



**UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ
ȘI FARMACIE „NICOLAE TESTEMIȚANU”**

**BIOMARCHERII DE LABORATOR
AI IMUNODEFICIENȚELOR PRIMARE**
(Recomandare metodică)

Chișinău, 2022



**UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ
ȘI FARMACIE „NICOLAE TESTEMIȚANU”**

**BIOMARCHERII DE LABORATOR
AI IMUNODEFICIENȚELOR PRIMARE**
(Recomandare metodică)

Chișinău
Centrul Editorial-Poligrafic *Medicina*
2022

CZU 616-092-074

B 53

Aprobat de Consiliul de Management al Calității
al USMF „Nicolae Testemițanu”; (proces-verbal nr. 07 din 30 iunie 2022)

Autori:

Andrieș Lucia – IP USMF „Nicolae Testemițanu”, șef Laborator de alergologie și imunologie clinică, dr. hab. șt. med., prof. univ., cerc. șt. principal

Revenco Ninel – IP USMF „Nicolae Testemițanu”, șef Departament Pediatrie, dr. hab. șt. med., prof. univ., cerc. șt. coordonator

Barba Doina – IP USMF „Nicolae Testemițanu”, dr. șt. med., conf. univ., cerc. șt. superior

Leurdă Veronica – IP USMF „Nicolae Testemițanu”, medic rezident, Catedra medicina de laborator, cerc. șt.

Dolapciu Elena – IP USMF „Nicolae Testemițanu”, asist. univ. Departament Pediatrie, dr. șt. med., cerc. șt.

Barbova Natalia – IMSP Institutul Mamei și Copilului, șef Laborator de profilaxie a patologiilor ereditare, dr. șt. med., conf. univ., cerc. șt. superior

Vișnevschi Anatolie – IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Șef Catedra medicina de laborator, dr. hab. șt. med., prof. univ., cerc. șt. superior

Țurcanu Tamara – IP USMF „Nicolae Testemițanu”, conf. univ. Departament Pediatrie, dr. șt. med., cerc. șt. superior

Iarmoliuc Olga – SR Hâncești, șef Laborator clinico-diagnostic, doctorand

Referenți:

Ghinda Sergiu – dr. hab. șt. med., prof. cercetător, șef Laborator alergologie și imunologie IMSP Institutul de Ftiziopneumologie ”Chiril Dragoniuc”

Țurcanu Adela – IP USMF „Nicolae Testemițanu”, Departamentul Medicina Internă, Disciplina gastroenterologie, dr. hab. șt. med., conf. univ.,

Redactor: *Valentina Sîrbu*

Recomandarea metodică ”Biomarkerii de laborator ai imunodeficiențelor primare” reflectă în detaliu reperele de suport ale diagnosticului imunodeficiențelor primare. Autorii punctează tranșant markerii biologici ai IDP cu interpretarea lor clinică și aprecierea informațiilor lor diagnostice în diverse nosologii. Noile elaborări metodice se referă succint și la indicile de laborator clinic pentru imunodeficiențele primare recent raportate pe mapamond și deci devin un instrument util pentru rezidenți, medicii ce audiază cursurile de instruire continuă, dar și pentru specialiștii din teren - pediatrii, imunologilor, medicilor de familie, interniştilor etc.

Recomandarea metodică ”Biomarkerii de laborator ai imunodeficiențelor primare” au fost pregătite în baza studiilor realizate în cadrul proiectului „*Elaborarea metodelor inedite de diagnostic precoce al maladiilor imunodeficiare în baza studiului clinico-imunologic și molecular-genetic al pacienților suspecți de imunodeficiențe primare*”.

DESCRIEREA CIP A CAMEREI NAȚIONALE A CĂRȚII DIN REPUBLICA MOLDOVA

Biomarkerii de laborator ai imunodeficiențelor primare: (Recomandare metodică) / Andrieș Lucia, Revenco Ninel, Barba Doina [et al.]; Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. – Chișinău: CEP *Medicina*, 2022. – 58 p.: fig., tab.

Aut. indicați pe vs. f. de tit. – Bibliogr.: p. 52-56 (56 tit.). – 50 ex.

ISBN 978-9975-82-296-1.

616-092-074

B 53

© CEP *Medicina*, 2022

© L. Andrieș, N. Revenco, D. Barba ș.a., 2022

CUPRINS

ABREVIERI	4
INTRODUCERE	7
1. PERTURBĂRILE HEMATOLOGICE "MASCATE" ÎN IMUNODEFICIENȚELE PRIMARE	11
2. CARACTERISTICA GENERALĂ A IMUNODEFICIENȚE- LOR PRIMARE	18
3. METODE ȘI MANOPERE DE TESTARE IMUNOLOGICĂ ÎN DIAGNOSTICUL IMUNODEFICIENȚELOR PRIMARE	23
4. TESTAREA GENETICĂ ÎN DIAGNOSTICUL IMUNODEFI- CIENȚELOR PRIMARE	32
5. BIOMARCHERII DE LABORATOR AI IMUNODEFICIEN- ȚELOR PRIMARE	41
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ	52

ABREVIERI

- Ac** – Anticorp (*Antibody*)
- AcMo** – Anticorp monoclonal (*Monoclonal antibody*)
- ADA** – Adenzin deaminaza (*Adenosine deaminase*)
- AD** – Autosomal dominant (*Autosomal-dominant*)
- ADN** – Acid dezoxiribonucleic (*Deoxyribonucleic acid*)
- AFP** – Alfa-fetoproteină (*Alpha-fetoprotein*)
- Ag** – Antigen (*Antigen*)
- AHA** – Anemie hemolitică autoimună (*Autoimmune hemolytic anemia*)
- AIN** – Neutropenie autoimună (*Autoimmune neutropenia*)
- AIRE** – Regulator autoimun (*Autoimmune regulator*)
- ALPS** – Sindrom limfoproliferativ autoimun (*Autoimmune lymphoproliferative syndrome*)
- APC** – Celulă prezentatoare de antigen (*Antigen-Presenting Cell*)
- APECED** – Sindromul poliglandular autoimun de tip I (*Autoimmune Polyendocrinopathy, Candidiasis and Ectodermal Dystrophy*)
- APS** – Sindromul antifosfolipidic (*Antiphospholipid syndrome*)
- AR** – Autosomal Recesiv (*Autosomal recessive*)
- ARA** – Agamaglobulinemie Autosomal Recesivă (*Autosomal Recessive Agamaglobulinemia*)
- ARN** – Acid ribonucleic (*Ribonucleic acid*)
- A-T** – Ataxia-telangiectazia (*Ataxia-telangiectasia*)
- BAFF-R** – factorul de activare a celulelor B aparținând familiei TNF (*B-cell Activating factor Receptor*)
- BCR** – Receptorul celulei B (*B cell receptor*)
- BLIMP-1** – Proteina 1 de maturare indusă de limfocite B (*B-lymphocyte induced maturation protein-1*)
- BLM** – Proteina sindromului Bloom (*Bloom syndrome protein*)
- BLNK** – Proteina B linker (*B-cell linker protein*)
- Btk** – tirozinkinaza Bruton (*Bruton's tyrosine kinase*)
- CD** – Clasa de diferențiere (*Cluster of differentiation*)
- CGD** – Maladia granulomatoasă cronică (*Chronic granulomatous disease*)
- CHARGE** – Coloboma, cardiopatii congenitale, atrezie coanală, retard mintal, hipoplazia genitală, malformații ale urechii (*Coloboma, Heart defects, Choanae Atresia, Retarded growth and development, Genital abnormalities, and Ear anomalies*)

CHH – Hipoplazia cartilajului și părului (*Cartilage hair hypoplasia*)

CHS – Sindromul Chediak-Higashi (*Chediak-Higashi syndrome*)

CIITA – Transactivatorul de clasa II a complexului major de histocompatibilitate (*Clasa II, Complex Major de Histocompatibilitate Trans Activator*)

CINCA – Sindromul cronic neurologic cutanat și articular infantil (*Chronic, infantile, neurologic, cutaneous and articular syndrome*)

CMC – Candidoza cronică mucocutanată (*Candidiasis cronic mucocutaneus*)

CMV – Citomegalovirus (*Cytomegalovirus*)

CRP – Proteina C-reactivă (*C-reactive protein*)

CTL – Limfocite T citotoxice (*cytotoxic T cell*)

CTLA-4 – Limfocite T citotoxice asociate cu proteina 4 (*cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4*)

CVID – Imunodeficiența comună variabilă (*Common variable immune deficiency*)

DGS – Sindromul DiGeorge (*DiGeorge syndrome*)

DKC – Diskeratoza congenitală (dyskeratosis congenital)

EBV – Virusul Epstein-Barr (*Epstein-Barr virus*)

FHL1-5 – Limfohistiocitoza hemofagocitară familială 1-5 (familial hemophagocytic lymphohistiocytosis 1-5)

HIGM – Sindromul hiperimunoglobulinemiei M de tip 1 și 3 (*type 1 and 3 M hyperimmunoglobulinemia syndrome*)

HIES – Sindromul hiperimunoglobulinemiei E (*hyperimmunoglobulinemia syndrome E*)

HIV – virusul imunodeficienței umane (*Human Immunodeficiency Virus*)

IFN – interferon (*Interferon*)

ICOS – Costimulatorul inductibil al limfocitelor T (Inducible T-cell costimulator).

IL – Iinterleuckine (*Interleukins*)

ITK – Deficiența de kinază T-celulară (*IL-2-inducible T-cell kinase deficiency*)

LB – Limfocit B (*B-lymphocytes*)

LT – Limfocit T (*T-lymphocytes*)

LRBA – Deficiența proteinei ancoră asemănătoare bejului sensibilă la LP (lipopolysaccharide-responsive beige-like anchor deficiency)

LRRC – Proteine care conțin repetiții bogate în leucină (*Leucine-Rich Repeat Containing*)

NK – Celulă spontan ucigașă (*Natural Killer*)

NBS1 – gena sindromului Nijmegen (*Nijmegen breakage syndrome gene*)

MHC – complexul major de histocompatibilitate (*Major Histocompatibility Complex*)

PNH – hemoglobinuria paroxizmală nocturnă (*paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*)
RCC – citopenia refractară a copilăriei (*refractory cytopenia of childhood*)
RD – disgenezie reticulară (*reticular dysgenesis*)
SI – Sistemul imun (*The immune system*)
SCN1 – neutropenia congenitală severă 1 (*severe congenital neutropenia 1*)
SDS – sindromul Shwachman-Diamond (*Shwachman-Diamond syndrome*)
TCR – Receptorul celulei T (*T cell receptor*)
TI – Trombocitopenie imună
WAS – sindromul Wiskott-Aldrich (*Wiskott-Aldrich syndrome*)
WASP – proteina sindromului Wiskott-Aldrich (*Wiskott-Aldrich syndrome protein*)
WHIM – Papiloame, hipogamaglobulinemie, imunodeficiență, mielokatexie;
WIP, WAS (interacting protein) (warts, hypogammaglobulinemia, infections, myelokathexis)
USG – ultrasonografie

INTRODUCERE

Diagnosticul imunodeficiențelor primare (IDP) în majoritatea cazurilor este dificil și adesea este stabilit numai după mai multe luni sau chiar ani. Acest inconvenient este datorat în primul rând faptului că simptomele apărute sunt, de obicei, nespecifice. Infecțiile grave repetate pot sugera suspiciune. Cu toate acestea, multe dintre deficiențele imune sunt atât de rare, încât medicii nu conștientizează posibila lor prezență la bolnav.

Diagnosticul IDP se bazează pe anamneza detaliată corelată cu investigații imunologice și de biologie moleculară. Astfel, când există suspiciunea clinică de IDP (pe baza simptomatologiei, antecedentelor personale și heredocolaterale), este necesar să se continue investigațiile cu evaluarea parametrilor imunității specifice și nespecifice. Este necesar să se apeleze la o gamă variată de investigații: hemoleucograma, determinarea cantitativă a imunoglobulinelor în serul sangvin, răspunsul umoral prin sinteza anticorpilor față de antigenele specifice după vaccinare, testele de hipersensibilitate tardivă, evaluarea sistemului complement, testul cu NBT (nitroblue tetrazolium), dar și tehnici mai complexe de imunofenotipare (flowcitometrie) pentru evidențierea populațiilor și subpopulațiilor limfocitare, screening-ul sugarilor – TREC și KREC, aprecierea genei alterate prin cercetări molecular-genetice, etc.

IDP se caracterizează printr-un tablou polimorf, atât ca manifestări, cât și ca debut. Debutul bolii poate avea loc începând cu primele luni de viață (ex. imunodeficiența combinată severă, agamaglobulinemia X-lincată), cu apariția lor ulterioară la pubertate sau la vârsta de adult tânăr (ex. imunodeficiența comună variabilă etc.). Chiar dacă manifestările clinice sunt variate (bolile autoimune, alergice, maligne etc.), tabloul clinic este dominat de infecțiile respiratorii și gastrointestinale recurente și/sau cu evoluție severă.

În cazul oricărei infecții recurente sau persistente ce nu răspunde conform la antibioterapia adecvată trebuie luată în considerație posibilitatea unei imunodeficiențe primare sau secundare. Diagnosticul corect este esențial. Din păcate, se estimează că 70-80% din pacienți rămân nediagnosticsați, deoarece puțini medici de familie și pediatri recunosc această afecțiune. În cazul adulților situația devine și mai complicată, de

cele mai multe ori ei fiind diagnosticați tardiv în momentul apariției unor complicații severe. Astfel că toți membrii unei familii în care există un caz de IDP trebuie investigați în acest sens.

Existența semnelor clinice de suspiciune pentru o IDP (≥ 4 otite/an; ≥ 2 sinuzite/an; ≥ 2 pneumonii/an; ≥ 2 infecții severe, inclusiv septicemii; ≥ 2 luni de antibioterapie orală cu efect minim; antibioterapie intravenoasă; infecții cutanate sau abcese recurente de organ; afte bucale; falimentul creșterii; istoric familial pozitiv) trebuie să conducă la investigații detaliate (fig.1).



Figura 1. Frecvența semnelor de avertizare în imunodeficiențele primare

Confirmarea diagnosticului de IDP se va face numai în temeiul explorărilor imunologice (imunofenotiparea limfocitară; teste de proliferare; determinarea concentrațiilor serice de imunoglobuline – IgM, IgG, IgA, IgE-totală, a anticorpilor specifici față de un anumit agent patogen; de complement C3, C4, CH50; analiza subclaselor de IgG, explorarea funcției fagocitare, apoi și teste citogenetice și de biologie moleculară (fig.2).

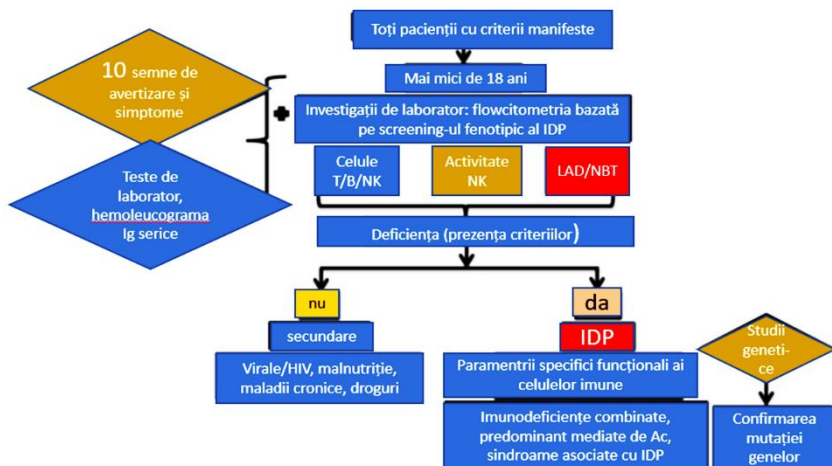


Figura 2. Manifestările clinico-imunologice sugestive pentru imunodeficiențele primare și secundare

Se consideră *explorări paraclinice orientative (de screening)* hemoleucograma, determinarea cantitativă a imunoglobulinelor serice sangvine (IgG, IgA, IgM, IgE-totală), testarea anticorpilor funcționali anti-antigenele specifice după vaccinare, testarea funcției anticorpilor naturali (izohemaglutininele A, B, hemaglutininele IgM, ASLO), testele de hipersensibilitate tardivă, evaluarea sistemului de complement, testul de fagocitoză și cel cu NBT.

Explorările paraclinice adiționale includ flaucitometria/imunofenotiparea, teste de citotoxicitate, de proliferare, studiul funcției fagocitare, alte teste.

Fiecare pacient cu IDP se prezintă cu un tablou clinic diferit, iată de ce biomarkerii de laborator devin de importanță majoră pentru diagnosticul patologiei, prognosticul evolutiv și monitoring-ul de eficacitate a tratamentului administrat.

În ultimii ani s-au produs evoluții de esență în imunologia fundamentală și, în special în înțelegerea mecanismelor molecular-genetice și patogenice de dezvoltare a IDP. Aceste progrese s-au soldat cu descoperirea metodei de secvențiere de generație nouă, în consecință fiind descrise multiple forme inedite de IDP; a fost elaborat un nou clasament al acestora, precum și o serie de metode de terapie target.

Prin utilizarea secvențierii de noua generație în ultimii ani au fost identificate nu doar multiple gene noi, a căror mutații pot induce dezvoltarea IDP, dar s-a putut constata cum că mutația de pe anumite fragmente ale uneia și aceleași gene poate să se manifeste atât prin minorizarea, cât și prin accentuarea funcției cu formarea diferitor maladii.

La orice etapă de diferențiere a celulelor imunocompetente sau de afișare a răspunsului imun, în rezultatul defectelor genetice sau sub acțiunea unor factori alteranți pot să se dezvolte diverse dereglări. Actualmente noțiunea de „imunodeficiență primară” include defectele ce conduc la dezvoltarea atât a insuficienței cantitative și/sau funcționale, cât și la activarea necontrolată a proliferării celulelor imunocompetente și apariția maladiilor autoimune, autoinflamatorii și alergice.

Cele mai importante evenimente care au oferit șansa de vindecare completă pentru IDP au fost cele ce țin de elaborarea și perfectarea metodei de transplant medular sau celule hematopoietice stem.

1. PERTURBĂRILE HEMATOLOGICE "MASCATE" DIN IMUNODEFICIENȚELE PRIMARE

Manifestările hematologice asociate cu imunodeficiențele primare sunt deosebit de relevante întrucât sunt comune în practica clinică, dar în multe cazuri nu sunt invocate în compendii printre semnele de avertizare privind diagnosticul IDP la copii și adulți, ceea ce implică riscuri de diagnostic imunologic tardiv.

În imunodeficiențele primare perturbările hematologice se pot afișa ca și manifestare a defectului genetic principal, fiind complicații ale procesului infecțios, citopenii autoimune sau ale terapiei administrate (fig. 3).

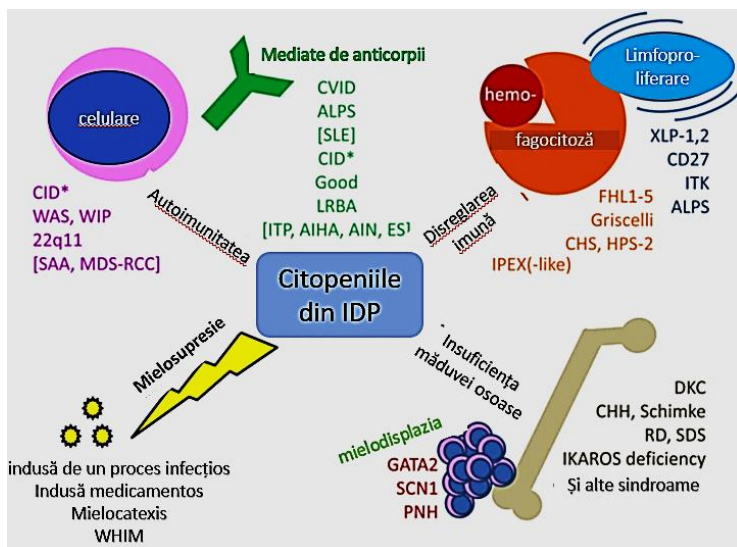


Figura 3. Modificările hematologice posibile în imunodeficiențele primare

Notă: AIHA – anemia hemolitică autoimună; AIN – neutropenia autoimună; CHH – hipoplazia cartilajului și părului; CHS – sindromul Chediak-Higashi; DKC – diskeratoza congenitală; FHL1-5 – limfohistiocitoza hemo fagocitară familială 1-5; HPS-2 – sindromul Hermansky-Pudlak 2; ITK – deficiența de kinază T-celulară; LRBA – mutația genei ancoră asemănătoare bejului; PNH – hemoglobinuria paroxizmală nocturnă; RCC – citopenia refractară; RD – disgenезie reticulară; SCN1 – neutropenia congenitală severă 1; SDS – sindromul Shwachman-Diamond; WHIM – Papiloame, hipogamaglobulinemie, imunodeficiență, mielokatexie; WIP, WAS – proteine de interacțiune; XLP-1,2 – boala limfoproliferativă X-linkată 1,2; CVID – imunodeficiența comună variabilă; ALPS – sindromul autoimun limfoproliferativ, SLE – lupus eritematos sistemic, CID – imunodeficiența combinată, SAA – amiloidul seric A, MDS-RCC – sindroame mielodisplastice și boli mieloproliferative, Schimke – imunodisplazia osoasă Schimke; IKAROS – deficiența factorului de transcripție, GATA2 – factorul de transcripție ce reglează expresia genelor, IPEX – imunodeficiența, poliendocrinopatie, enteropatie X-linkată, ITP – trombocitopenia imună.

Aceste manifestări sunt clasificate în:

- a) citopenii autoimune (anemia, trombocitopenia, neutropenia);
- b) citopenii non-imune ce secundează dereglările de diferențiere/proliferație sau survin prin dismetabolismul celulelor sangvine (neutropenia din cadrul agamaglobulinemiei X-linkate, trombocitopenia din sindromul Wiskott-Aldrich, deficitul de adenzin-deaminază);
- c) sindromul hemofagocitar;
- d) predispoziție majoră a unor tumori maligne.

Defectele genetice prezente în multe forme de IDP sunt cauza dereglărilor de diferențiere și maturizare a celulelor hematopoietice, alterărilor morfologice și funcționale, care pot induce destrucții celulare, modificări de reglare a diferitor serii hematopoietice. Manifestările defectului genetic principal pot varia ca și citopenii sau modificări ale formulei leucocitare. Citopeniile imune (trombocitopenia imună, anemia hemolitică autoimună, mai rar neutropenia) sunt caracteristice pentru 10-29% de pacienți cu CVID, deseori fiind primul simptom clinic al maladiei.

Trombocitopenia în sindromul Wiskott-Aldrich (imunodeficiența combinată asociată cu trombocitopenie și eczemă – WAS), care se depistează precoce, se distinge prin manifestări concomitente: eczema, majorarea concentrației serice sangvine de IgA și scăderea cantitativă a IgM (în majoritatea cazurilor), este prezentă anamneza familială de maladie X-linkată, procese infecțioase. În cazul mutației pe gena WAS pot apărea și alte două maladii – trombocitopenia X-linkată și neutropenia X-linkată. Defectul genei WAS poate induce și *anemia posthemoragică*.

Pancitopenia poate semnifica și limfohistiocitoza hemofagocitară familială, alte sindroame disreglatorii imune și dischineziei reticulare. Ea deseori se asociază cu imunodeficiența severă combinată, care se manifestă prin deficitul combinat al funcției limfocitelor T și B, iar clinic – prin infecții recurente severe ale tractului respirator, afectări ale pielii induse de fungi cu germeni oportuniști (*Pneumocystis jirovecii*, *Candida albicans*), prin diaree persistentă, retard de dezvoltare fizică, hipoplazia țesutului limfoid, complicații BCG diseminate, regionale sau generalizate. Testarea de laborator denota limfopenie, agamaglobulinemie (frecvent), absența anticorpilor postvaccinali, diminuarea activității

proliferative limfocitare, manifestări hematologice (pancitopenie, anemie, neutropenie, trombocitopenie).

Limfopenia este o manifestare persistentă în imunodeficiențele combinate severe, iar *neutropenia* – a procesului congenital genetic determinată din sindromul hiperimmunoglobulinemiei M de tip 1 și 3 (HIGM).

Modificări tipice de neutropenie și limfopenie se constată în sindromul WHIM. În măduva osoasă este caracteristică prezența unui număr major de neutrofile mature, cu anomalii morfologice caracteristice celulelor în stare de apoptoză: vacuolizarea citoplasmei, hipersegmentarea nucleului, hipercondensarea cromatinei.

Eozinofilia este prezentă în sindromul Wiskott-Aldrich, Omenn și în hiperimmunoglobulinemia E (HIES).

Ca exprimare a complicațiilor proceselor infecțioase au fost constatate *anemia inflamației cronice* pe fondalul infecțiilor cronice, *aplazia parțială a celulelor roșii* indusă de parvovirusul B-19, *trombocitopenia* – în infecția citomegalovirală activă, *pancitopenia* – în hemofagocitoza secundară pe fondalul infecțiilor virale și bacteriene, iar *leucocitoza* – în maladiile infecțioase. În boala granulomatoasă cronică leucocitoza și neutrofilia deseori preced procesele infecțioase vizibile (de ex., abcesele ficatului identificate la USG).

Perturbanțe hematologice au fost constatate și în complicațiile terapiei: *trombocitopenia* – în cazul tratamentelor cu ganciclovir al infecției citomegalovirale, *leucocitoza și limfopenia* – la utilizarea glucocorticoizelor, *limfopenia și leucopenia* – pe fundalul imunodepresantelor, iar *citopenia și modificarea formulei leucocitare* – după tratamentele cu preparate anticonvulsive.

Citopeniile autoimune sunt complicații frecvente ale multor forme de IDP. Conform consensului de experți în domeniul imunologiei și hematologiei, neutropenia recurentă, neutropenia, trombocitopenia și limfopenia persistentă, limfocitopenia la sugari, insuficiența măduvei osoase (aplazia, mielodisplazia și mielokatexis) ar trebui să provoace suspiciune de IDP la copii. Cauzele dezvoltării citopeniilor autoimune sunt dereglarea toleranței centrale (APS – sindromul antifosfolipidic) și celei periferice (cauza mării majorități de complicații autoimune, inclusiv hematologice în IDP).

În asigurarea proceselor ce țin de toleranța centrală un rol important îi revine factorului transcripțional AIRE (regulatorul autoimun), codificat de gena eponimă. Acest factor asigură expresia pe celulele medulare timice a antigenelor specifice tisulare și astfel controlează mecanismul ce previne formarea clonelor autoreactive ale celulelor T. La dereglarea toleranței centrale în timus are loc formarea celulelor autoreactive care ajung în circuitul periferic (fig.4).

Toleranța centrală a celulelor B este determinată de eliminarea clonelor autoreactive în măduva osoasă. Limfocitele B imature, care exprimă receptori celulari B cu mare afinitate pentru antigenele proprii stopează diferențierea acestora.

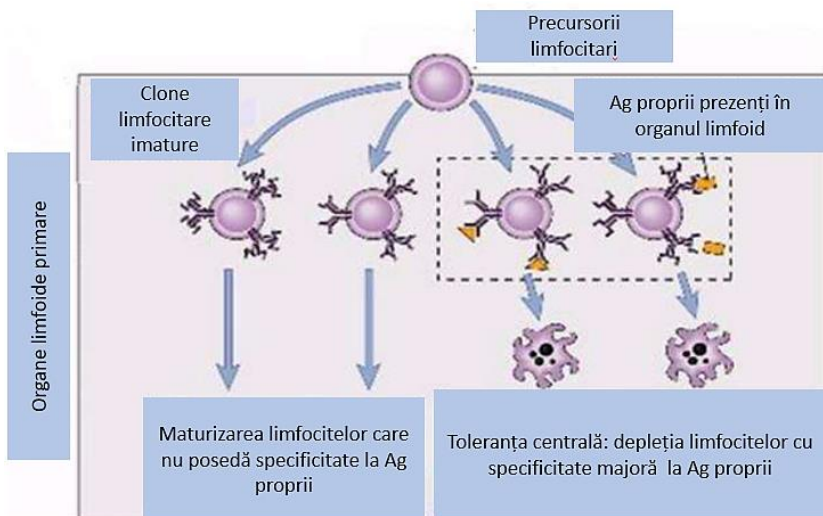


Figura 4. Constituirea toleranței centrale în perioada maturizării limfocitelor

Toleranța periferică este asigurată de anergie în absența semnalelor co-stimulatoare, limitarea răspunsului imun continuu prin moartea celulară indusă de activare și exprimarea antagoniștilor supresori ai moleculelor costimulatoare în timpul activării celulare prelungite (fig. 5).

În imunodeficiențele primare prin dezechilibrul diferențierii celulare și eliberarea de citokine se produce o dereglare imună ce favorizează dezvoltarea proceselor autoimune.

Toleranța periferică (constituită după ce limfocitele părăsesc organele limfoide centrale)

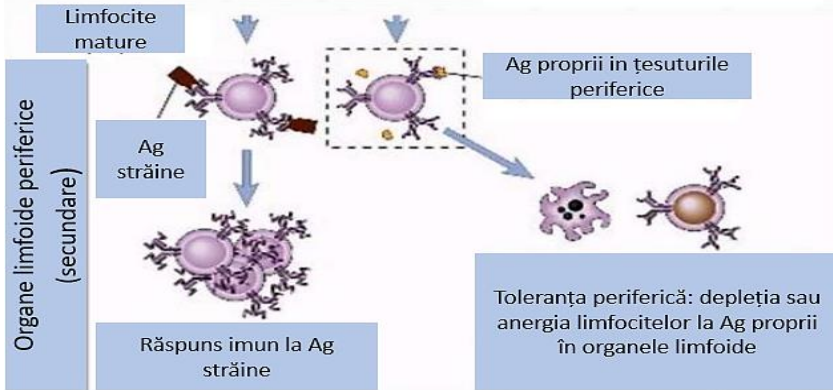


Figura 5. Constituirea toleranței periferice

Persistența îndelungată a antigenelor periclitează procesul ciclic de limitare a răspunsului imun, iar drept consecință se formează procese autoimune și autoinflamatorii (tab.1).

Tabelul 1

Imunodeficiențele primare ce implică șanse majore de dezvoltare a citopeniilor imune

Maladia	Anemia hemolitică	Trombocitopenia	Neutropenia
Sindromul autoimun limfoproliferativ	+++	+++	++
Sindromul Wiskott-Aldrich	++	+++	++
Sindromul disreglării imune, poliendocrinopatiei, enteropatiei	++	++	++
Imunodeficiența comună variabilă	++	++	++
Deficiența PI3K	++	++	++
Sindromul Nijmegen	++	++	++
Sindroame de hiperimunoglobulinemie M	++	++	+
Sindromul DiGeorge	++	++	+

Citopeniile autoimune pot să se manifeste atât ca simptom singular, cât și în combinaire cu trombocitopenie și citopenie (sindromul Fisher-Evans).

Anemia hemolitică autoimună și trombocitopenia imună au fost raportate ca fiind prezente la 23 și, respectiv 51% dintre pacienții cu sindrom limfoproliferativ autoimun (ALPS) și pot chiar să marcheze debutul bolii. Patologia se caracterizează prin defect în sistemul de apoptoză, limfoproliferare cronică benignă non-infecțioasă (hepato-, splenomegalie, limfadenopatie), hipergamaglobulinemie, dereglări autoimune (trombocitopenie, anemie), fenotipul CD3⁺CD4⁻CD8⁻TCRa/b.

Trombocitopenia este clasică în sindromul Wiskott-Aldrich, cauzat de mutația genei WAS, localizat pe cromozomul X, care se caracterizează prin hemoragie, infecții recurente și dermatite severe. Primele manifestări sunt reprezentate de peteșii și echimoze ale pielii și mucoasei orale, la vârsta de 4-8 luni încep să apară primele infecții, 78% dintre pacienți dezvoltă eczeme cutanate, ale căror gravitate poate fi medie sau severă.

Manifestările autoimune apar la 22% dintre pacienții cu *imunodeficiență variabilă comună* (CVID) și sunt mai frecvente printre bolnavii cu splenomegalie și boală granulomatoasă cronică. În cele din urmă, citopeniile autoimune au fost raportate și la pacienții cu *imunodeficiență combinată*. În special, anemia hemolitică autoimună este foarte frecvent întâlnită la sugarii cu deficit de nucleozidfosforilază.

Predispoziția crescută pentru malignitate este un alt aspect specific al măștilor hematologice asociate cu IDP. La pacienții încadrați de registrul USIDNET (Rețeaua de deficiența imună din SUA) în intervalul 2003-2015 a existat un exces de risc relativ de malignitate de 1,42 ori în comparație cu populația de aceeași vârstă din baza de date a programului de supraveghere, Epidemiologie și Rezultate Finale (SEER). Majoritatea bolilor maligne erau de caracter hematologic, în special de origine limfoidă și legate de tipul celulelor afectate de către IDP. Au fost observate incidente semnificative de limfoame atât la bărbați (de 10 ori), cât și la femeile (de 8,34 ori). Riscul dezvoltării limfoamelor crește esențial cu vârsta pacientului. Mai caracteristice sunt limfoamele non-Hodgkin.

Afecțiunile maligne limfoide sunt întâlnite la toate categoriile de pacienți cu IDP, cu excepția celor cu defecte congenitale ale celulelor stem sau fagocitelor, care se atestă asociate cu risc crescut de afecțiuni maligne mieloide și sindrom mielodisplastic.

Evaluarea imunității celulare T- și B poate facilita diagnosticul IDP. Monitorizarea trebuie să includă subseturi de limfocite pentru a identifica

limfopenia cu celule T sau B și fenotiparea celulelor T pe baza expresiei markerilor de suprafață CD45RA și CD45RO pentru a determina proporția de celule CD4 și CD8 naive și de memorie. Proporția scăzută de celule T naive (CD45RA+) indică un defect în diferențierea celulelor T și a producției timice și favorizează o tulburare de deficiență a celulelor T, cum ar fi în AT, NBS, hipoplazia părului și cartilajului, SCID. Funcția celulelor T poate fi evaluată prin monitorizarea răspunsurilor proliferative la mitogeni (fitohemaglutinina, concanavalina A etc).

Asociația IDP cu malignitatea hematologică este elucidată în *fig.6*.

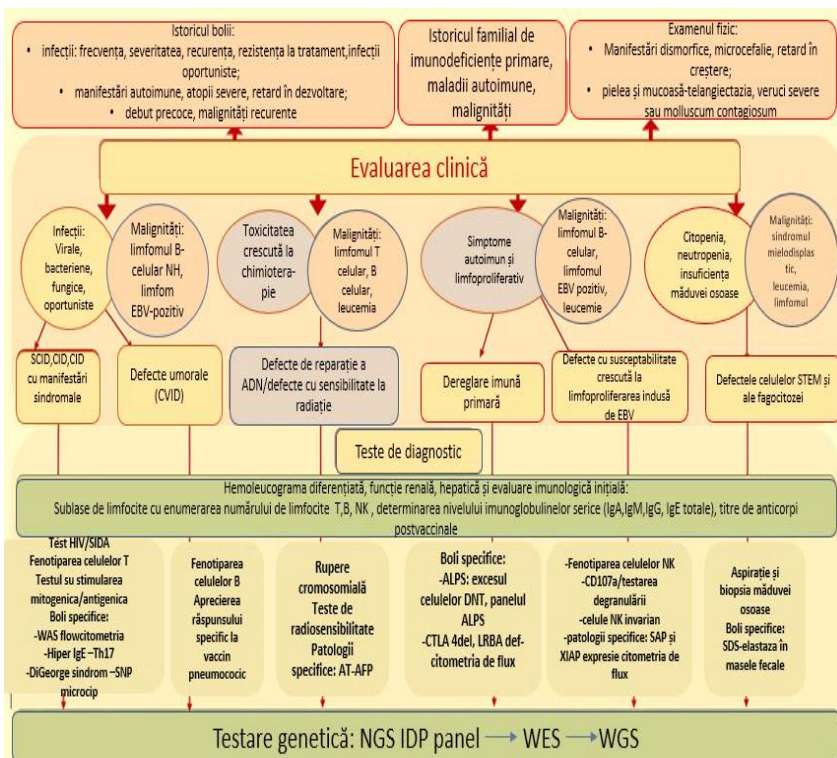


Figura 6. Imunodeficiența primară asociată cu patologii maligne hematologice, abordare diagnostică

Notă: AFP – alfa fetoproteină; ALPS – sindromul autoimun limfoproliferativ; AT – ataxia-telangiectazia; CID – imunodeficiența combinată; CVID – imunodeficiența comună variabilă; DNT – celulele dublu negative; EBV – Virusul Epstein Barr; FTT – statut ponderal scăzut; NGS – secvențierea de generație nouă; NHL – limfom non-Hodgkin; SCID – imunodeficiența severă combinată; SDS – sindromul Schwachman Diamond; WAS – sindromul Wiskott Aldrich; WES – secvența întregului exon; WGS – secvențierea întregului genom.

2. CARACTERISTICA GENERALĂ A IMUNODEFICIENȚELOR PRIMARE

Imunodeficiențele primare (IDP) se referă la categoria de maladii severe, genetic determinate cu dereglarea unuia sau câtorva mecanisme de apărare. Actualmente sunt descrise circa 450 forme de IDP. Majoritatea acestora debutează în perioada infantilă precoce prin tendința majoră de dezvoltare a maladiilor infecțioase. Frecvența de înregistrare a IDP este în medie de 1:10000 persoane .

În majoritatea acestor maladii diagnosticul precoce și terapia adecvată permite menținerea unei stări generale stabile a pacienților. Pentru multe entități de imunodeficiență primară sunt caracteristice forme sub-clinice, primar afișate în adolescență sau chiar la vârsta de adult. Pentru imunodeficiența comună variabilă este caracteristică apariția simptomelor după 20 de ani de viață.

Cunoașterea IDP este necesară nu doar pediatriilor, medicilor de familie, dar și interniştilor, medicilor de multe alte specialități. Vigilența insuficientă a medicilor față de imunodeficiențele primare se soldează cu invaliditate și chiar decesul pacienților cu deficiențe imune, în special induse de complicațiile infecțioase etc.

Funcția principală a sistemului imun (SI) este cea de recunoaștere și eliminare a substanțelor străine de natură antigenică, care pătrund în organism fie din mediul ambiant (microorganismele etc.), fie fiind generate endogen (celulele tumorale etc.).

Funcția sistemului imun este realizată de:

- factorii imunității congenitale (fagocite, peptide antimicrobiene, proteinele sistemului complement, celulele NK etc.);
- componentele imunității adaptive realizate prin răspunsul imun celular și umoral.

Activitatea componentelor sistemului imunitar al organismului și interacțiunea lor este reglată de citokine și contactele intercelulare. Modificarea dinamică a indicilor sistemului imun are loc ca răspuns la diverse stări ale organismului: infecții, traumatisme, tumori etc. În unele cazuri alterările sistemului imunitar devin de ordin cronic, patologic și, astfel de stări sunt apreciate ca *imunodeficitare*. În fiecare din componentele SI și în mecanismele de reglare a lor pot apărea dereglări ce conduc la dezvoltarea deficienței imune.

Manifestarea clinică principală a imunodeficiențelor primare este sensibilitatea majoră la agenții infecțioși.

Există mai multe variante de manifestări ale statusului imun în procesele patologice.

Defectele genetice ale celulelor sistemului imunitar aparente în IDP pot evolua sub formă de:

- Sindroame cu deficit de anticorpi;
- Sindroame cu deficit de limfocite T;
- Imunodeficiențe celulare combinate – T și B;
- Sindroame cu deficit al componentelor complementului;
- Sindroame cu deficit al celulelor NK;
- Sindroame cu defect al fagocitelor;
- Sindroame cu defect al moleculelor de adeziune.

Imunodeficiențele secundare sunt disfuncții ale sistemului imunitar aparente în rezultatul acțiunii patogene a diferitor factori asupra organismului:

➤ *Factori care induc disfuncții imune reversibile* (reversibilitatea în acest caz este relativă și depinde de puterea și durata acțiunii factorului patogen) – înfometarea excesivă sau deficitul componentelor vital necesare din alimentele utilizate; dismetabolii curabile (diabetul zaharat, sindromul Itsenko-Cushing, disfuncția glandelor paratiroide etc.); depresia psihică; boala arsurilor curabile; distressul temporar de orice origine;

➤ *Factori ce induc imunodeficiența ireversibilă* a țesutului limfoid: infecția HIV, alterarea sistemului imunitar prin alte maladii infecțioase, hiperstimularea sistemului imunitar cu superantigene în infecțiile virale, fungice și bacteriene, precum și cu participarea altor mecanisme în hepatite, infecții induse de virionul Epstein-Barr, CMV, rujeola, rujeola, infecțiile stafilococice, tuberculoza, lepra, coccidiomicoza, aspergiloza etc., radiația ionizantă, substanțele chimice cu acțiune limfotoxică, maladii limfoproliferative și tumori maligne.

Maladiile autoimune includ boli autoimune veridice și afecțiuni cu dereglarea supresiei răspunsului imun.

Maladiile alergice includ forme alergice veritabile și reacții pseudoalergice.

Imunodeficiența se manifestă prin scăderea indicilor cantitativi și/sau funcționali ai componentelor principale ale sistemului imunitar, dezordini care deteriorează apărarea organismului de microorganisme patogene cu elevarea morbidității infecțioase. *Imunodeficiența primară* include maladii ereditare condiționate de genele defecte, care controlează răspunsul imun. Acestea sunt maladii diverse după caracterul și intensitatea defectelor imune, manifestărilor clinice și dereglărilor moleculare ce le induc. Tabloul clinic al acestora se specifică de procese infecțioase recidivante și cronice, severe, prioritar ale sistemului bronhopulmonar și organelor ORL, pielii și mucoaselor; pot să se dezvolte limfadenite purulente, abcese, osteomielita, meningita și septicemia. În unele forme există manifestări alergice ca și însemne ale maladiilor autoimune și este posibilă dezvoltarea unor tumori maligne. Diferența imunodeficienței primare și secundare este redată în *tab.2*.

După mecanismul de dezvoltare sunt evidențiate patru grupe principale de IDP:

- prioritar umorale sau IDP celulare B;
- IDP combinate (în toate imunodeficiențele celulare T sunt prezente dereglări ale funcției celulelor B);
- IDP induse de defectele fagocitozei ;
- IDP asigurate de defectele sistemului complement.

Mai frecvent se întâlnesc defectele anticorogenezei (50-60% cazuri); cu o frecvență mai scăzută se înregistrează cele combinate (10-30%), defectele fagocitozei (10-20%) și ale complementului (1-6%).

Tabelul 2

Diferențele de esență între imunodeficiența primară și cea secundară

<i>Criteria de departajare</i>	<i>Imunodeficiența</i>	
	<i>primară</i>	<i>secundară</i>
Geneza	Afecțiune ereditară genetic determinată	Consecința diferitor cauze (chimioterapia tumorilor maligne, radioterapia, traumatisme severe, intervenții chirurgicale, arsuri cu pierderi severe de plasmă, maladii infecțioase și parazitare severe cu evoluție trenantă)

Perioada apariției manifestărilor clinice	De regulă, în perioada precoce de dezvoltare, iar altele în perioada adolescenței sau cea adultă	În contextul maladiilor infecțioase, parazitare, pe fundalul acțiunii factorilor agresivi
Persistența imuno-deficienței	De regulă, pe tot parcursul vieții, dacă nu se intervine cu transplant medular sau cu celule stem	Afecțiunile sunt tranzitorii și dispar după remisiunea bolii de bază
Terapia	Grefă medulară, transplant de celule hematopoietice stem sau supliment constant de factori imuni (imunoglobulina G pentru administrarea i/v pe parcursul vieții etc.)	Nu necesită terapie durabilă

Majoritatea IDP se manifestă în fragedă copilărie, deși este posibil și debutul mai tardiv pentru unele forme de IDP, de ex., insuficiența comună variabilă (CVID).

Cercetările de laborator adecvate permit diferențierea patologiei la nivelul limfocitelor de cea la nivelul mecanismelor non-limfocitare de destrucție și eliminare a antigenelor.

Investigațiile de laborator în cazul suspjecției de imunodeficiență primară vor include cercetări prioritare primare, imunologice și extinse cu confirmarea molecular-genetică a genei alterate (*fig.7*).

Cercetările urmează să fie realizate în următoarea componență:

- Hemoleucograma desfășurată a sângelui;
- Testarea anticorpilor la HIV;
- Testarea imunoglobulinelor serice sangvine de clasa A, M, G și a IgE-totale;
- Testarea izohemaglutininelor;
- Aprecierea activității totale a complementului CH50.

În hemoleucograma pacientului se vor aprecia cantitatea absolută de limfocite și cea de neutrofile, prezența trombocitopeniei, anemiei, a criteriilor de inflamație (leucocitoză persistentă, VSH accelerată).

Ulterior se vor efectua cercetări imunologice și molecular-genetice detaliate.

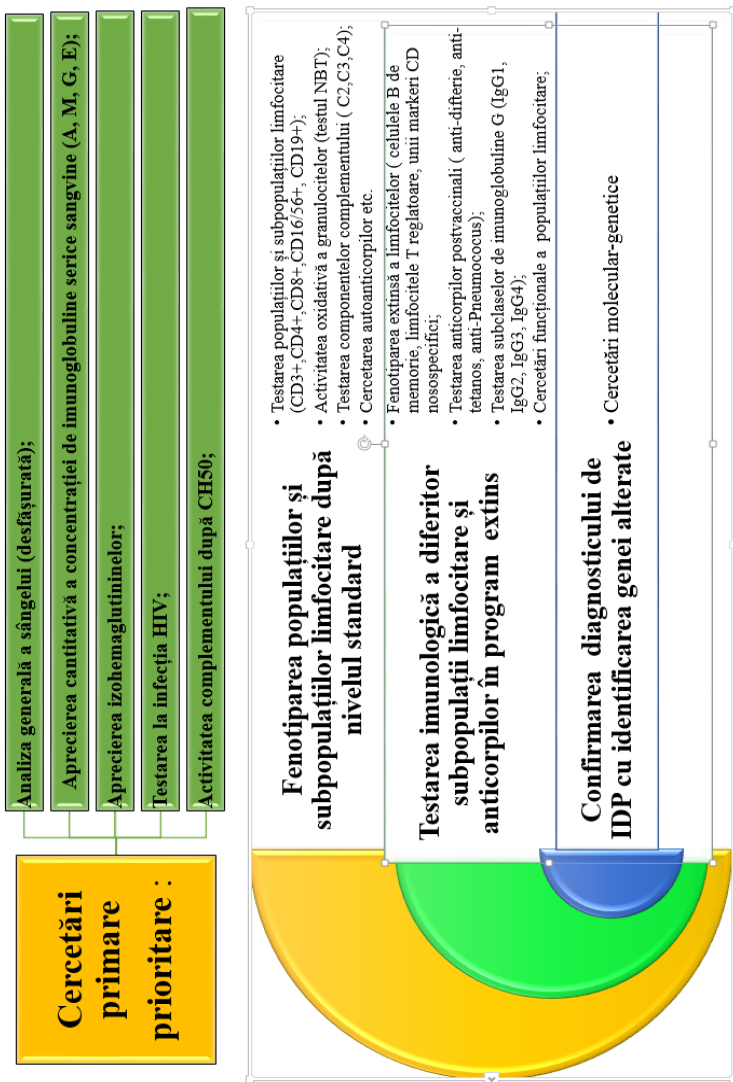


Figura 7. Succesiunea investigațiilor de laborator ordonate pentru pacienții la care se suspectă imunodeficiențe primare

3. METODEDE ȘI MANOPERE DE TESTARE IMUNOLOGICĂ ÎN DIAGNOSTICUL IMUNODEFICIENȚELOR PRIMARE

Cercetările clinice generale includ hemoleucograma și analiza biochimică a sângelui, pe când testele specifice cuprind testarea verigii celulare și umorale a sistemului imunitar, aprecierea funcționalității acestora și alte teste în diagnosticul patologiei asociate. Metodele de laborator pentru detecția maladiilor imunodeficitare includ aprecierea funcționalității verigii imune celulare și umorale, sistemului complement, analiza altor mecanisme efectorii, inclusiv fagocitozei și reacțiilor inflamatorii.

Etaple de investigare imunologică de laborator în suspecția imunodeficienței vor include:

- Hemoleucograma desfășurată (sunt în special importanți indicii cantitativi ai limfocitelor);
- Testarea concentrației serice de imunoglobuline a claselor IgG, IgM, IgA și IgE totală și corelarea lor cu vârsta pacientului;
- Aprecierea răspunsului imun specific la antigenele de control (tetanos, difterie etc.);
- Aprecierea răspunsului imun la vaccinul pneumococic pentru copiii cu vârsta de trei ani și peste;
- Analiza subclaselor IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) în serul sangvin al pacientului;
- Numărătoarea populațiilor și subpopulațiilor de limfocite T și B;
- Aprecierea activității sistemului complement;
- Cuantificarea mobilității monocitelor și granulocitelor cu aprecierea activității enzimatic.

Pentru testarea imunității umorale se utilizează metoda imunoenzimatică (ELISA) sau nefelometria – cuantificarea concentrației sangvine a claselor și subclaselor de imunoglobuline M, G, A, E-totală, G1, G2, G3, G4. Este importantă aprecierea funcționalității celulelor plasmatică în sinteza anticorpilor specifici la antigenele de control, cele polizaharide, la neoantigene, mitogene etc. În unele infecții (Chlamidiază,

Micoplasmoze, Ureaplasma etc.) este necesară testarea serurilor pare pentru aprecierea dinamicii procesului infecțios.

Determinarea cantitativă a populațiilor și subpopulațiilor limfocitare T și B, precum și a celulelor natural killer se realizează prin testarea markerilor limfocitari superficiali: CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺, CD16/CD56⁺ cu utilizarea citometriei de flux și a anticorpilor monoclonali anti-CD. În studiile clinice și științifice este utilizat panelul imunologic standard, care include testarea limfocitelor T-totale (CD3⁺), a limfocitelor T-helper (CD3⁺CD4⁺), limfocitelor citotoxice/supresoare (CD3⁺CD8⁺), a celulelor B (CD19⁺) și celulelor natural killer (CD16⁺/CD56⁺).

Aprecierea altor subpopulații de limfocite presupune utilizarea panelului imunologic extins care include și alți markeri:

- ✓ de activare (CD3⁺HLA-DR⁺; CD3⁺CD25⁺; CD8⁺CD38⁺; CD3⁺CD69⁺);
- ✓ al maturității (CD4⁺CD45RA⁺; CD4⁺CD45RO⁺; CD19⁺CD27⁺ IgD⁺; CD19⁺CD5⁺(B1 și B2); CD3⁺CD127 low CD25⁺ (Treg); CD3⁺αβ și CD3⁺γδ.

Este importantă aprecierea funcționalității limfocitelor T și B la mitogeni și antigeni pentru monitoring-ul procesului imunologic.

Pentru determinarea altor stări imunodeficitare se utilizează și unele teste imunologice specifice:

- ✓ Btk în trombocite (agamaglobulinemia X-lincată);
- ✓ Expresia ligandului CD40 în celulele T activate (sindromul hiper-IgM);
- ✓ Expresia lanțului γ totală (insuficiența combinată severă X-lincată);
- ✓ Aprecierea proteinei WAS în limfocite și monocite (sindromul Wiskott-Aldrich);
- ✓ aprecierea altor molecule celulare superficiale și intracitoplasmate;
- ✓ măsurarea activității enzimelor adenzin-deaminazei (ADA) și purin-nucleotid-fosforilazei (PNF) în serul sangvin;
- ✓ studiul expresiei receptorilor citokinelor.

De valoare importantă este aprecierea activității totale a sistemului complement CH50 și a componentelor C3, C4.

Analiza stării funcționale a fagocitelor se efectuează prin testarea mobilității fagocitelor și reacției de explozie a respirației în neutrofile - testul nitroblue tetrazolium (NBT).

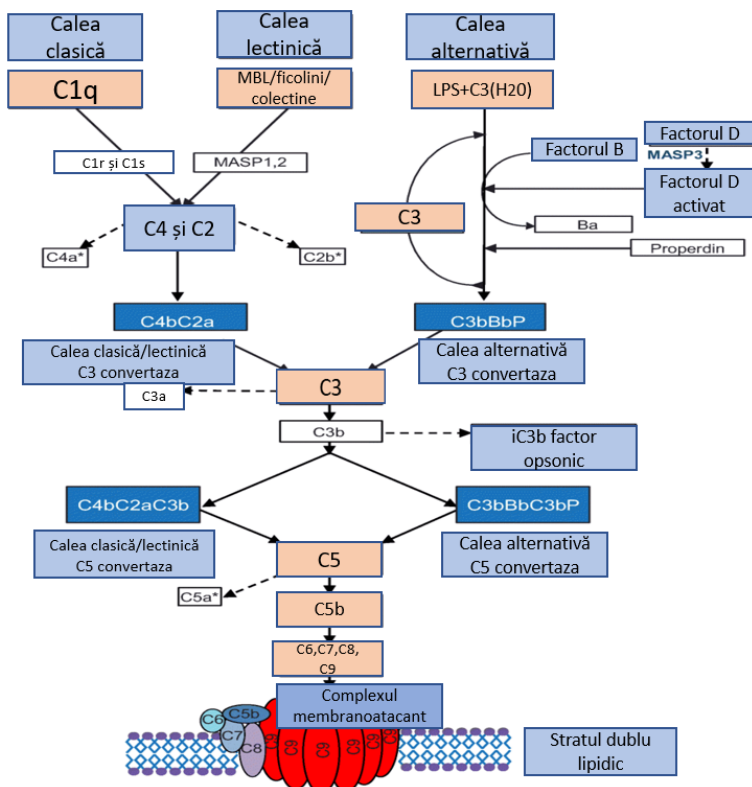


Figura 8. Schema de activare a complementului pe cale clasică, lectinică și alternativă

Notă: MBL – lectina care leagă manoză; LPS – lipopolizaharida; MASP1,2,3 – serin proteaza asociată lectinei de legare a manozei;

Activitatea sistemului complement poate fi evaluată pe cale clasică, lectinică și alternativă, sub formă de reacții în lanț cu reglarea procesului prin șapte proteine responsabile (fig.8). Căile clasică de activare este indusă de complexul Ag-Ac în prezența ionilor de Ca^{++} și Mg^{++} , de regulă pe suprafața celulelor țintă. Activatori ai acestei căi pot fi de asemenea

lipida A polizaharidă și peptidoglicanii bacteriilor, virionii (ARN), PCR, endotoxina meningococilor, micoplasmelor, proteina A stafilococică.

Calea lectinică de activare (fără anticorpi) este indusă de colectine, proteinele care leagă manoză. Etapele de activare începând cu C3 sunt identice celei clasice.

Calea alternativă de activare a complementului este nespecifică, fiind indusă de componenta polizaharidă a lipopolizaharidei peretelui celular al bacteriilor (endotoxine), de imunoglobulinele agregate, de unele remedii medicamentoase, etc.

Complementul activează fagocitoza și scindarea complexelor imune.

Deficiențe genetice au fost descrise pentru majoritatea componentelor complementului (C1q, C1r, C1s, C2, C4, C3, C5, C6, C7, C8, C9). Toate au o modalitate de transmitere autozomal recesivă, cu excepția deficitului inhibitorului C1 (C1-INH), care se transmite autozomal dominant. Mai frecvent în populația umană se constată deficitul C1r (1/100). Manifestările clinice ale deficitului de componente ale sistemului complement sunt redată în *tab.3*.

Testarea asociației clinico-imunologice a componentelor complementului în diferite patologii indică rolul acestuia în eliminarea și/sau distrucția complexelor imune, în mecanismele de opsonizare, în apărarea antibacteriană. Unele gene ale sistemului complement sunt ancorate pe cromozomul 6 și sunt asociate cu genele sistemului HLA. Deficitul de C1q se manifestă prin hipogamaglobulinemie, sindromul LES, vasculite sistemice, infecții recidivante (septicemie, meningită), cel de C1r – prin infecții, glomerulonefrită cu depozite de IgM și C3b în rinichi, necroza pielii, sindromul LES.

Deficitul componentului C4 se înregistrează mai frecvent la fete, poate fi asimptomatic. Se manifestă ca și sindromul LES, dar fără celule LE și anticorpi anti-ADN.

Deficitul C2 este însoțit de maladii autoimune, sindromul LES (fără Ac anti-ADN și celule lupice), pneumonii, meningite, septicemii.

Deficitul C3 conduce la insuficiența opsoninelor, este asociat cu sindromul LES, artralgii, dermatite, maladii autoimune. Frecvent se înregistrează pneumonii, meningite induse de pneumococi, *Neisseria*, stafilococi.

Tabelul 3

Boli produse prin deficitul componentelor sistemului complement

<i>Componentul deficitar</i>	<i>Manifestările clinice/boli asociate</i>
C1q, C1r, C1s	Infecții piogene, boli autoimune (sindroame lupice, glomerulonefrite)
C2	Infecții piogene, sindroame lupice, vasculite, polimiozite, glomerulonefrite, purpura Henoch-Schönlein
C3	Infecții piogene grave (coci Gram negativi), glomerulonefrite, boli ale complexelor imune
C4	Sindroame lupice, glomerulonefrite
C5	Infecții gonococice recidivante, incidența înaltă a LES
C6	Infecții cu Neisseria, sindroame lupice, sindromul Sjögren
C7	Infecții cu Neisseria, sclerodermie, spondilita anchilozantă
C8	Infecții recidivante cu Neisseria
C9	Evoluează asimptomatic
Properdina, factorului D	Infecții piogene, infecții cu Neisseria, sinuzite, bronșite
Factorul H	Infecții piogene, glomerulonefrite
Factorul I (C3b inactivator)	Infecții piogene recidivante, boli cu complexe imune
C1 INH	Edem angioneurotic ereditar
DAF și CD59	Hemoglobina paroxistică nocturnă

Deficitul C5 induce insuficiența factorului chemotactic C5a și apariția infecțiilor meningococice, dezvoltarea LES.

Deficitul C6 conduce la infecții gonococice și meningococice, LES, sindromul Sjögren.

Deficitul C7-C9 este asociat cu LES și infecțiile recidivante induse de Neisseria.

Dereglaarea funcției complementului care participă în agregarea și solubilizarea complexelor imune poate fi cauza dezvoltării patologiei definite de complexe imune. Testarea activității totale a complementului și componentelor acestuia este redată grafic pe *fig.9*.

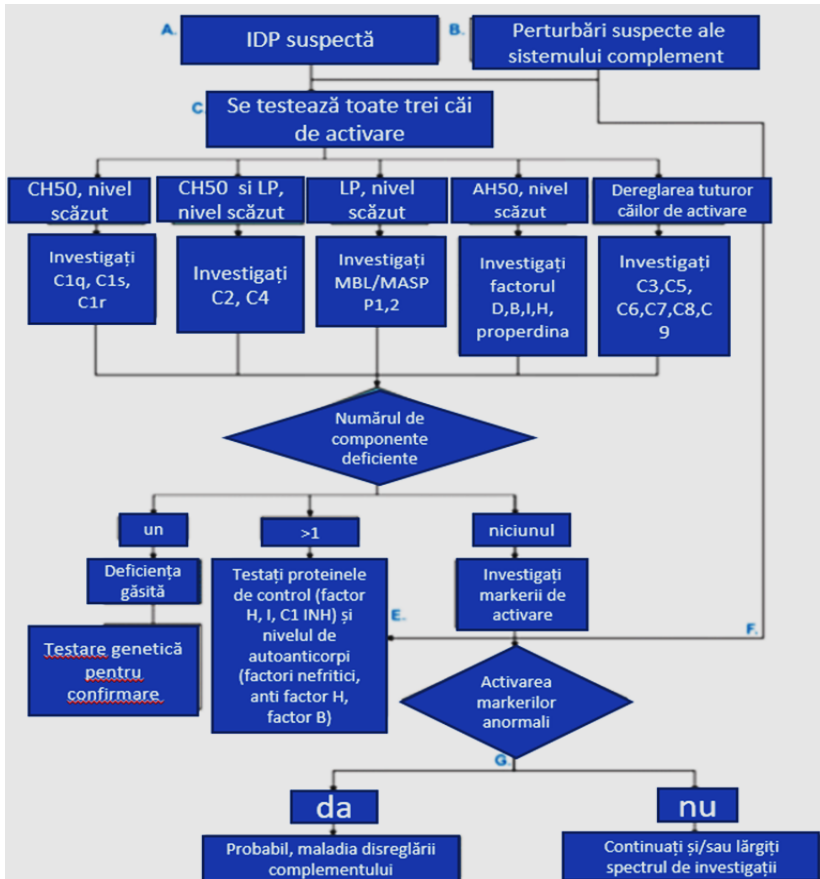


Figura 9. Schema testării complementului și a componentelor acestuia

Notă: CH50, AH50 – activitatea totală a complementului.

Markerii de activare care trebuie luați în considerare sunt: C5b-9, C4a, C4d, C3a, C3d, iC3b, C5a, Bb, Ba și C3 convertaza. Nu este necesar să se măsoare toți markerii, dar, apreciindu-i consecutiv, este posibil să se determine locul dereglării pentru toate măsurările complementului și, în special, pentru markerii de activare – este esențială manipularea adecvată a probei în funcție de tipul de analiză, inclusiv congelarea la -80C în cursul a 2 ore de la recoltare.

Scăderea activității hemolitice (CH50) poate indica deficitul unui factor. În sânge pot apărea și produsele activării sistemului complement care specifică procesul inflamator (toxine anafilactice C4a, C3a, C5a, fragmente C4d, Ba, C3dg, complexe de atac membranar, C5-C9 etc.). Aprecierea lor are importanță diagnostică.

Activitatea fagocitară a polimorfonuclearelor (PMN), a capacității lor de înglobare și digestie a Ag non-proprie se testează prin aprecierea numărului fagocitar (procentul fagocitelor care au înglobat particulele de latex, zimozan sau microorganism – *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus albus*, *Escherichia coli* etc.) și a indicelui fagocitar (media numărului de particule înglobate de fiecare fagocit). Pentru aprecierea mecanismelor bactericide dependente de oxigen se utilizează cuantificarea gradului de activitate al NADPH-oxidazei, funcție de restabilirea de către fagocite a colorantului nitroblue tetrazolium, substanță solubilă de culoare galben pal în granule insolubile de formazan de culoare albastru închis sub influența superoxidului anionului aparent în această reacție generatoare de superoxide.

În frotiuri sunt numărate câte 100 de neutrofile cu marcarea celor care conțin în citoplasmă fie particule de latex, microorganisme sau depuneri de formazan și celulele care nu au reacționat. Rezultatul este exprimat în procente de celule care au reacționat pozitiv.

Reacția are importanță diagnostică în maladia cronică granulomatoasă, care se caracterizează prin prezența defectelor genetice în complexul NADPH-oxidază.

Varianta cea mai gravă a IDP este imunodeficiența severă combinată (SCID), care prezintă o stare de urgență în imunologie, rezultată din defectul profund al limfocitelor T, iar consecințele letale ale maladii survin în perioada timpurie a vieții (în absența intervenției reconstructive imune). Algoritmul investigațiilor ce se impun la suspjecția SCID (sugerate pentru medici) este redat în *fig.10*.

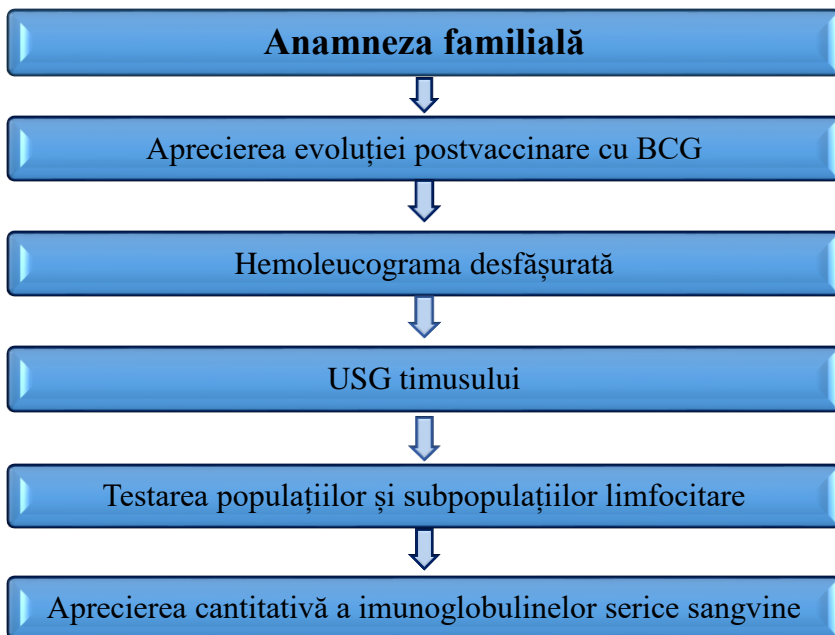


Figura 10. Algoritmul cercetărilor clinico-paraclinice ale pacienților suspecți de SCID

Pentru multe imunodeficiențe primare a fost descrisă localizarea cromozomială a genei defecte ce asigură detecția purtătorilor de gene și diagnosticul prenatal al IDP.

Actualmente diagnosticul prenatal se realizează pe mostre de sânge fetal, celule amniotice sau pe materialul de biopsie a vilozităților coriale.

Rezumând materialele prezentate, reiterăm că un algoritm pentru detecția imunodeficienței primare trebuie să combine diferite metode - clinice, investigații de laborator clinic, imunologie standard sau extinsă la indicații etc., urmând confirmarea și analiza acestora (*fig. 11*).

Implementarea acestor metode și manopere este acceptabilă în laboratoare imunologice dotate cu echipament adecvat pentru realizarea cercetărilor contemporane (citometria de flux, nefelometria etc.).

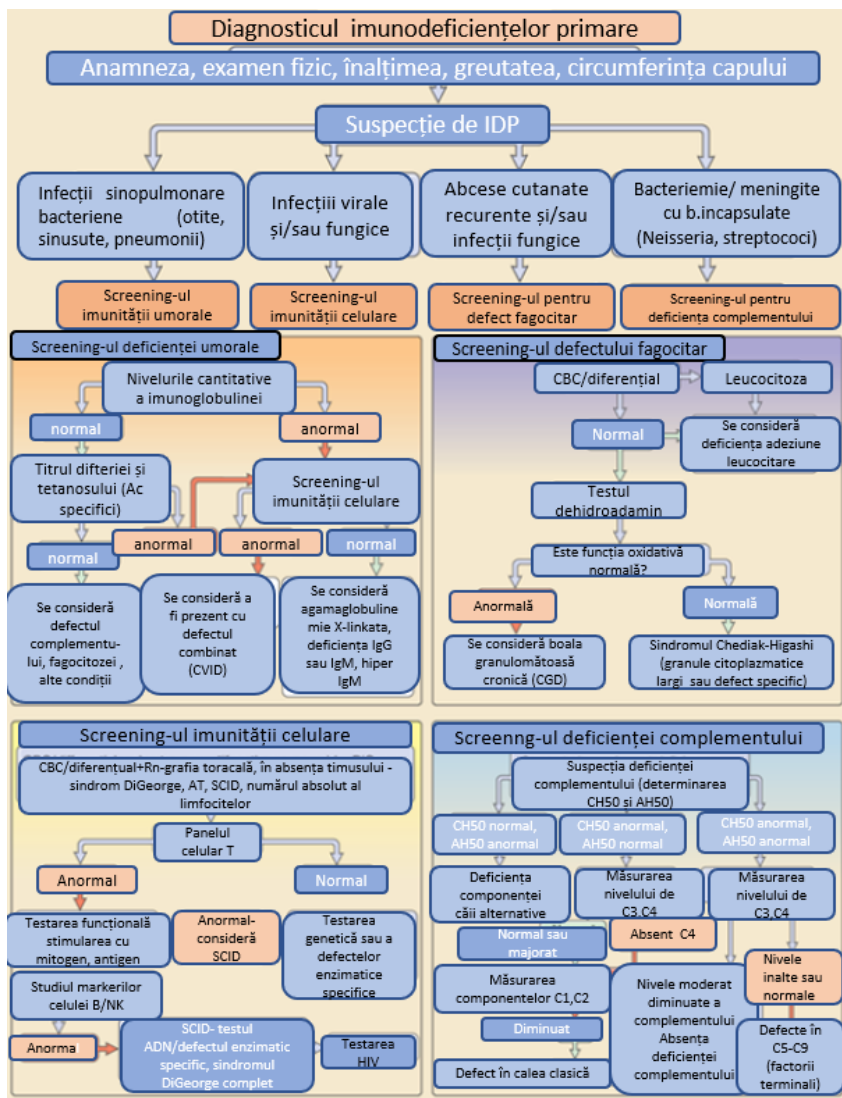


Figura 11. Algoritm de detecție a imunodeficienței primare la nou-născuți și sugari

4. TESTAREA GENETICĂ ÎN DIAGNOSTICUL IMUNODEFICIENȚELOR PRIMARE

Defectele genetice care afectează sistemul imunitar sunt cunoscute sub numele de imunodeficiență primară (IDP) și includ mai mult de 450 de erori înăscute asociate cu o singură genă.

Actualmente, cea mai eficientă modalitate de a diagnostica defectele ereditare ale sistemului imunitar este un studiu genetic molecular, ale cărui rezultate sunt evaluate împreună cu datele examenelor clinice și de laborator (imunologice).

IDP sunt cauzate de defecte (mutații) ale genelor care controlează sistemul imunitar. Sunt cunoscute mai multe tipuri de mutații genetice: substituții, inserții, deleții, dublarea perechilor de nucleotide. Ca urmare, structura proteinelor responsabile de sistemul imunitar este perturbată. Mutațiile pot fi moștenite sau pot apărea *de novo*. Pacienții cu suspiciune de IDP care nu au un diagnostic genetic suferă adesea o experiență lungă, împovărătoare, ineficientă și costisitoare cunoscută sub numele de «odisee diagnostică». Întârzierea diagnosticului complică mult gestionarea și tratamentul adecvat al bolii, provocând o scădere a calității vieții.

Cunoașterea defectului genetic înseamnă:

- prescrierea tratamentului corect al IDP, inclusiv identificarea genei defecte – în zonele în care această intervenție este accesibilă.
- prognozarea evoluției maladiei.
- verificarea posibilității prezenței IDP la făt (așa-numitele teste "prenatale").
- efectuarea de consiliere genetică pentru adulții cu IDP care își planifică nașterea unui copil sănătos.

IDP se transmit pe diferite căi de moștenire. Majoritatea IDP sunt monogene și sunt moștenite prin cale autosomal recesivă (AR), X-lincat recesiv = (X-lincat R) și autosomal dominantă (AD) (tab.4).

Tabelul 4

Genele asociate cu unele imunodeficiențe primare

<i>Forma imunodeficienței primare (IDP)</i>	<i>Gena</i>
<i>IDP cu moștenire autosomal dominantă</i>	
Neutropenia congenitală severă	<i>ELANE</i>
Sindromul limfoproliferativ autoimun	<i>FAS (TNFRSF6), CASP10</i>

Sindromul periodic asociat criopirinei (cryopyrin-associated periodic syndromes – CAPS)	<i>NLRP3</i>
Sindromul periodic asociat cu receptorul factorului de necroza tumorală [tumor necrosis factor (TNF) receptor-associated periodic syndrome – TRAPS]	<i>TNFRSF1A</i>
Edemul angioneurotic ereditar	<i>SERPING1 (C1NH)</i>
Candidoza mucocutanată cronică	<i>STAT1</i>
Sindromul hiper-IgE	<i>STAT3</i>
Deficitul de CTLA4	<i>CTLA4</i>
Deficitul de PI3Kδ	<i>PIK3p110</i>
Sindromul WHIM (nevus, hipogamaglobulinemie, infecții mielocatexis)	<i>receptor CXCL12</i>
<i>IDP cu moștenire autosomal recesivă</i>	
Neutropenia congenitală severă (maladia Kostmann)	<i>HAX1</i>
Sindromul hiper-IgD	<i>MVK</i>
Sindromul Nijmegen	<i>NBS1</i>
SCID (Sindromul Omenn)	<i>RAG1, RAG2</i>
Febra Mediteraneană Familială	<i>MEFV</i>
Sindromul Shwachman-Diamond	<i>SBDS</i>
Sindromul hiper-IgM	<i>CD40 (TNFRSF5)</i>
Limfohistiocitoza hemofagocitară familială	<i>STXB2, PRF1</i>
Sindromul Louis-Bar (ataxia - telangiectazia)	<i>ATM</i>
Sindromul hiper-IgE	<i>DOCK8</i>
<i>IDP cu moștenire X-lincată recesivă</i>	
Sindromul limfoproliferativ X-lincat tip 2 (X-linked lymphoproliferative syndrome type 2 – XLP2)	<i>BIRC4</i>
Agamaglobulinemia X-lincată (maladia Bruton)	<i>BTK</i>
Sindromul hiper-IgM	<i>CD40LG</i>
Boala granulomatoasă cronică X-lincată	<i>CYBB</i>
Sindromul IPEX (Sindromul de dereglare imunitară, poliendocrinopatie, enteropatie, sindrom X-lincat)	<i>FOXP3</i>
SCID (deficitul lanțului gama)	<i>IL2RG</i>
Sindromul limfoproliferativ X-lincat tip 1 (X-linked lymphoproliferative syndrome type 1 – XLP1)	<i>SH2D1A</i>
Sindromul Wiskott-Aldrich	<i>WAS</i>

În funcție de tipul de moștenire și de alte fenomene genetice (de exemplu, penetrarea incompletă a genelor etc.), rudele de sânge ale

pacientului – purtători de gene mutante – pot manifesta forme subclinice ale bolii, uneori diagnosticate doar la vârsta de adult.

În populația generală de pacienți cu IDP, bolnavii cu tipuri de moștenire X-lincată R și AD sunt cele mai frecvente.

Unele IDP apar din cauza modificărilor în structura cromozomilor – aberații cromozomiale. Cea mai frecventă formă de IDP din acest grup este sindromul DiGeorge sau sindromul de deleție a brațului scurt al cromozomului 22 (del 22q11.2).

Screening-ul neonatal în diagnosticul imunodeficienței primare.

Extrem de importantă actualmente este utilizarea markerilor de screening care permit verificarea IDP în etapele căutării preclinice și precoce a diagnosticului. Scopul principal al screening-ului populației de nou-născuți este detecția precoce a unui număr de boli grave asimptomatice la sugari, pentru care este disponibil un tratament eficient, iar diagnosticul precoce și intervențiile adecvate previn complicațiile grave.

În ultimul deceniu definiția markerilor universali ai imunodeficienței de celule T – TREC (T-cell receptor excision circle) și a celulelor B – KREC (kappa-deleting recombination excision circle) pentru screening-ul IDP a fost introdusă activ în practica asistenței medicale în multe țări. În timpul maturării limfocitelor T în timus și celulelor B în măduva osoasă, receptorii celulari se formează prin rearanjarea genelor în lanțul ADN pentru crearea unui loc unic care recunoaște agentul străin. În timpul fiecărei astfel de recombinări, un mic fragment este tăiat din lanț, formând un inel de excizie. Aceste inele au fost numite TREC și KREC. Analiza cantitativă a secțiunilor inelare ale ADN-TREC și KREC, care sunt examinate în limfocite, permit aprecierea gradului de diferențiere, maturitatea și activitatea limfocitelor T și B. TREC însoțește maturizarea practic a majorității limfocitelor T (fig.12), iar KREC – a tuturor limfocitelor B și, astfel, servesc ca markeri ai numărului lor (fig.13).

O scădere a cantității de TREC și/sau KREC în sânge indică prezența stărilor de imunodeficiență.

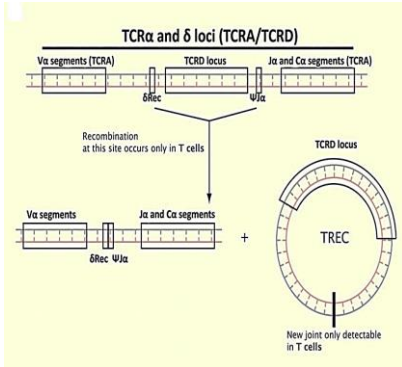


Figura 12. Mecanismul de formare a TREC

TREC (secțiuni inelare tăiate din ADN într-un limfocit T în timpul maturării sale).

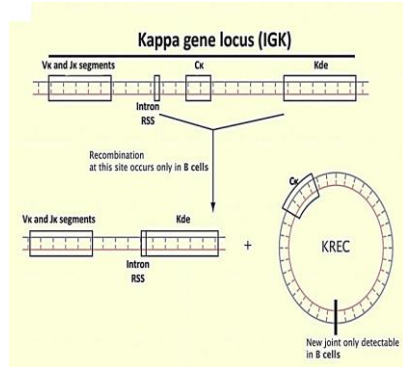


Figura 13. Mecanismul de formare a KREC

KREC (secțiuni inelare tăiate din ADN într-un limfocit B în timpul maturării sale).

Imunodeficiența combinată severă (SCID) este una dintre formele de IDP care poate conduce la moartea unui copil fără terapia timpurie, iar rezultatele tratamentului sunt îmbunătățite semnificativ, dacă sugarii sunt diagnosticați și tratați în primele câteva luni de viață. Screening-ul SCID a fost introdus în multe țări din întreaga lume folosind inelele de excizie a receptorului celulelor T (TREC) și celulelor B (KREC), permițând identificarea copiilor cu forme severe de IDP, manifeste prin T și B-limfopenie. Metodologia screening-ului la SCID prin metoda TREC este prezentată în *fig. 14*.

Petele de sânge uscate prezintă o picătură mică de sânge capilar obținut prin înțeparea pielii călcâiului nou-născuților cu o lancetă, colectată pe un disc special de hârtie de filtru a cardului Guthrie la externarea acestuia din maternitate (de preferință în a 3-a zi de viață a copilului). Această metodă de obținere a unui eșantion clinic pentru proceduri de diagnosticare ulterioare are un cost redus și nu necesită condiții speciale de depozitare. Majoritatea studiilor publicate până în prezent determină nivelul de TREC și KREC per mcl de sânge nou-născut (3 mcl de sânge într-un disc cu un diametru de 3,2 mm). Numărul de copii TREC dintr-o probă de ADN este măsurat folosind reacția cantitativă de polimerizare în lanț (qPCR) în timp real. Acest test reflectă numărul de celule T naive care au părăsit timusul în sângele periferic. Nou-născuții sănătoși la termen au aproximativ 1 TREC la 40 de celule T, ceea ce reflectă nivelul de limfocite T naive din sânge, în timp ce copiii mai mari și adulții au

aproximativ 1 la 100 sau 1000 de celule T, ceea ce este asociat cu "diluarea" grupului de celule T prin diviziune mitotică. Nou-născuții cu SCID au niveluri TREC foarte scăzute sau nedetectabile. Aceasta este ceea ce face posibilă detecția bolii în prima săptămână de viață a copilului, cu mult înainte de manifestarea clinică a bolii.

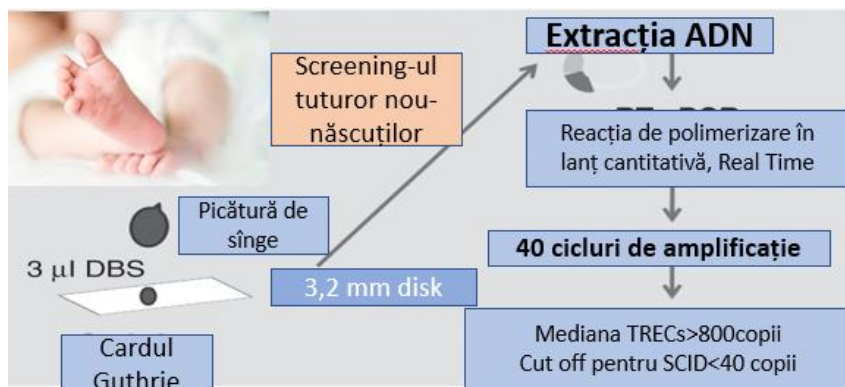


Figura 14. Screening-ul nou-născuților pentru SCID

Eficacitatea analizei TREC a fost argumentată pentru: SCID, sindroamele DiGeorge, SHARGE, Nijmegen, Louis-Bar, CID fără o cauză moleculară identificabilă și alte limfopenii. A fost stabilită eficacitatea determinării KREC pentru diagnosticul agamaglobulinemiei congenitale.

Problema identificării pacienților cu defecte ale celulelor B imune care conduc la dezvoltarea unor condiții nu mai puțin severe și care pun viața în pericol (Agamaglobulinemia Bruton, hiperimmunoglobulinemia M, SCID cu absența celulelor B) este în prezent rezolvată prin screening pentru KREC. Ca și în cazul TREC, KREC nu se poate replica în celulă, este o structură stabilă și apare la mai mult de 50% din limfocitele B. Un mare avantaj este capacitatea de a combina testele TREC și KREC cu metode genetice, imunologice și moleculare (fig.15). O astfel de combinație de teste face posibilă detectarea mai multor tipuri de IDP decât cu testarea separată TREC sau KREC, iar în baza rezultatului de screening se poate iniția în timp util terapia adecvată, patogenetic justificată a copiilor bolnavi, eforturi care vor duce în cele din urmă la o scădere a morbidității și a mortalității infantile din cauza acestor maladii.

Metode de diagnostic molecular al bolilor genetice

În diagnosticul molecular al IDP, obiectul de studiu este molecula ADN a pacientului. Acesta este avantajul decisiv al acestei metode de cercetare diagnostică care se poate efectua nu doar pe țesuturile în care este exprimată gena respectivă, ci și pe orice celule ale corpului din care se poate izola ADN-ul.

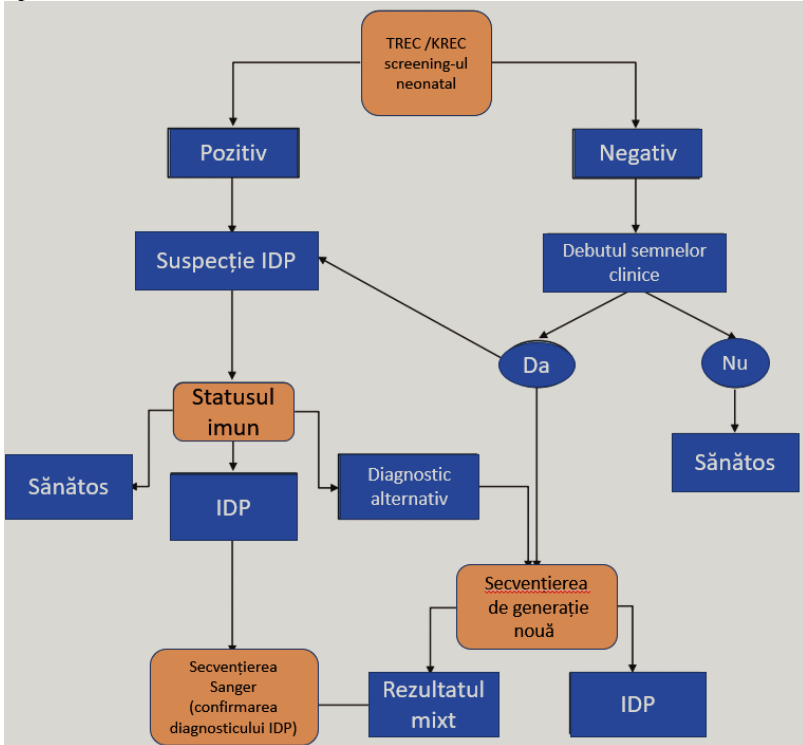


Figura 15. Algoritm de diagnosticare a IDP folosind testele TREC și KREC

Există o multitudine de metode pentru analiza polimorfismului genetic. Cele mai răspândite sunt următoarele:

➤ *polimorfismul lungimii fragmentului de restricție (RFLP)*. Folosind PCR, se amplifică un locus genetic specific. Mai mult, produsul de amplificare este scindat prin endonucleaze de restricție. În acest caz, se formează fragmente de diferite dimensiuni, care sunt identificate în timpul electroforezei;

➤ *PCR specific alelelor.* Aceasta include amplificarea fragmentelor de ADN și hibridizarea ulterioară cu oligonucleotide specifice alelelor marcate. Pentru a face acest lucru, sunt sintetizate două tipuri de secvențe oligonucleotidice, în care site-ul mutant ocupă o poziție centrală. Fiecare dintre aceste sonde oligonucleotidice sunt complementare celor normale sau variante mutante de ADN, respectiv. Condițiile de hibridizare sunt selectate deoarece este important ca duplexurile stabile să se formeze numai cu complementaritatea completă a perechilor hibride. În aceste condiții, fragmentele de ADN amplificate fără mutație vor hibridiza numai cu sonda normală, ADN-ul homozigoților prin mutație – numai cu cel mutant și ADN-ul heterozigoților – cu ambele sonde marker. Au fost dezvoltate modificări convenabile ale acestei metode folosind sonde ADN specifice alelelor;

➤ *PCR în timp real sau PCR cantitativă (qPCR în timp real)* se bazează pe metoda reacției de polimerizare în lanț utilizată pentru amplificarea simultană și măsurarea cantității unei molecule de ADN date;

➤ *Reacția ligazei multiplex cu amplificarea ulterioară (MLPA)* este o variantă a PCR multiplex. Ca urmare a reacției de bază, este posibil să se obțină până la 45 de fragmente PCR unice cu o lungime de 64 până la 500 p.b., care pot fi separate prin electroforeză capilară. Spre deosebire de PCR multiplex standard, metoda MLPA implică utilizarea unei singure perechi de praimer pentru toate sondele, ceea ce simplifică optimizarea condițiilor PCR. Metoda MLPA este destul de ușor de utilizat și necesită un cicler termic și un secvențiator cu o funcție de analiză a fragmentelor.

➤ *metode de cipuri de ADN.* Tehnologia microcipurilor biologice este o inovație importantă în biologia moleculară. Această tehnologie permite utilizarea unor cantități relativ mici de material sursă, efectuarea unei reacții în microvolum și efectuarea simultană a unei analize multiparametrice a mai multor gene ale aceluiași obiect. Sensibilitatea sa este comparabilă cu metodele standard de amplificare a diagnosticării ADN și în unele cazuri este mai înaltă. În funcție de natura sondelor imobilizate există patru tipuri principale de biocipuri:

- 1) cipuri ADN;
- 2) cipuri ARN;
- 3) microcipuri de proteine;
- 4) microcipuri celulare.

Diagnosticul ADN folosind cipuri a fost dezvoltat în continuare în metode progresive precum screening-ul de asociere la nivel de genom (GWAS) și metoda hibridizării genomice comparative pe cipuri (hibridizarea genomului comparativ – CGH); *o metodă de secvențiere a ADN de nouă generație (new generation sequencing, NGS)*.

Secvențierea, adică "citirea" codului genetic al întregului genom celular, este "standardul de aur" pentru detectarea oricăror mutații la nivelul întregului genom, al cromozomilor individuali și al genelor individuale. Datorită dezvoltării rapide a tehnologiei de secvențiere a ADN, costul unui "pas", adică determinarea poziției unei nucleotide, a scăzut de aproape un milion de ori față de costul inițial în ultimii 10 ani, iar timpul de secvențiere a întregului genom a fost deja redus la aproape 24 de ore. În plus, în ultimii ani, a fost dezvoltată o tehnologie pentru a izola din genomul uman doar acea parte a acestuia care este necesară pentru sinteza proteinelor, așa-numitul exon, care reprezintă doar aproximativ 2% din ADN celulei. Secvențierea exonului durează doar câteva ore și este deja utilizat pentru o căutare pe scară largă (la nivel de genom) pentru mutații care stau la baza bolilor rare. Datorită îmbunătățirilor serioase, a apărut tehnologia de secvențiere paralelă profundă sau secvențiere de nouă generație. Cu această tehnologie a devenit posibilă identificarea mutațiilor chiar și în cazul IDP rare cu o genă cauzală necunoscută.

În prezent, au fost identificate sute de gene, mutații care duc la diverse IDP. Bazele de date și băncile de mutații au fost deja create pentru multe dintre ele, au fost identificate mutații majore, adică cele mai frecvente mutații, au fost identificate zone cu mutabilitate crescută ("puncte fierbinți") și au fost dezvoltați algoritmi de diagnostic molecular.

Consilierea genetică și diagnosticul prenatal al IDP

Toți copiii pacientului cu tipul de moștenire AR și toate fiicele pacientului cu tipul de moștenire X-lincat R sunt purtători ai genei mutante, deci au nevoie de consiliere genetică. Consilierea este acordată părinților pacienților cu IDP.

Sarcinile unui genetician în procesul de consiliere sunt următoarele:

- stabilirea diagnosticului de IDP,
- calculul riscului genetic,
- informarea familiei despre posibilitățile de prevenire a nașterii unui copil cu IDP.

Riscul genetic (probabilitatea de a avea un copil cu IDP) de peste 20% este considerat înalt. Cu tipul de moștenire AR el este de 25%, iar la

moștenirea AD – atinge 50%, prin urmare, diagnosticul genetic molecular oferă un ajutor indispensabil în prevenirea IDP. Atunci când se identifică una (cu transmiterea AD și X-lincat R de IDP) sau ambele mutații (cu tipuri AR de IDP), devine posibil în cazul următoarei sarcini să se determine statusul genetic a fătului, adică să efectueze diagnostice prenatale, care are un loc decisiv în prevenirea IDP. Diagnosticul prenatal este posibil în primul trimestru de sarcină (prin analiza moleculară a cilia corionică) sau lichidul amniotic care conține celule fetale la 16-18 săptămâni de sarcină (amniocenteză). Un indicator că consultarea a fost efectuată cu succes va fi adoptarea de către părinți a unei decizii adecvate.

O altă metodă modernă de prevenire a IDP este diagnosticarea preimplantării, avantajul căruia este posibilitatea transplantului de embrioni fără gene mutante, adică posibilitatea de a începe o sarcină cu un făt deliberat sănătos.

În toate cazurile de IDP, este necesar ca pacientul să se adreseze unui genetician. Doar munca comună a specialiștilor din diferite profiluri, inclusiv a medicilor de îngrijire primară, va duce la depistarea precoce a pacienților cu IDP și la informarea familiilor cu privire la riscurile suplimentare de a avea copii bolnavi, la identificarea pacienților cu MID în rândul adulților.

5. BIOMARCHERII DE LABORATOR AI IMUNODEFICIENȚELOR PRIMARE

Metodele clinice de laborator permit suspjecția IDP la etapele precoce, în special este de importanță majoră *limfopenia persistentă* (scăderea numărului de limfocite mai puțin de 1500/ μ l, în special la copiii cu vârsta precoce, de regulă, este un criteriu al IDP cu afectarea verigii celulare a imunității).

Scăderea esențială a fracției de gama-globuline la electroforegrama proteinei totale poate sugera dereglarea sintezei de imunoglobuline. Defectele anticorpogenezelor constituie 50-70% din totalul IDP și includ multiple forme nosologice.

Hipogamaglobulinemia tranzitorie la copii se înregistrează mai frecvent la prematuri, se caracterizează prin nivelul scăzut al imunoglobulinelor datorat catalizării IgG materne și sintezei insuficiente a celor proprii. Copilul este predispus la infecții bacteriene severe, recidivante, în special la nivelul tractului respirator. Se înregistrează la 5-8% dintre copii și, de regulă dispare spontan la 1,5-4 ani. Testarea statusului imun denotă un procent normal de LT și LB, nivel scăzut de Ig. Ganglionii limfatici și amigdalele sunt fără modificări.

Evoluția este favorabilă și nu necesită administrări de gamaglobulină. În cazuri severe se obțin rezultate bune prin terapie combinată cu antibiotice de spectru larg, administrarea imunoglobulinei – după indicație.

Deficitul selectiv al imunoglobulinei A se dezvoltă în cazul genei defecte *infrsf 13b sau p*. Clinic acesta se manifestă prin predispoziție la infecții, manifestări autoimune, IDP cu dereglarea sintezei de Ac la membrii familiei; este păstrată capacitatea de formare a răspunsului imun post-vaccinal. Se atestă insuficiența IgA selectivă, adică deficitul uneia din subclase (30% cazuri), și insuficiența IgA totală (70% din cazuri). Deficiența subclasei IgA 2 conduce la manifestări clinice mai evidente comparativ cu deficitul IgA1. Sunt posibile și combinații ale deficitului IgA cu alte dereglări (cu defectul biosintezei IgG și cu anomalii ale limfocitelor T). *Investigațiile de laborator confirmă deficitul IgA prin scăderea concentrației IgA serice – sub 0,05 g/l (< 5 mg/dl) la copii cu vârsta de peste 4 ani. Valorile IgG și IgM sunt în normă, cantitatea și coraportul*

subpopulațiilor limfocitare și activitatea lor funcțională de regulă sunt normale. *Acestea sunt criteriile de diagnostic al deficitului selectiv de IgA.*

În cazul *combinării deficienței IgA cu deficitul subclaselor IgG* clinic se înregistrează maladii infecțioase recidivante și infecții bacteriene severe, iar testarea imunității umorale constată IgA de nivel normal sau puțin scăzut, minorizarea uneia sau câtorva subclase de IgG (testarea se repetă de 2 ori cu interval de 10-14 zile). Concomitent se apreciază capacitatea păstrată de formare a răspunsului imun postvaccinal și sunt excluse defectele verigii imunitare T.

În deficiența subclaselor de IgG apar clinic infecții bacteriene severe și recidivante. Testarea imunologică atestă nivele de IgA, IgG și IgM încadrabile în valorile de vârstă, *scăderea unei sau câtorva subclase de IgG* (testare dublu reluată) cu păstrarea intactă a imunității celulare T și a capacității de formare a răspunsului imun postvaccinal adecvat.

Agamaglobulinemia cu deficit de celule B.

În *agamaglobulinemia X-lincată (maladia Bruton)* sunt afectați băieții, născuți din mame purtătoare de gena defectă *Btk* (Xq21.3-q22), care codifică proteinkinaza Btk specifică pentru limfocitele B (Bruton's tyrosine kinaze - tirozinkinaza Bruton). În contextul acestui defect are loc dereglarea căilor de semnalizare intracelulară, recombinarea lanțurilor grele ale imunoglobulinelor, diferențierea celulelor pre-B în limfocite B. Actualmente au fost descrise 6 defecte genetice, inclusiv cele ce vizează moleculele receptorului celular pre-B, proteina adaptorului citoplasmatic al celulelor B (BLNK) și defecte ale genei *Leucine-Rich Repeat-Containing 8 (LRRC8)*.

Biomarkerii diagnosticului de laborator în această afecțiune sunt:

✓ *Pentru diagnosticul final de maladie Bruton*

- Minimalizarea (< 2%) sau absența limfocitelor B periferice. În măduva osoasă sunt prezente celulele pre-B cu lanțul μ în citoplasmă. Numărul limfocitelor T și testele funcționale ale acestora pot avea valori de normă;
- IgM și IgA în sânge nu se apreciază. IgG poate fi prezentă, dar în cantități mici (0,4-1,0 g/L);
- Sunt absenți anticorpii la antigenele eritrocitare ale grupelor de sânge și la antigenele vaccinurilor (toxinele tific, difteric etc.).

- Poate să se dezvolte neutropenia;
- Cercetarea histologică a țesutului limfoid denotă absența centrelor germinative și celulelor plasmaticice în foliculele limfoide.
- Concomitent va fi prezent unul din următoarele criterii – mutația genei *Btk*, absența expresiei mRNA Btk în neutrofile sau monocite, absența expresiei Btk în monocite sau trombocite. Rudele pacientului (unchii, nepoții, verișorii pe linia maternă) prezintă < 2% CD19⁺.

✓ *În diagnosticul probabil* la pacientul suspect se determină mai puțin de 2% de CD19⁺ (limfocite B), care se asociază cu debutul infecțiilor bacteriene recidivante până la 5 ani, scăderea imunoglobulinelor de clasele G, M, A sub 2SD ale normei de jos pentru vârsta respectivă, absența izohemaglutininelor și/sau răspuns slab la vaccinare, precum și sunt excluse alte cauze de hipogamaglobulinemie.

✓ *În cazul unui diagnostic posibil* criteriile sunt: pacientul de sex masculin, care are mai puțin de 2% de CD19⁺, fiind excluse alte cauze de hipogamaglobulinemie, concentrația serică sangvină a IgG, IgA și IgM este redusă sub 2 SD față de norma de vârstă, absentează izohemaglutininele și/sau răspunsul imun este slab la vaccinare, debutul maladiei fiind până la 5 ani.

Criteriul de diagnostic este scăderea concentrației de IgG serice la mai puțin de 2 g/l și absența IgA, IgM și limfocitelor B circulante.

Imunodeficiența comună variabilă (CVID) prezintă o grupă de sindroame, care se caracterizează prin defectul de sinteză a anticorpilor și al imunității celulare. Clinic se manifestă prin predispunerea majoră la infecții, manifestări autoimune, formarea de granuloame. Cercetările de laborator denotă limfoproliferarea policlonală inexplicabilă, IDP cu dereglarea sintezei de Ac la membrii familiei, scăderea esențială a nivelului de IgG în două cercetări consecutive – cu 2 SD față de norma de vârstă, iar la adulți - mai puțin de 4,5 g/l și IgA cu/sau fără scăderea nivelului de IgM.

Concomitent se constată răspuns neadecvat la vaccinare (și/sau absența izohemaglutininelor), puține celule B de memorie (< 70% de la norma de vârstă), debutul maladiei – sub 4 ani, excluderea genezei secundare a hipogamaglobulinemiei, absența criteriilor de dereglare

profundă a verigii celulare T (prezența a nu mai mult de unul din cele trei criterii):

- CD4⁺/μl: la 2-6 ani < 300; 6-12 ani < 250; peste 12 ani < 200.
- Procentul de CD4⁺ naive: la 2-6 ani < 25%; 6-16 ani < 20%; după 16 ani < 10%.
- Proliferarea celulară T este absentă.

Criteriul veridic de diagnostic al CVID este scăderea esențială a conținutului de imunoglobuline din trei sau două izotipuri principale la persoanele de ambele sexe în combinație cu unul din următoarele criterii:

- *Debutul maladiei după vârsta de 20 de ani;*
- *Absența izohemaglutinelor și/sau răspunsul slab la vaccinare;*
- *Excluderea altor cauze ale agamaglobulinemiei.*

La unii bolnavi cauza dezvoltării CVID sunt mutațiile genelor care codifică moleculele implicate în procesele de maturizare și supraviețuire a celulelor B: BAFF-R (B-cell Activating factor Receptor), Blimp-1 (B-lymphocyte induced maturation protein-1) și ICOS (Inducible costimulator). Are loc dereglarea capacității limfocitelor B de a se diferenția în celule plasmatică, se dezvoltă defecte ale anticorpogenezii, este posibilă disfuncția limfocitelor T, se observă tendința majoră de dezvoltare a bolilor infecțioase. Sindromul poate să se manifeste în copilăria timpurie, în adolescență sau la persoanele tinere.

Biomarkerii diagnosticului de laborator în această afecțiune sunt:

- *Nivelul IgA și IgG sunt scăzute esențial (aproximativ la 50% de bolnavi) și IgM (până la cantități nedetectabile);*
- *Numărul limfocitelor B în sânge corespunde valorilor normale sau sunt scăzute;*
- *Cantitatea limfocitelor T la majoritatea bolnavilor este normală;*
- *La pacienții cu forme severe este posibilă dezvoltarea limfopeniei (mai puțin de 1500×10^3 celule/l de sânge);*
- *Numărul celulelor NK este scăzut;*
- *Producerea anticorpilor specifici ca răspuns la imunizare este scăzută sau absentă;*

- *Proliferarea limfocitelor și formarea IL-2 la acțiunea mitogenelor și antigenelor este dereglată esențial.*

Criteriul de diagnostic în deficiența imună comună variabilă este scăderea esențială a trei, mai rar a două clase principale de imunoglobuline (IgA, IgG, IgM) la un număr normal sau scăzut de celule B, dereglarea răspunsului specific.

Sindromul de hiper-IgM prezintă o grupă de maladii genetice eterogene cu manifestări clinice și de laborator identice. La baza sindromului stau dereglările moleculare a călei de interacțiune a receptorului CD40 de pe limfocitele B cu ligandul CD40 pe celulele T, care conduc la dereglarea comutării sintezei IgM la alte clase de imunoglobuline. În 70% cazuri maladia se moștenește X-lincat, iar în celelalte autosomal recesiv. Clinic la acești pacienți se constată predispoziția majoră la infecții, manifestări ale disreglării imune (proliferarea limfocitară, colangita sclerozantă, alte manifestări autoimune), citopenii (neutropenie sau citopenii autoimune), limfoame, imunodeficiențe primare cu dereglări ale sintezei de anticorpi la membrii familiei, precum și scăderea esențială a nivelului IgG la o concentrație majorată sau normală de IgM (cercetată în două probe secvențiale). Ca și în alte forme nosologice sunt excluse alte cauze ale hipogamaglobulinemiei, sunt absente semnele de dereglare profundă a verigiilor celulare T (prezența nu mai mult de unul din trei criterii):

- $CD4^+/\mu l$ - 0-6 luni < 1000 ; 6 luni - 1 an < 800 ; 1-2 ani < 500 ; 2-6 ani < 300 ; 6-12 ani < 250 ; mai mare 12 ani < 200 ;
- Procentul limfocitelor $CD4^+$ naive - 2-6 ani $< 30\%$; 2-6 ani $< 25\%$; 6-16 ani $< 20\%$; mai mare de 16 ani $< 10\%$.
- Proliferarea celulară T este absentă.

În acest caz nu sunt reperate insemne de ataxie-telangiectazie (pete de nuanța ”cafea cu lapte”, ataxia, telangiectazia, nivel majorat de alfa fetoproteina).

Criteriul de suport pentru emiterea diagnosticului de hiper-IgM este scăderea marcată a concentrației de IgG și IgA serice la o cantitate normală sau majorată de IgM. Cantitatea limfocitelor T și B circulante, de regulă este normală.

Dereglarea sintezei de anticorpi specifici se manifestă clinic prin infecții bacteriene severe și recidivante, concentrații serice de IgG, IgA, IgM și subclasele IgG – în limita valorilor de referință. La testarea

imunologică a anticorpilor specifici după imunizarea cu un vaccin care conține antigene polizaharide purificate ale Pneumococului (sau un alt vaccin polizaharid) sau după o maladie infecțioasă suportată se constată dereglarea severă a sintezei de Ac specifici.

Imunodeficiențele primare neclasificate cu insuficiență prioritară de sinteză a Ac se emit în prezența a practic aceluiași criterii, dar fără corespundere cu semnele altor IDP cu deficiența de producere a anticorpilor.

Defectele verigii celulare și deficiențele combinate.

Imunodeficiențele cu afectarea verigii imune de celule T sunt diverse și variază după severitatea manifestărilor infecțioase și prezența patologiei neinfecțioase asociate. Pacienții sunt expuși infecțiilor oportuniste induse de protozoare, virusuri (Herpes Simplex, Varicella Zoster, Citomegalovirus) sau fungi. Aceștia dezvoltă frecvent pneumonie progresivă indusă de virionul Paragripei tipul 3, CMV sau Pneumocystis carinii.

Afectarea unei sau altei funcții a limfocitelor T conduce de regulă și la dereglarea răspunsului specific umoral, deoarece funcția limfocitelor B depinde de activitatea normală a limfocitelor T. Este caracteristică frecvența crescută a neutropeniilor, trombocitopeniilor autoimune.

La maladiile acestui grup se referă imunodeficiența combinată severă, sindromul DiGeorge etc.

Imunodeficiența combinată severă (SCID) este considerată ca fiind cea mai gravă dintre toate imunodeficiențele primare, dată fiind absența combinată a funcției limfocitelor T și B. La copilul mic SCID reprezintă forma mortală de imunodeficiență. Infecțiile sugarului cu SCID sunt foarte severe și includ pneumonia, meningita, septicemia, infecții cutanate cronice sau diareea persistentă.

Criteriile diagnostice pentru toate formele de SCID sunt: hipoplazia țesutului limfoid, limfopenia, scăderea esențială a limfocitelor CD3⁺ și a concentrației imunoglobulinelor serice sangvine, debutul precoce al infecțiilor severe. În dependență de forma maladiei numărul limfocitelor B variază de la nule (T-B-) până la valori normale (T-B+), dar în toate cazurile funcția acestora este dereglată. În unele forme de SCID se apreciază un număr normal de limfocite NK (NK+).

Cea mai simplă metodă de diagnosticare a SCID este evaluarea numărului de limfocite din sângele periferic sau din cordonul ombilical.

Un sugar sănătos are în primul an de viață în jur de 4000 limfocite/ μ l, din care 70% sunt limfocite T. Un sugar cu SCID, neavând limfocite T are o medie de 1500 limfocite/ μ l. Confirmarea diagnosticului se face prin imunofenotiparea limfocitară și teste de proliferare ale acestora. În cazul sugarilor, imunograma nu este relevantă, deoarece IgG de la mamă trec prin placentă, deficitul de IgG neputând fi recunoscut timp de câteva luni, până când IgG de origine maternă sunt catabolizate. La aceștia este interzisă administrarea de vaccin BCG sau de vaccinuri cu virusuri vii (rotavirus, varicelă, oreion, rujeolă, poliomielită). Cel mai frecvent SCID se poate suspecta după apariția complicațiilor la administrarea vaccinului BCG. Actualmente organizațiile europene pledează pentru screening-ul postnatal imediat pentru SCID al tuturor nou-născuților din UE.

Sindromul DiGeorge. La originea acestui sindrom se regăsește aberația cromozomială denumită deleția 22q11.2, care dereglează formarea organelor care provin din trei arcade branhiale (timus, glanda paratiroidă, vase magistrale etc.)

Biomarkerii de laborator ai sindromului DiGeorge sunt limfopenia de diversă expresie cu declinul limfocitelor T, dereglarea răspunsului imun la mitogeni, cu număr normal sau majorat de limfocite și diverse grade de scădere a nivelului de imunoglobuline.

Sindromul Wiskott-Aldrich – maladie X-lincată caracterizată prin imunodeficiența combinată în asociere cu trombocitopenie și eczemă. Maladia este rezultatul mutației genei, care codifică proteina WAS cu activitate în polimerizarea actinei și formarea citoscheletului. Absența proteinei WAS în limfocitele și trombocitele pacienților conduce la dezvoltarea trombocitopeniei, dereglarea funcției celulelor T și reglării sintezei anticorpilor.

Modificările de laborator sunt relativ nespecifice și sunt prezentate de limfopenie, în special din contul celulelor T, concentrației normale sau scăzute de IgG, nivel majorat de IgA și IgE și scăzut de IgM, producerea dereglată de anticorpi, în special la antigenele polizaharide.

Ataxia-telangiectazia (A-T), sindromul Louis-Barr este o afecțiune cu moștenire de tip autozomal recesiv, care se caracterizează prin ataxie cerebeloasă progresivă, apariția telangiectaziilor mici, în special pe conjunctiva bulbară și imunodeficiență combinată. Cauza maladii este mutația genei *ATM* care codifică proteina participantă în reparația ruperilor bicatenare a ADN și reglarea ciclului celular.

Biomarkerii de laborator al acestei patologii este creșterea AFP. Modificările imune sunt nespecifice și includ scăderea cantitativă și activitatea funcțională a limfocitelor T, inversia coraportului $CD4^+/CD8^+$, scăderea sau absența IgA, IgG2, IgG4 și IgE, mai rar se constată concentrații de imunoglobuline apropiate de normă sau disimunoglobulinemia tradusă prin declinul acut al IgA, IgG, IgE și creșterea esențială a IgM.

Sindromul Nijmegen se caracterizează prin prezența la pacienți a fenotipului caracteristic și imunodeficiență. La baza maladiei stă mutația genei *NBS1*, care codifică proteina nibrin. Aceasta participă în restabilirea ruperilor celor două lanțuri a ADN-lui. Pentru bolnavii cu acest sindrom este *caracteristic dereglarea funcției celulelor T. Concentrația imunoglobulinelor serice sangvine la acești bolnavi variază de la valori subnormale până la agamaglobulinemie*. Clinic la majoritatea pacienților se constată diferite infecții caracteristice pentru defectele combinate ale imunității.

Biomarkerii sindromului Nijmegen sunt aprecierea mutației genei NBS1, cantității majore de ruperi cromozomiale în cultura celulară.

Sindromul limfoproliferativ autoimun (ALPS) se caracterizează prin defecte primare ale apoptozei limfocitelor care conduc la pierderea controlului asupra proliferării celulelor limfoide și selecția negativă a limfocitelor.

Maladia este de natură poligenă, fiind legată de dereglarea funcției proteinelor Fas-mediate a căii apoptotice. Toate defectele cunoscute la ora actuală sunt moștenite pe cale autosomal recesivă. Diagnosticul ALPS poate fi suspectat în cazul prezenței *hiperimunoglobulinemiei policlonale (creșteri ale unei sau câtorva clase de imunoglobuline serice)*, limfadenopatie exprimată, hepatosplenomegalie.

Biomarkerul de laborator caracteristic pentru acest sindrom este prezența limfocitelor dublu negative $CD3^+CD4^-CD8^-$, în normă absente în sângele periferic. Dar confirmarea diagnosticului vine după depistarea defectului apoptozei în vitro.

Principalele manifestări clinice ale sindromului limfoproliferativ autoimun sunt limfadenopatia, hepatosplenomegalia, hemocitopeniile autoimune cum ar fi anemia hemolitică și/sau agranulocitoza și/sau trombocitopeniile și alte dereglări autoimune (colită ulceroasă nespecifică, artrită, eritem nodos, sialoadenită etc.). La majoritatea pacienților sunt depistați autoanticorpii anti-diverse celule și țesuturi ale organismului.

Sindromul hiperimunoglobulinemiei E se caracterizează prin abcese recidivante (de regulă, stafilococice) ale țesutului subcutanat, pulmonar (care rezultă cu pneumocel), ale organelor parenhimate, precum și anomalii scheletice, trăsături grosiere ale feței (hipertelorism, baza nazală largă), dermatită, tendință majoră de fracturi osoase. Mecanismul imun al maladiei nu este elucidat. *Pentru această boală sunt caracteristice eozinofilia, nivelul excesiv de IgE serică, deficiențe ale chemotaxiei neutrofilelor.*

Screening-ul de laborator în suspecția imunodeficienței debutează cu analiza generală a sângelui și cercetarea concentrației de imunoglobuline serice IgM, IgG, IgA cu estimarea ulterioară a populațiilor celulare principale: limfocitele T, B, celulele NK. Concentrația serică a imunoglobulinelor, precum și coraportul subpopulațiilor limfocitare depind de vârsta și starea clinică a pacientului, de aceea cercetările vor lua în calcul normele de vârstă.

Boala granulomatoasă cronică (BGC) este o maladie ereditară severă, caracterizată prin incapacitatea celulelor fagocitare de a produce peroxizi de hidrogen și alți oxidanți necesari pentru a distruge bacteriile fagocitate. Cauza maladiei sunt mutațiile în genele, care codifică cele 7 componente a NADPH-oxidazei. Clinic boala se manifestă la primul an de viață prin infecții bacteriene și fungice severe, recidivante cu afectarea pulmonilor, tractului gastrointestinal, pielii, ganglionilor limfatici. Ulterior, în rezultatul răspândirii hematogene pot fi afectate ficatul, creierul, oasele, rinichii.

La baza diagnosticului imunologic al BGC stă identificarea produselor exploziei oxidative, care are loc în toate celulele fagocitare la activarea lor și constă în apariția formelor active de oxigen.

Criteriile de diagnostic ale BGC sunt testele de oxidare cu hidrorhodamină sau NBT, care sub influența peroxizilor de hidrogen vor emite chimiluminescență sau își vor modifica culoarea colorantului în albastru închis. Cea mai simplă metodă este testul morfologic NBT (Nitroblue tetrazolium).

Informațiune suplimentară posedă testarea subpopulațiilor de limfocite, CD18 și CD11b.

Modificări esențiale ale sistemului fagocitar au fost depistate și în sindromul **Chediak-Higashi** în rezultatul incapacității de formare a fagosomelor și formelor active de oxigen. *Criteriu de diagnostic caracteristic*

acestei maladii este prezența granulelor gigante, care reprezintă lizosome modificate. *La testarea sistemului imun se constată absența chemotaxiei, formării peroxidului de hidrogen intracelular, activității citotoxice a celulelor NK, scăderea răspunsului proliferativ a celulelor T.*

Concluzionând materialele elucidate menționăm, că imunodeficiențele (ID) reprezintă un grup de boli cauzate de modificări cantitative și/sau funcționale ale diferitor mecanisme implicate atât în răspunsul imun în-născut, cât și în cel adaptiv. Ele sunt clasificate ca boli de imunodeficiență primară (IDP) dacă originea lor este genetică și secundare (IDS) dacă originea lor este dobândită. Ambele tipuri de imunodeficiență sunt asociate sau predispun la complicații, cum ar fi infecții, tulburări autoimune, dereglarea imună cu limfoproliferare, tulburări inflamatorii, limfoame și altele. IDP cuprind un grup eterogen de aproximativ 450 de boli.

Evaluarea de laborator a statusului imun al pacientului permite diagnosticul precoce al dereglărilor imune, aprecierea eficacității metodelor terapice și a remediilor medicamentoase, precizarea contraindicațiilor de utilizare a lor, prognosticarea evaluării maladii, eficacității vaccinării etc., intervenții care au o importanță majoră pentru diagnosticul veridic al patologiei.

Îmbunătățirea gradului de conștientizare este un pas crucial în prevenirea subdiagnosticului și a diagnosticului întârziat și poate ajuta la evitarea complicațiilor, la îmbunătățirea prognosticului maladii, la reducerea impactului asupra familiei și poverii sociale și economice. Obiectivul acestui studiu a fost să promovăm diagnosticul precoce, care ar sta la baza unui tratament adecvat al acestor pacienți.

Abordarea diagnostică atunci când este suspectată IDP include un istoric clinic complet, ținut, examen fizic detaliat, hemograma completă și teste de laborator standard, inclusiv determinarea nivelurilor serice de imunoglobuline. Istoricul clinic trebuie să includă antecedente familiale de IDP, consangvinitate sau istoric familial de moarte subită la o vârstă fragedă. Examenul fizic ar trebui să includă o evaluare a stării nutriționale, sechelele infecțiilor anterioare, starea ganglionilor limfatici, amigdalelor, hepatosplenomegalia etc. O hemoleucogramă completă și un frotiu de sânge vor exclude citopenia sau anomalii celulare. Aceste

teste de laborator de bază ar trebui să includă, de asemenea, funcția hepatică și renală, proteinele totale și albumina.

Determinarea imunoglobulinelor serice (IgG, IgM, IgA, IgE-total) este primul pas în evaluarea imunității umorale și va ajuta la diagnosticarea deficiențelor cantitative de Ig, cum ar fi agamaglobulinemia congenitală, CVID, sau deficitul de IgA și alte anomalii ale anticorpilor, asociat cu defecte precum sindromul hiper-IgE sau hiper-IgM.

Dacă diagnosticul nu este confirmat și suspiciunea rămâne, se realizează teste suplimentare (flowcitometria de flux pentru determinarea populațiilor și subpopulațiilor limfocitare cu panel standard sau extins, exprimarea proteinelor, studii funcționale și genetice). Întregul proces de diagnostic trebuie să combine abordările hematologice, imunologice, molecular-genetice pentru a ghida și accelera diagnosticul diferențial al unui număr semnificativ de boli autoimune, tulburări limfoproliferative etc. Această abordare va ajuta la minimizarea sechelelor care ar putea apărea dacă diagnosticul de IDP este întârziat.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Abbot J.K., Gelfand E.W. Common variable Immunodeficiency: Diagnosis, Management and Treatment. *Immunol. Allergy clin. North Am.*, 2015 vol. 35, nr.4, p.637-658
2. Aghamohammadi A., Cherraghi T., Gharagozlo M et al. IgA deficiency: correlation between clinical and immunological phenotypes. *J. Clin. Immunol.* 2009, col. 29, nr. 1 p. 130-136
3. Aghamohammadi A., Abolhossani H., Puchalka J., et al. Preference of Genetic Diagnosis of CXCR1 Mutation Compared with Clinical Diagnosis of WHIM Syndrome. // *J. Clin. Immunol.* 2017, vol. 37. Nr. 3, p. 282-286
4. Aksentijevich I., Masters S.L., Ferguson P.J., et al. An autoinflammatory disease with deficiency of the interleukin-1-receptor antagonist // *N.Engl.J.Med.*-2009.-vol. 360 p. 2426-2437
5. Aksentijevich I., McDermott M.F. Lessons from characterization and treatment of the autoinflammatory syndromes// *Curr. Opin. Rheumatol.* 2017. Mar. (vol.29, nr.2). p. 187-194.
6. Almeida de Jesus A., Goldbach-Mansky R. Monogenic autoinflammatory diseases: concept and clinical manifestations// *Clin. Immunol.* 2013. Jun. (vol. 147, nr. 3). P. 155-174
7. Al Ustwani O., Kurzrock R., Wetzeler M. Genetics on a WHIM. *Br. J. Haematol.*, 2014, vol. 164, nr. 1, p. 15-23
8. Al-Herz W, Bousfiha A, Casanova JL, Chatila T, Conley ME, Cunningham-Rundles C, et al. Primary immunodeficiency diseases: an update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency. *Front Immunol.* 2014;5:162.
9. Amarioglio N., Lev A., Simon A. et al. Molecular assessment of thymus capabilities in the evaluation of T-cell immunodeficiency. *Pediatr. Res.* 2010, 67 (2): 211-216
10. Ameratunga R., Brewerton M., Sclade C. et al. Comparison of Diagnostic Criteria for Common Variable Immunodeficiency Disorder. *Front. Immunol.* 2014, vol. 5, p. 415-424
11. Andrieș L., Revenco N., Barba D. et al. Imunodeficiențele primare. Protocol Clinic Național PCN-336. ed.2, Tipografia Centrală, Chișinău, 2022, 60 p.
12. Andrieș L., Revenco N., Barba D. et al. Imunodeficiențele primare pentru medicii de familie, ed. 2, Tipografia Centrală, Chișinău, 2022, 2 p.
13. Azizi G., Khadem Azarian S., Nazeri S., et al. Monogenic Auto-inflammatory Syndromes: A Review of the Literature// *Iran J. Allergy Asthma Immunol.* 2016. Dec. (vol.15, nr.6) p. 430-444

14. Bonilla F. A., Khan D. A., Ballas Z. K., et al. Practice parameter for the diagnosis and management of primary immunodeficiency. *J. Allergy and Clinical Immunol.* 2015, 136 (5): p. 1186-1205
15. Carneiro-Sampaio M., Moraes-Vasconcelos D., Kokron C.M. et al. Primary immunodeficiency diseases in different age groups: a report on 1008 cases from a single Brazilian reference center. *J. Clin. Immunol.* 2013, 33 (4), p 716-724
16. Casanova J.L., Abel L. Human genetics of infectious diseases: unique insights into immunological redundancy. *Semin Immunol* 2018; 36: 1–12. DOI: 10.1016/j.smim.2017.12.008
17. Chen X.F., Wang W. F., Zhang Y.D. et al. Clinical Characteristics and genetic profiles of 174 patients with x-linked agammaglobulinemia: Report from Shanghai, China (2000-2015). *Medicine (Baltimore)*, 2016, vol. 95, nr.32., p. 4544-4562
18. Chandra S., Kalashnikova T., Wright NAM and Da'vila Saldaña BJ (2022) Primary Immunodeficiencies and Hematologic Malignancies: A Diagnostic Approach. *Front. Immunol.* 13:852937. doi: 10.3389/fimmu.2022.852937
19. Crow Y. J., Manel N. Aicardi- goutieres syndrome and the type I interferonopathies//*Nat. Rev. Immunol.* 2015. Vol.15, nr. 7. P. 429-440
20. De Sanctis S., Nozzi M., Del Toro M., et al. Autoinflammatory syndromes: diagnosis and management// *Ital. J. Pediatr.* 2010. Vol. 36. P. 57-64
21. Dereure O. A new auto-inflammatory genetic disease associated with cold urticaria: Plaid involving PLCG mutation//*Ann. Dermatol. Venerol.* 2015. nov. (vol.142, nr1). P.722-723
22. Delmonte, O. M. RAG deficiency: two genes, many diseases / O. M. Delmonte, C. Schuetz, L. D. Notarangelo // *J. Clin. Immunol.* – 2018. – Vol. 38, № 6. – P. 646–655
23. Douek D. C. et al. Changes in thymic function with age and during the treatment of HIV infection. *Nature*, 1998, 396 (6712): 690:5
24. El-Shanti H., Majeed H. A., El-Khateeb M. Familial mediterranean fever in Arabs//*Lancet.* 2006. Vol. 367. P.1016-1024
25. Erkoçoglu M., Metin A., Kaya A. et al. Allergic and autoimmune disorders in families with selective IgA deficiency. *Turk. J. Med. Sci* 2017, vol. 47, nr.2, p. 592-598
26. Farge D., Henegar C. et al. Analysis of immune reconstitution after autologous bone marrow transplantation in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 2005, 52 (5): 1555-1563
27. Fischer A. Human primary immunodeficiency diseases. *Immunity.* 2007;27(6): 835-45.
28. Gorducova M.A., Oskorbin I.P, Mishukova O.V. et al. Development of Real Time multiplex PCR for the quantitative determination of TREC's

- and KREC's in whole blood and in dried blood spots. *Medical Immunology* 2015, 17 (5), 467-478
29. Hernandez-Trujillo V.P., Scalchunes C., Cunningham X-linked agammaglobulinemia. *J. Clin. Immunol.* 2014, vol. 34, nr. 6, p. 627-632
 30. Jamilloux Y., Belot A., Magnotti F., et al. Geoepidemiology and Immunologic Features of Autoinflammatory Disease: a Comprehensive Review//*Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2018 jun. (vol. 54, nr. 3), p. 454-479
 31. Jongco A.M., Gough J.I., Sarnataro K. et al. X-linked agammaglobulinemia presenting as polymicrobial pneumonia, including *Pneumocystis jirovecii*, *Ann. Allergy, Asthma, Immunol.* 2014, vol. 112, nr.1, p. 74-75
 32. Lee-Kirsch M. A. The Type I Interferonopathies//*Annu. Rev. Med.* 2017, Jan. (vol.68). p. 297-315
 33. Lee-Kirsch M. A., Wolf C., Kretschmer S., et al. Type I interferonopathies-an expanding disease spectrum of immunodysregulation//*Semin. Immunopathol.* 2015, Vol. 37. P. 349-357
 34. Manthiram K., Zhou Q., Aksentijevich I., Kastern D.L. The monogenic autoinflammatory diseases define new pathways in human innate immunity and inflammation//*Nat. Immunol.* 2017, Jul. (vol. 18, nr.8), p. 832-842
 35. Montelegre Snches G.A., de Jesus A.A., Golbach-Mansky R., Monogenic autoinflammatory diseases: disorders of amplified danger sensing and cytokine dysregulation// *Rheum. Dis. Clin. North. Am.* 2013, vol. 39, nr.4, p. 701-734
 36. Notarangelo L.D. Primary immunodeficiencies (PIDs) presenting with cytopenias. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2009:139-43. doi: 10.1182/asheducation-2009.1.139. PMID: 20008192
 37. Ostring g. T., Singh-Grewal D., Periodic fevers and autoinflammatory syndromes in childhood//*J. Paediatr. Child. Health.* 2016, sep. (vol. 52, nr. 9), p. 865-871
 38. Ozen S., Bilinger Y. A clinical guides to autoinflammatory diseases: familial Mediterranean fever and next-of-kin//*Nat. Rev. Rheumatol.* 2014. Vol.10, p. 135-147
 39. Puck J.M. SCID Newborn Screening Working Group. Population-based newborn screening for severe combined immunodeficiency: steps toward implementation. *J. Allergy and Clin. Immunolog.* 2007, 120 (4): 760-768
 40. Quinn J., Modell V., Jordan S. et al. Growth diagnosis and treatment of primary immunodeficiency within the global Jeffrey Modell Centres network. *Allergy, Asthma and clinical Immunology*, 2022, vol. 18, nr. 19, p. 1289-1323
 41. Rösen-Wolff A, Soldan W, Heyne K, Bickhardt J, Gahr M, Roesler J. Increased susceptibility of a carrier of X-linked chronic granulomatous

- disease (CGD) to *Aspergillus fumigatus* infection associated with age-related skewing of lyonization. *Ann Hematol.* 2001; 80(2):113-5
42. Seidel M. G. Autoimmune and other cytopenias in primary immunodeficiencies: pathomechanisms, novel differential diagnoses, and treatment. *Blood.* 2014 Oct 9;124(15):2337-44. doi: 10.1182/blood-2014-06-583260. Epub 2014 Aug 27. PMID: 25163701; PMCID: PMC4192747
 43. Schepp J., Bulashevskaya A., Mannhardt-Laakmann W., et al. Deficiency of adenosine deaminase 2 causes antibody deficiency//*J. Clin. Immunol.* 2016. Vol. 36, nr. 3. P. 179-186
 44. Shcherbina A. Masks of primary immunodeficiency disorders: diagnostic and therapeutic problems. *Russian Journal of Children Hematology and Oncology* 2016; 3(1): 52-58
 45. Smith E. J., Allantaz F., Bennett L., et al. Clinical, Molecular, and Genetic Characteristics of PAPA Syndrome: A Review// *Curr. Genomics.* 2010, Nov. (vol. 11, nr.7), p. 519-527
 46. Standing A. S. I., Malinova D., Hong Y., et al. Autoinflammatory periodic fever, immunodeficiency, and thrombocytopenia (PFIT) caused by mutation in actin-regulatory gene *WDR1* // *J. Exp. Med.* 2017, Vol. 214, nr.1 p. 59-71
 47. Suspitsin E.N., Guseva M.N., Kostik M.M., et al. Next generation sequencing analysis of consecutive Russian patients with clinical suspicion of inborn errors of immunity. *Clin Genet.* 2020; 98(3):231—239. [https://DOI:10.1111/cge.13789](https://doi.org/10.1111/cge.13789)
 48. Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, et al: Human inborn errors of immunity: 2019 update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J.Clin Immunol* 40(1):24–64, 2020. doi: 10.1007/s10875-019-00737-x
 49. Volpi S., Picco P., Caursi F., et al. Type I interferonopathies in pediatric rheumatology// *Pediatr. Rheumatol. Online J.* 2016 Vol. 14 P. 35
 50. Yazdani R., Azizi G., Abolhassani H. et al. Selective IgA Deficiency: Epidemiology, Pathogenesis, Clinical Phenotype, Diagnosis, Prognosis and Management. *Scand. J. Immunol.* 2017, vol. 85, nr. 1, p. 3-12
 51. Yamashita M., Inoue K., Okano T., Morio T. Inborn errors of immunity – recent advances in research on the pathogenesis. *Infamm Regen* 2021; 41(1):9
 52. Кондратенко И.В., Бологов А.А. Первичные иммунодефициты. *M. IndexMed Media*, 2020, 791с
 53. Гурина И.В. Влияние генетических факторов на формирование бронхообструктивного синдрома и сочетание его с другой терапевтической патологией: Автореф. дис. ... к.м.н. Барнаул: Б.и.,2009:24
 54. Кузьменко Н.Б., Варламова Т.В., Мерсиянова И.В., Райкина Е.В., Бобрынина В.О., Щербина А.Ю. Молекулярно-генетическая диагностика

- первичных иммунодефицитных состояний. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2016; 15(1): 10–16. DOI: 10.20953/1726-1708-2016-1-10-16
55. Кузьменко Н.Б., Мухина А.А., Родина Ю.А. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. Современные методы пренатальной диагностики и неонатального скрининга на наследственные болезни: учебное пособие / Г.М. Исакова, Г.И. Лукманова, Ф.Ф. Мусыргалина и соавт.– Уфа, 2021; 20 (4): 125–133. DOI: 10.24287/1726-1708-2021-20-4-125-133 2016. – 75 с.
56. Тузанкина И.А., Дерябина С.С., Болков М.А. Первичные иммунодефициты в раннем возрасте. М.: Российская академия наук, 2018:175.

Anexa 1**Standardele de referință ale indicilor statusului imun la copii și adulții aparent sănătoși de diverse vârste**

Vârsta	1-3 luni	4-12 luni	12-24 luni	2-5 ani	6-8 ani	9-11 ani	12-15 ani	16-18 ani	Adulți
Eritrocite abs., 10⁶/l	3,8-5,4	3,8-5,13	3,7—5,0	3,9-5,1	4,0-5,2	4,0-5,2	4,1-5,3	4,1-5,3	4,0-5,1 B
Hemoglobina, g/l	110-140	110-135	110-135	115-135	115-155	115-155	120-160	132-164 B	132-164 B
Hematocritul, %	34-42	34-42	33-39	33-39	33-42	35-45	35-45	36-49	42-51 B
Trombocite, 10³/l	150-400	150-400	150-400	150-400	150-400	150-400	150-400	150-400	150-400
Leucocite, 10³/l	7-13	7-12	7-12	6,1-10	4,8-9	4,8-8	5,2-8	4,0-9,0	4,0-9,0
Granulocite %	18-36	20-40	23-43	34-56	43-59	43-59	45-61	48-78	48-78
Granulocite, abs.	1,26-4,68	1,4-4,8	1,6-5,1	2,0-5,6	2,0-5,3	2,0-4,7	2,3-4,8	2,040-5,8	2,040-5,8
Monocite, %	4-8	4-8	4-8	4-8	4-8	4-8	4-8	4-8	3-11
Monocite, abs.	285-500	285-500	285-500	285-500	285-500	285-500	285-500	90-600	90-600
Limfocite, %	55-78	45-79	44-72	38-64	36-43	36-43	36-43	19-37	19-37
Limfocite, abs.	2,9-8,8	3,6-8,8	2,18-8,27	2,4-5,81	2-2,7	2-2,7	2-2,7	1,2-3	1,2-3
CD3⁺ (T-total), %	55-78	45-79	53-81	62-80	66-76	66-76	66-76	55-80	55-80

	1-3 luni	4-12 luni	12-24 luni	2-5 ani	6-8 ani	9-11 ani	12-15 ani	16-18 ani	Adulți
CD3⁺ (T-total), abs.	2,07-6,5	2,2-6,4	1,46-5,44	1,61-4,23	1,4-2,0	1,4-2,0	1,4-2,0	0,8-2,2	0,95-1,8
CD4⁺ (T helper), %	41-64	36-61	31-54	35-51	33-41	33-41	33-41	31-51	31-51
CD4⁺ (T helper), abs.	1,4-5,1	1,7-4,6	1,0-3,6	0,9-2,8	0,7-1,1	0,7-1,1	0,7-1,1	0,6-1,6	0,57-1,1
CD8⁺ (T citotoxice), %	16-35	16-34	16-38	22-38	27-35	27-35	27-35	12-30	19-35
CD8, abs.	0,65-2,45	0,72-2,49	0,58-2,16	0,6-1,9	0,6-1,9	0,6-1,9	0,6-1,9	0,2-0,65	0,45-0,85
CD4/CD8	1,3-3,5	1,2-3,5	1,0-3,0	1,0-2,1	1,1-1,4	1,1-1,4	1,1-1,4	3-2,4	1,5-2
CD16, %	5,2-17,3	6,2-18,2	7,5-18,7	7,5-19,5	10,6-22,4	10,6-22,4	9,9-22,9	6-20	7-20
CD16, abs.	0,32-1,14	0,04-0,9	0,8-1,0	0,096-1,3	0,096-1,3	0,096-1,3	0,1-0,5	0,15-0,6	0,18-0,42
CD19+ LBm %	19-31	19-31	19,4-30,4	21-28	12-22	12-22	12-22	5-19	6-19
CD19+ LBm abs.	0,5-1,5	0,5-1,5	0,54-1,34	0,7-1,3	0,3-0,5	0,3-0,5	0,3-0,5	0,1-0,5	0,15-0,4
CH50	3,5-6,7	3,5-6,7	3,5-6,7	3,5-6,7	3,5-6,7	3,5-6,7	3,5-6,7	3,5-6,7	
IgG, g/l	3,3-9,1	3,2-12,8	4,6-14,6	8,8-15,4	9,7-11,7	9,4-16,6	9,7-20	4,7-16,2	7-16
IgA, g/l	0,1-0,2	0,09-0,72	0,1-1	0,3-1,5	0,9-1,9	0,9-2,9	1-2,3	0,6-2,6	0,7-4
IgM, g/l	0,4-1,2	0,15-1,73	0,6-1,8	0,8-1,6	0,8-1,9	0,6-2	0,6-2	0,5-2,1	0,4-2,3
IgE UI/ml	0-30	0-30	0-40	0-100	0-100	0-100	0-100	0-100	0-100