/IEIs vhodných k provedení HSCT o Wiskottův-Aldrichův syndrom (WAS), hyper-IgM syndrom (HIGM), familiární hemofagocytující lymfohistiocytózu (FHLH), X-vázané lymfoproliferativní onemocnění (XLP), chronickou granulomatózní chorobu (CGD), těžkou kongenitální neutropenii a některé další závažné kombinované imunodeficiency (31). Dnes neexistují jednoznačné protokoly pro transplantaci většiny pacientů s PID/IEIs. Současná platná doporučení vycházejí z publikovaných dat a zkušeností expertů jednotlivých transplantačních center (31). K alogenní HSCT se většinou přistupuje u pacientů s diagnózou SCID nebo FHLH, zatímco u ostatních diagnóz se o provedení HSCT rozhoduje na základě jejich imunologických parametrů, závažnosti klinických projevů, míře aktuálního nebo očekávaného poškození vnitřních orgánů, ale také dostupnosti vhodného dárce (32). Je to dáno zejména širokou klinickou heterogenitou jednotlivých onemocnění a také nedostatkem prospektivních studií, které by přinesly jasné údaje ohledně úspěšnosti provedení HSCT a dalšího zdravotního vývoje těchto pacientů (33). I když během posledních let dochází k neustálé modifikaci přípravných myeloablačních režimů před provedením samotné HSCT ve smyslu používání co nejšetrnějších přístupů, má provádění HSCT u pacientů s PID/IEIs stále své limitace (34). Mezi ně patří například obtíže s nalezením HLA identického dárce, riziko odhojení štěpu nebo naopak rozvoje reakce štěpu proti hostiteli (GVHD) nebo infekční komplikace. HSCT tedy stále představuje základní život zachraňující léčebný přístup, který sice zlepšuje vyhlídky na přežití pacientů, ale imunologické komplikace představují nejvýznamnější zdroj morbidit a potenciální mortality těchto pacientů (35).

Proto by u PID/IEIs pacientů s monogenní genetickou poruchou mohla být další kurativní nadějí genová terapie. Jedná se o moderní biomedicínskou metodu, která se zaměřuje na léčbu nebo prevenci onemocnění pomocí úpravy genetického materiálu pacienta.

Základem této terapie je vložení, odstranění nebo úprava specifických genů v buňkách pacienta, což může opravit genetické mutace způsobující dané onemocnění (36). Mezi základní přístupy genové terapie patří transdukce genu pomocí virového vektoru (vložení nové kopie genu, která nahrazuje poškozený gen) a úprava genů (přímá modifikace genů v genomu). Transdukci genu pomocí virového vektoru je možné provést dvěma způsoby. V případě tzv. ex vivo genové terapie jsou buňky nejprve odebrány z těla pacienta, geneticky upraveny v laboratoři a následně vráceny zpět do těla pacienta. Vektor nesoucí upravený gen je vpraven do prekursorové nebo zárodečné buňky, takže se opravený gen nachází v dceřiných buňkách vznikajících proliferací mateřské buňky. Pro návrat do cirkulace pacienta je možné vybrat pouze ty buňky, které byly úspěšně geneticky upraveny, což snižuje riziko nežádoucích účinků. U in vivo genové terapie je genetický materiál dodán přímo do těla pacienta pomocí neintegračních virových vektorů, které jsou navrženy tak, aby cíleně infikovaly specifické buňky a zavedly do nich požadovaný upravený gen. Tento gen se dostává do dlouze žijících postmitotických nebo pomalu se dělících buněk a přetrvává v něm pouze po celý život dané buňky (36). Technologie genové editace je dosud nejúčinnější metodou pro provedení cílené změny sekvence DNA v buňce. Pomocí uměle připravených nukleáz (např. ZNF, TALEN, CRISPR-Cas) se na určených místech v genomu vytvářejí dvouřetězcové zlomy, což umožňuje úpravu poškozené části genu, přičemž následně jsou nastartovány přirozené endogenní buněčné procesy vedoucí k reparaci těchto zlomů. Pro léčbu mutací vedoucích ke ztrátě funkce určitého proteinu (LOF mutace) může být použita metoda transdukce genu pomocí virového vektoru, zatímco v případě mutací genů vedoucích k nadprodukcí daného proteinu (GOF mutace) bude snad v budoucnosti možné využít metodu genové editace (37).

Velkým průlomem v genové terapii pacientů s PID/IEIs byl rok 2016, kdy Evropská léková agentura (EMA) schválila přípravek StrimvelisTM pro genovou terapii pacientů s těžkou kombinovanou imunodeficiencí v důsledku deficitu enzymu adenosindeaminázy (ADA-SCID) (38). Tuto léčebnou modalitu je možné použít u těch pacientů s ADA-SCID, kteří nemohou podstoupit HSCT z důvodu nenalezení vhodného dárce. Jedná se ex vivo genovou terapii, při které jsou podávány autologní CD34+ kmenové buňky pacienta transdukované retrovirovým vektorem, který kóduje humánní ADA cDNA sekvenci. Genová terapie sice vede k významnému zlepšení poruchy funkce imunitního systému těchto pacientů, ale neovlivní další přidružené komplikace, jako je ztráta sluchu nebo neurovývojový deficit (39). Genová terapie je v rámci probíhajících klinických hodnocení zkoušena u pacientů s dalšími formami SCID (X-vázaný SCID, Artemis SCID a RAG1 SCID), ale také u pacientů s WAS, CGD nebo deficitem leukocytárních integrinů typu 1 (LAD-1) (35). Použití genové editace bylo publikováno v preklinických studiích pacientů s diagnózou X-SCID, X-CGD, CD40L, CTLA4, XLP, RAG1 a WAS (35). S genovou terapií jsou spjata také jistá potenciální rizika. Zpočátku se u pacientů při užívání retrovirových vektorů objevovaly závažné komplikace, které spočívaly v rozvoji leukemie u některých léčených pacientů. Toto riziko se výrazně zmenšilo při přechodu na lentivirové vektory. Také genová editace může kromě jiného způsobit

nechtěné změny v jiných částech genomu, což může vést k neplánovaným genetickým modifikacím (40).

Závěr

Vrozené poruchy imunitního systému představují stále se rozšiřující skupinu onemocnění, u které se díky pokrokům v objasňování jejich patogeneze daří také zvyšovat množství diagnostických a terapeutických přístupů. Velkým pokrokem na poli PID/IEIs v České republice je zavedení celoplošného screeningu SCID na počátku roku 2024. Rozvíjí se také léčebné možnosti, mezi které patří stále častější využívání biologické terapie pomocí monoklonálních protilátek

a tzv. malých molekul. Pokroky jsou zaznamenávány také v možnostech genové terapie. S postupujícím poznáním však přichází i nové výzvy týkající se diagnostických, terapeutických i etických aspektů, se kterými se budeme muset v budoucnosti vyrovnat. Největší limitací širšího používání nových léčivých přístupů je kromě jejich ceny také fakt, že je zatím k dispozici jen velmi málo randomizovaných placebem kontrolovaných studií. V budoucnosti se snad dočkáme prospektivních klinických studií na ideálně co největším počtu pacientů s konkrétní diagnózou tak, aby mohla být pro jednotlivá vzácná onemocnění připravena jasná doporučení a postupy stran jejich diagnostiky i léčby.

PROHLÁŠENÍ AUTORŮ: Prohlášení o původnosti: Publikace byla zpracována s využitím uvedené literatury a nebyla publikována ani zaslána k recenznímu řízení do jiného média. **Střet zájmů:** Žádný. **Financování:** Ne. **Poděkování:** Ne. **Registrace v databázích:** N/A. **Projednání etickou komisí:** N/A.

LITERATURA

- Abolhassani H, Azizi G, Sharifi L, et al. Global systematic review of primary immunodeficiency registries. *Expert Rev Clin Immunol*. 2020;167:717-732.
- Quinn J, Modell V, Orange JS, et al. Growth in diagnosis and treatment of primary immunodeficiency within the global Jeffrey Modell Centers Network. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2022;181:19.
- von Hardenberg S, Klefenz I, Steinemann D, et al. Current genetic diagnostics in inborn errors of immunity. *Front Pediatr*. 2024;12:1279112.
- Dvorak CC, Haddad E, Heimall J, et al. The diagnosis of severe combined immunodeficiency SCID: The Primary Immune Deficiency Treatment Consortium PIDTC) 2022 Definitions. *J Allergy Clin Immunol*. 2023;1512:539-546.
- Bousfiha A, Moundir A, Tangye SG, et al. The 2022 Update of IUIS Phenotypical Classification for Human Inborn Errors of Immunity. *J Clin Immunol*. 2022;427:1508-1520.
- Wekell P, Hertting O, Holmgren D, et al. Fifteen-minute consultation: Recognising primary immune deficiencies in children. *Arch Dis Child Educ Pract Ed* 2019;1045:235-243.
- Chinn IK, Shearer WT: Severe Combined Immunodeficiency Disorders. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2015;354:671-694.
- Gatti RA, Meuwissen HJ, Allen HD, et al. Immunological reconstitution of sex-linked lymphopenic immunological deficiency. *Lancet*. 1968;27583:1366-1369.
- Chan A, Scalchunes C, Boyle M, et al. Early vs. delayed diagnosis of severe combined immunodeficiency: a family perspective survey. *Clin Immunol*. 2011; 1381:3-8.
- Currier R, Puck JM. SCID newborn screening: What we've learned. *J Allergy Clin Immunol* 2021;1472:417-426.
- Lindegren ML, Kobrynski L, Rasmussen SA, et al. Applying public health strategies to primary immunodeficiency diseases: a potential approach to genetic disorders. *MMWR Recomm Rep*. 2004;53RR-1:1-29.
- Wilson JM, Jungner YG. Principles and practice of mass screening for disease. *Bol Oficina Sanit Panam*. 1968;654:281-393.
- Buckley RH, Schiff RI, Schiff SE, et al. Human severe combined immunodeficiency: genetic, phenotypic, and functional diversity in one hundred eight infants. *J Pediatr*. 1997;1303:378-387.
- Puck JM. Laboratory technology for population-based screening for severe combined immunodeficiency in neonates: the winner is T-cell receptor excision circles. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;1293:607-616.
- van Zelm MC, Szczepanski T, van der Burg M, et al. Replication history of B lymphocytes reveals homeostatic proliferation and extensive antigen-induced B cell expansion. *J Exp Med*. 2007;2043:645-655.
- Al-Harhi L, Marchetti L, Steffens CM, et al. Detection of T cell receptor circles TRECs as biomarkers for de novo T cell synthesis using a quantitative polymerase chain reaction-enzyme linked immunosorbent assay PCR-ELISA). *J Immunol Methods*. 2000;2371:2:187-197.
- Dion ML, Sékaly RP, Cheynier R. Estimating thymic function through quantification of T-cell receptor excision circles. *Methods Mol Biol*. 2007; 380:197-213.
- Guthrie R. The origin of newborn screening. *Screening*. 1992;1:5-15.
- Věstník Ministerstva zdravotnictví ČR 2023; částka 17:3-15.
- Bartůňková J, Bloomfield M, Havlíšová M, et al. News in immunology. *Vnitř Lek*. 2023;692:133-137.
- Chan AY, Torgerson TR. Primary immune regulatory disorders: a growing universe of immune dysregulation. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2020; 206:582-590.
- Makkoukdji N, Pundit V, Wyke M, et al. Targeted treatments for immune dysregulation in inborn errors of immunity. *Explor Immunol*. 2024;4:218-37.
- Fevang B. Treatment of inflammatory complications in common variable immunodeficiency CVID: current concepts and future perspectives. *Expert Rev Clin Immunol*. 2023;196:627-638.
- Hadjadj J, Frémond ML, Neven B. Emerging Place of JAK Inhibitors in the Treatment of Inborn Errors of Immunity. *Front Immunol*. 2021;12:717388.
- Fischer M, Olbrich P, Hadjadj J, et al. JAK inhibitor treatment for inborn errors of JAK/STAT signaling: An ESID/EBMT-IEWP retrospective study. *J Allergy Clin Immunol*. 2024;1531:275-286.e218.
- Zhang Q, Zhao YZ, Ma HH, et al. A study of ruxolitinib response-based stratified treatment for pediatric hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood*. 2022;13924:3493-3504.
- Bindl L, Torgerson T, Perroni L, et al. Successful use of the new immune-suppressor sirolimus in IPEX immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome). *J Pediatr*. 2005;1472:256-259.
- Paskiewicz A, Niu J, Chang C. Autoimmune lymphoproliferative syndrome: A disorder of immune dysregulation. *Autoimmun Rev*. 2023;2211:103442.
- Ali A, Qureshi A, Shigri AF, et al. Leniolisib: a drug providing a promising avenue for the treatment of activated phosphoinositide 3-kinase δ syndrome APDS). *Ann Med Surg (Lond)* 2024;867:3812-3813.
- Morris EC. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in adults with primary immunodeficiency. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2020;20201:649-660.
- Lankester AC, Albert MH, Booth C, et al. EBMT/ESID inborn errors working party guidelines for hematopoietic stem cell transplantation for inborn errors of immunity. *Bone Marrow Transplant*. 2021;569:2052-2062.
- Snowden JA, Sánchez-Ortega I, Corbacioglu S, et al. Indications for haematopoietic cell transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe, 2022. *Bone Marrow Transplant*. 2022;578:1217-1239.
- Slatter M, Lum SH. Personalized hematopoietic stem cell transplantation for inborn errors of immunity. *Front Immunol*. 2023;14:1162605.
- Nishimura A, Miyamoto S, Imai K, et al. Conditioning regimens for inborn errors of immunity: current perspectives and future strategies. *Int J Hematol*. 2022;1161:7-15.
- Ott de Bruin LM, Lankester AC, Staal FJT. Advances in gene therapy for inborn errors of immunity. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2023;236:467-477.
- High KA, Roncarolo MG. Gene Therapy. *N Engl J Med*. 2019;3815:455-464.
- Fischer A. Gene therapy for inborn errors of immunity: past, present and future. *Nat Rev Immunol*. 2023;236:397-408.
- Aiuti A, Roncarolo MG, Naldini L. Gene therapy for ADA-SCID, the first marketing approval of an. *EMBO Mol Med*. 2017;96:737-740.
- Kohn DB, Booth C, Shaw KL, et al. Autologous Ex Vivo Lentiviral Gene Therapy for Adenosine Deaminase Deficiency. *N Engl J Med*. 2021;38421:2002-2013.
- Kohn DB, Chen YY, Spencer MJ. Successes and challenges in clinical gene therapy. *Gene Ther*. 2023;3010-11:738-746.