



Laboratoriediagnostik av CVID

Per Marits

Karolinska universitetssjukhuset



Diagnostiska verktyg vid CVID

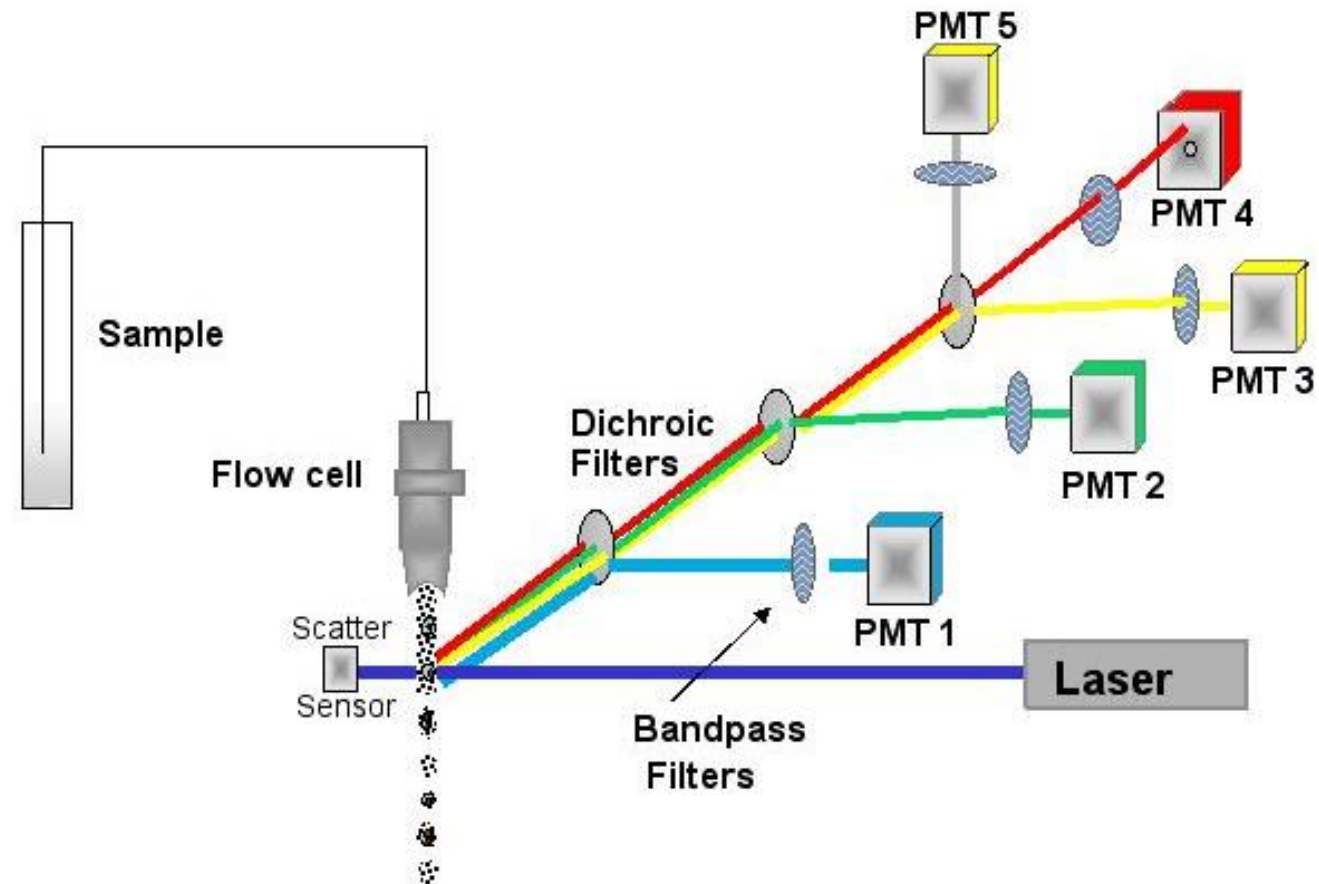
Immunglobuliner 😊

Flödescytometri

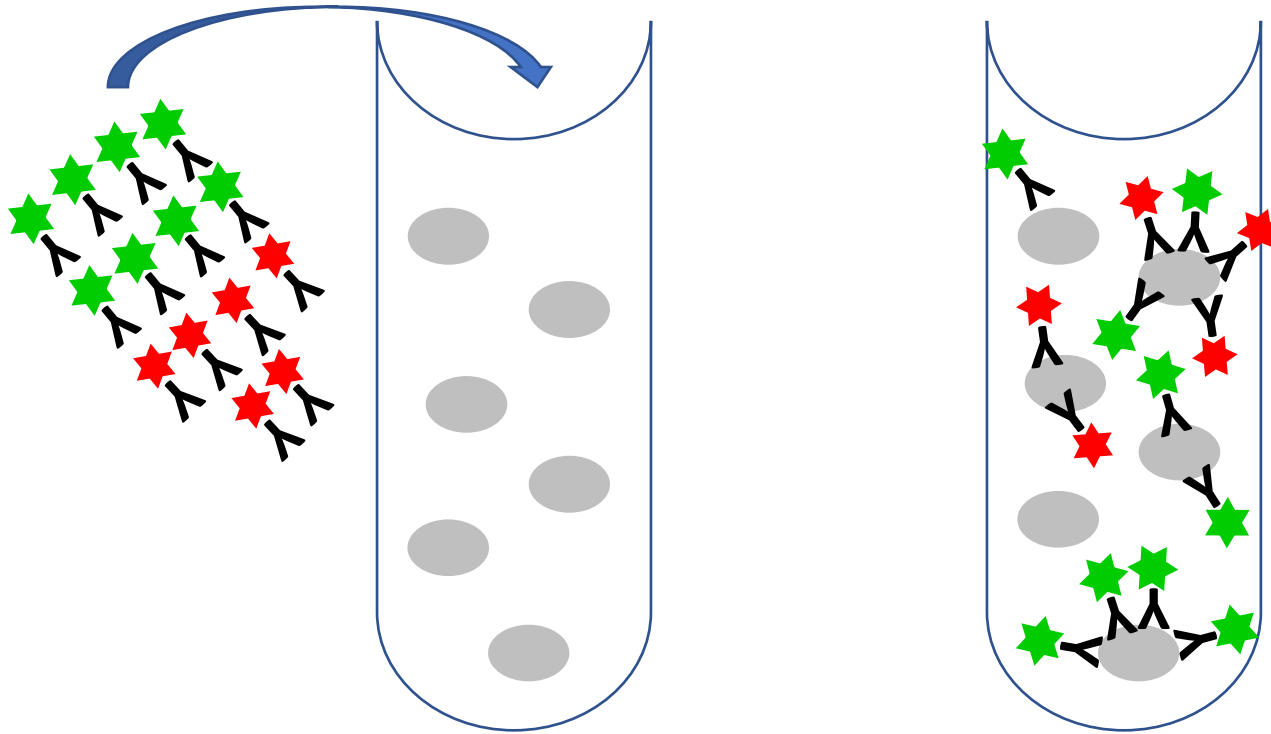
- Analys av lymfocytsubpopulationer
- Funktionella analyser

Genetisk diagnostik

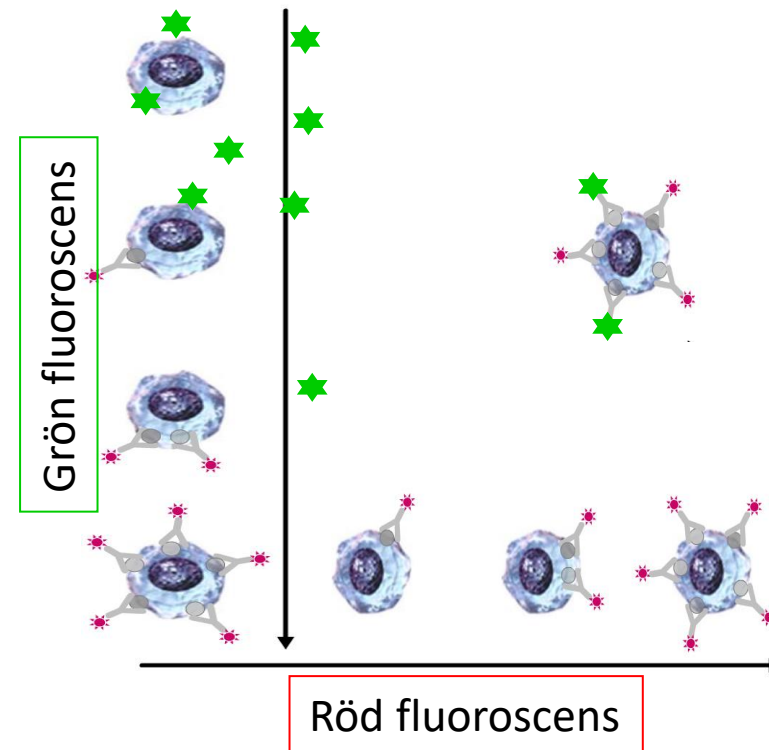
Flödescytometri



Fluorescens



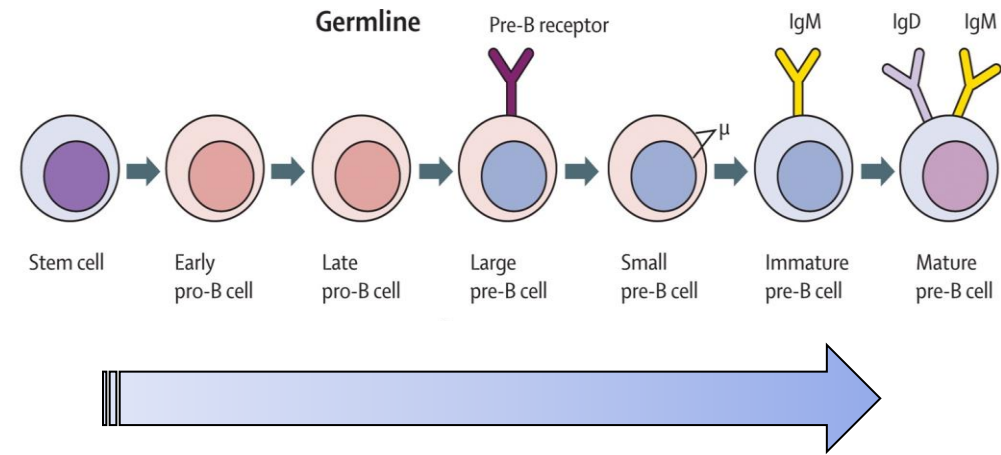
Fluorescens



Flödescytometriska analyser i klinisk rutin

- T- , B- och NK-celler (CD3, CD19, CD16/56)
- T-celler (CD3, CD4, CD8)
- Stamceller (CD34)
- **Analyser av subpopulationer av T- och B-lymfocyter**

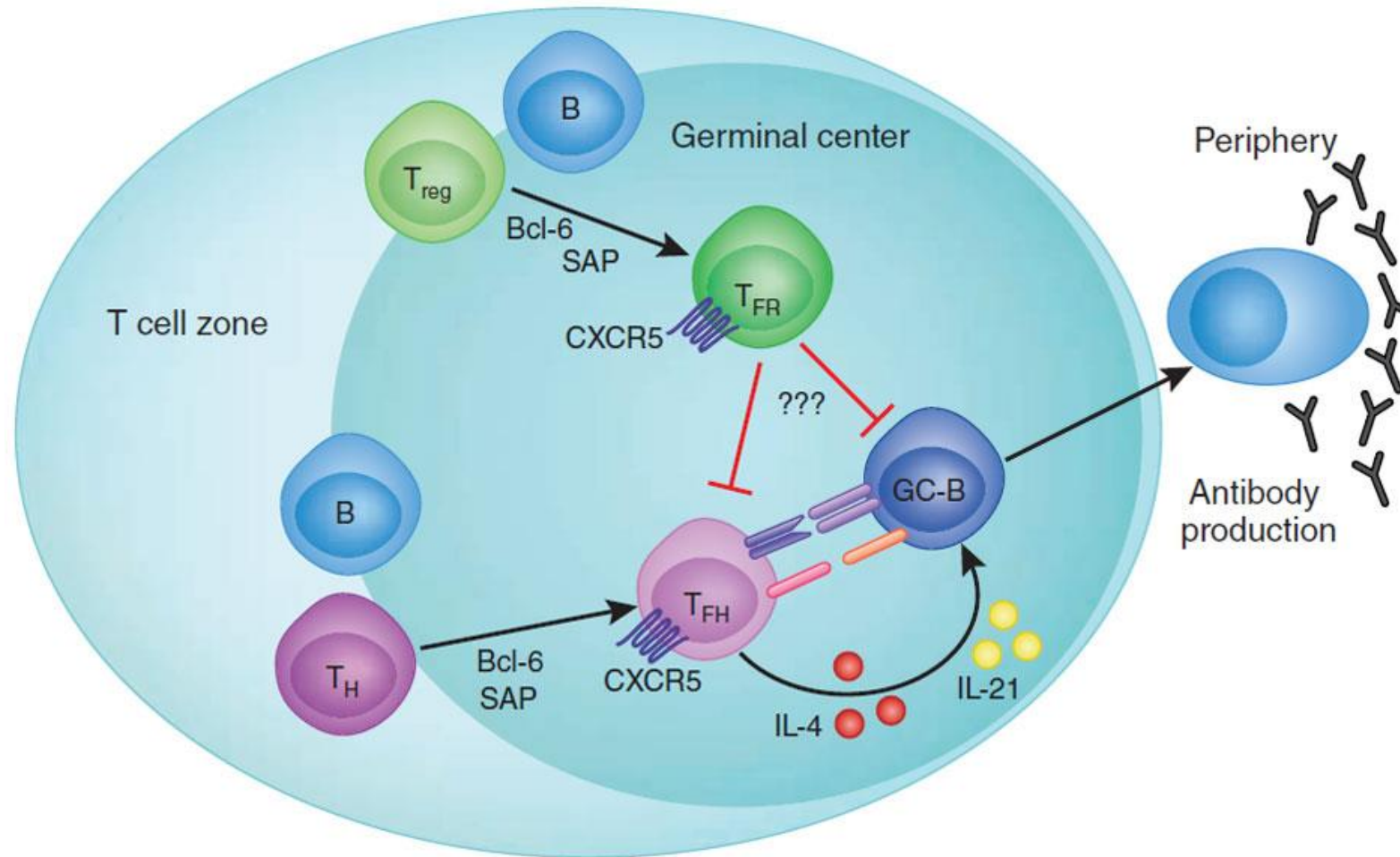
B-cellens utveckling i benmärgen



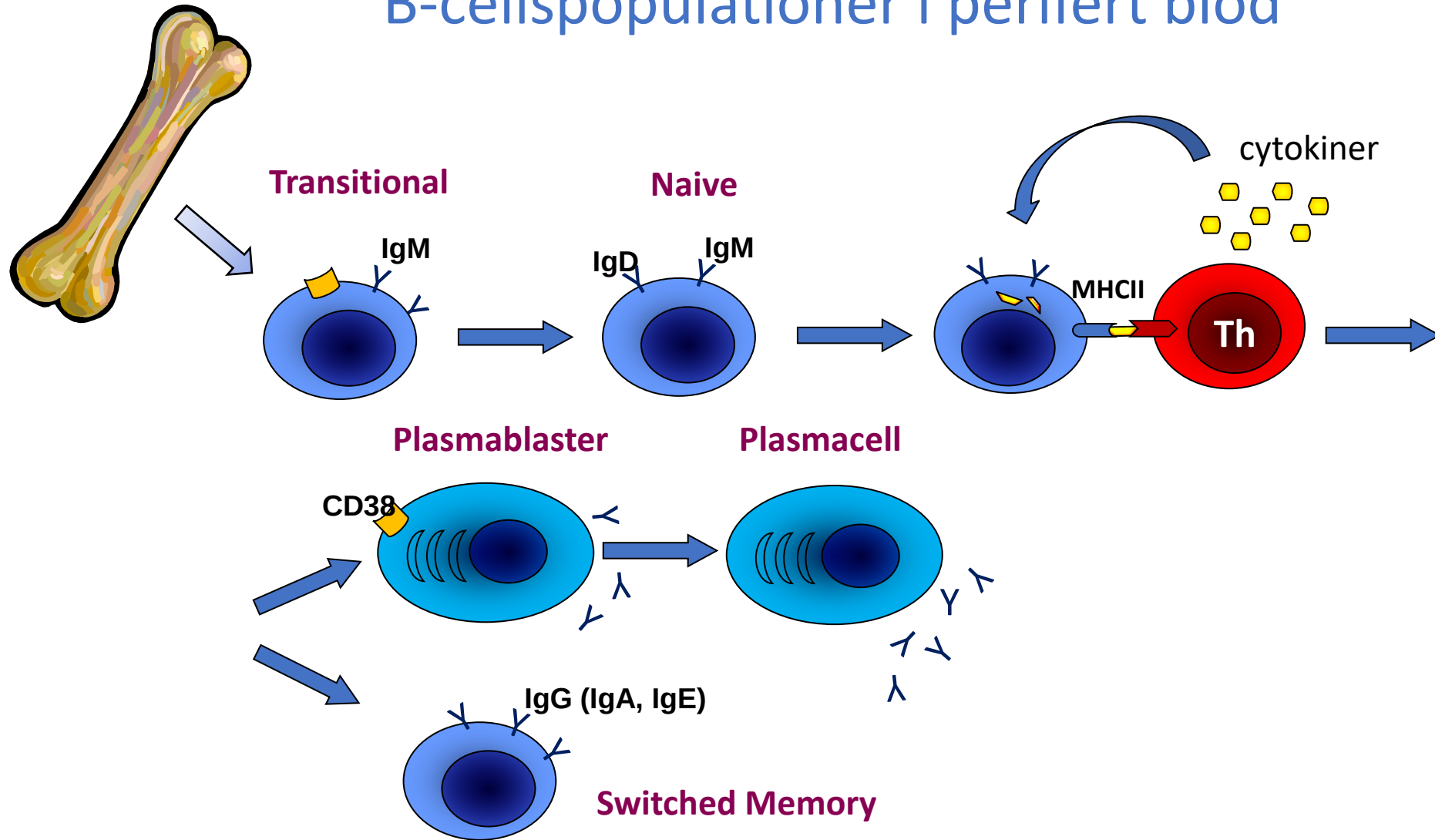
➤ Rearrangemang av genen för B-cellens antigenreceptor

➤ Deletion av kraftigt autoreaktiva B-celler

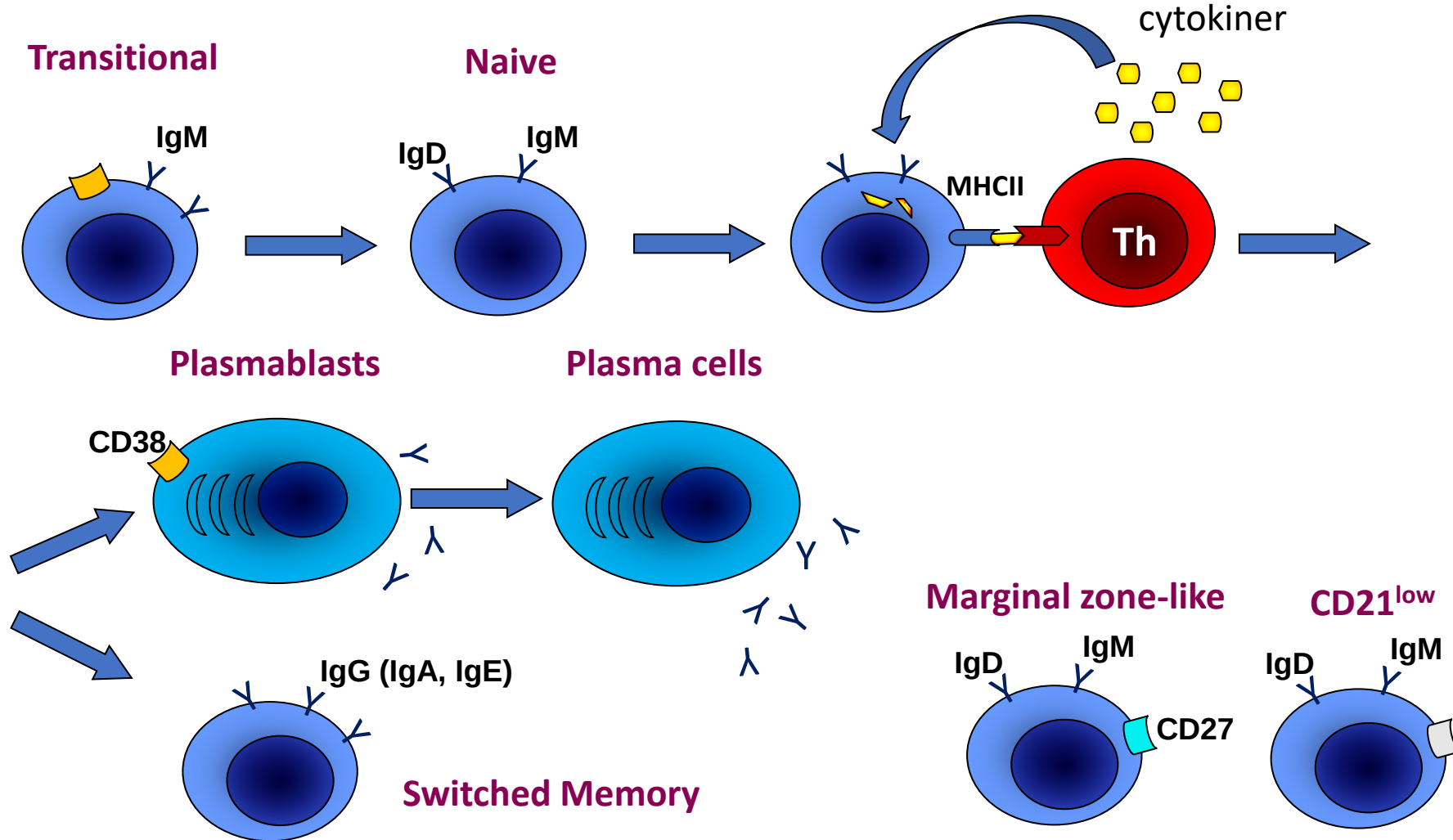
Naiva B-celler aktiveras av antigen i lymfkörtlar och mjälte



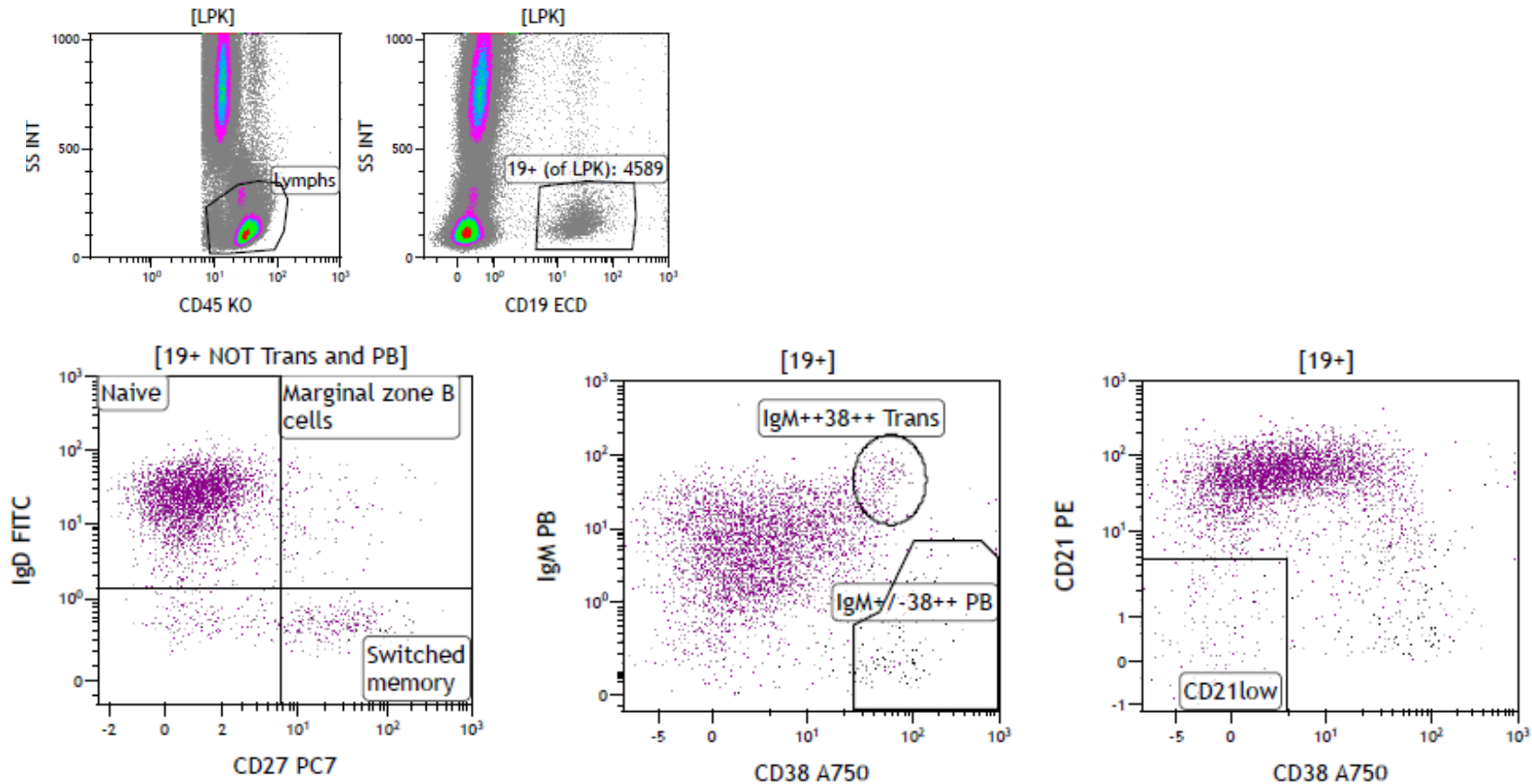
B-cell populationer i perifert blod



B-cell populationer i perifert blod



CVID-, eller "Freiburg"-panelen för B-cellssubpopulationer



Man född -82

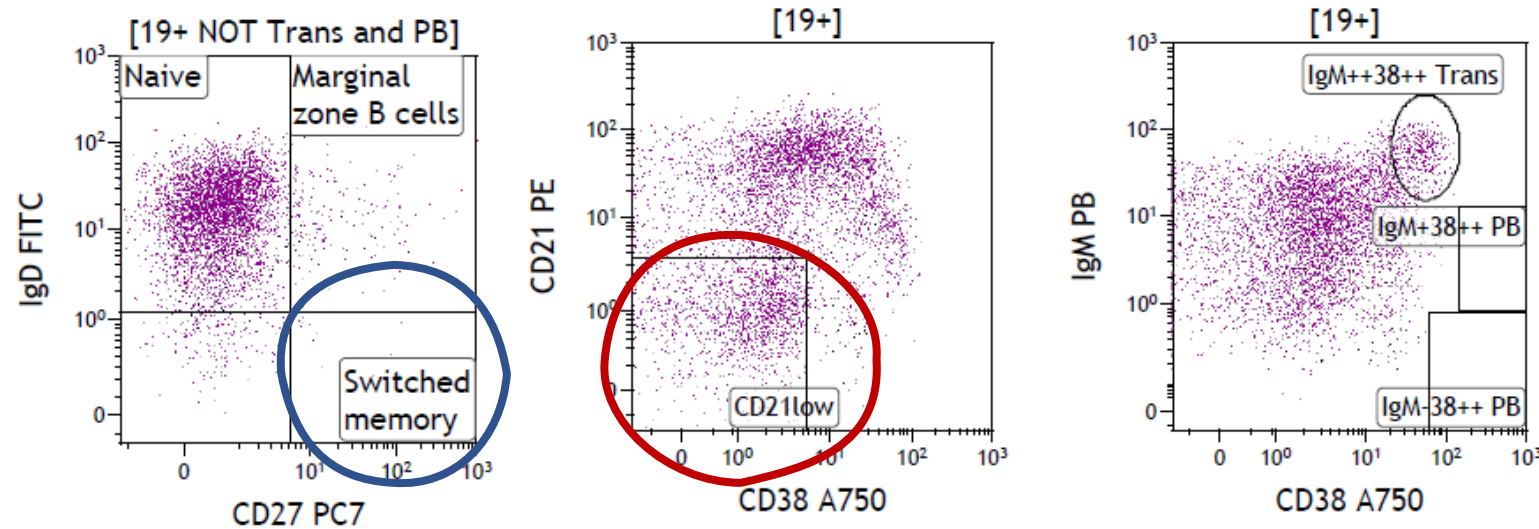
Hypogammaglobulinemi
upptäcks 2005

CVID-diagnos samma år. Redan då
lungförändringar, som senare
klassificeras som GLILD

2011 noteras splenomegali



Man f-82; analys av B-cellssubpopulationer



- **Switchade minnes B-celler** ↓ Markör för infektiösa komplikationer
- **CD21 low** ↑ markör för icke-infektiösa komplikationer (autoimmunitet, lymfoproliferation mm)
- Ökad andel **transitionella B-celler** kan ses hos vissa typer av CVID, exempelvis BAFF-R defekt



Vidare utredning och klinisk signifikans

Helgenomsekvensering påvisar en heterozygot
frameshift variant i NFKB1

Sangersekevensering av patientens föräldrar visar
att varianten är nedärvd från pappan

NFKB1 varianter har partiell penetrans med
avseende på CVID

Friska bärare har ofta låg andel switchade minnes-
B-celler men normal andel CD21-low B-celler

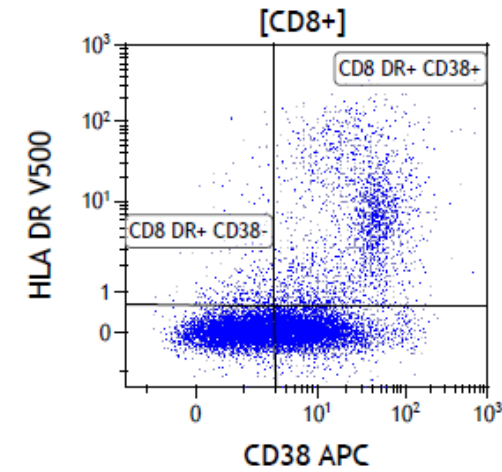
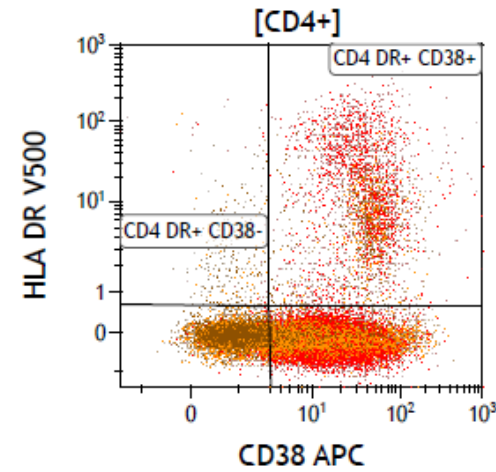
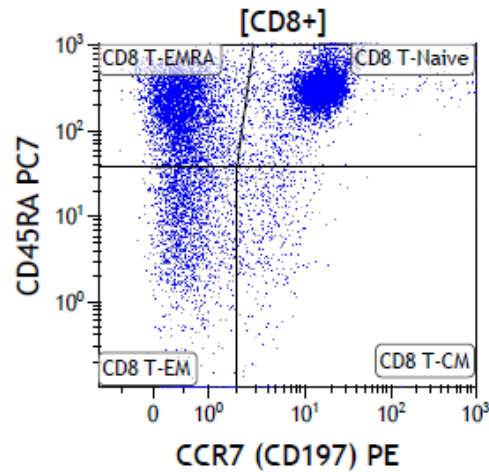
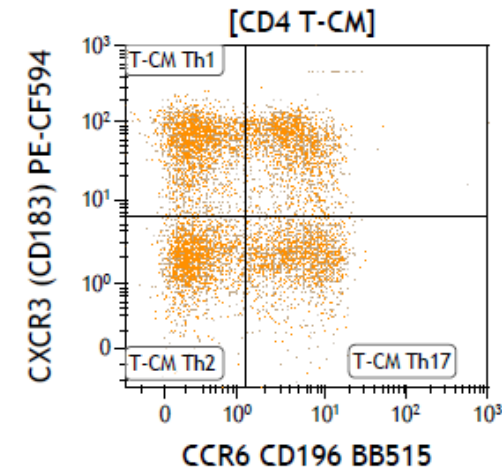
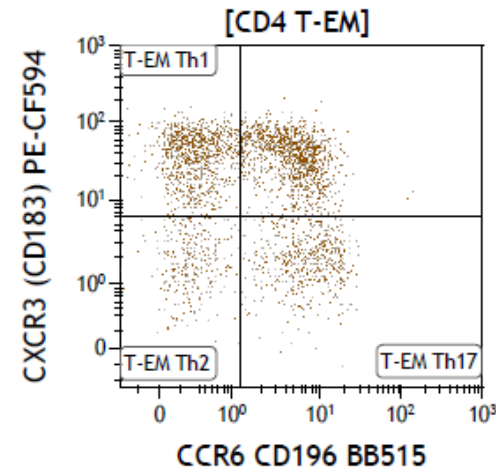
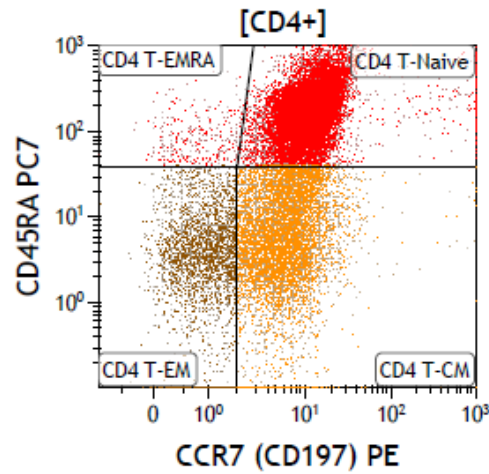
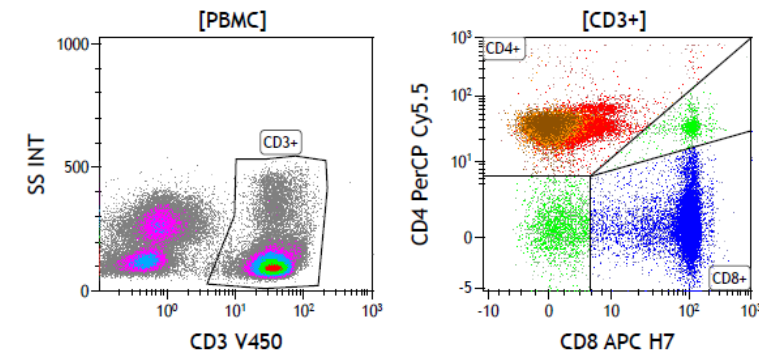
NFKB1 defekt är associerad med komplikationer
vid CVID, såsom autoimmunitet och GLILD



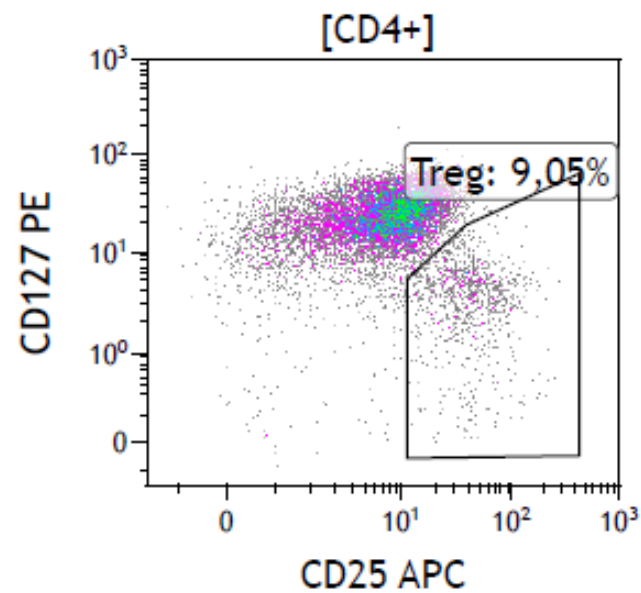
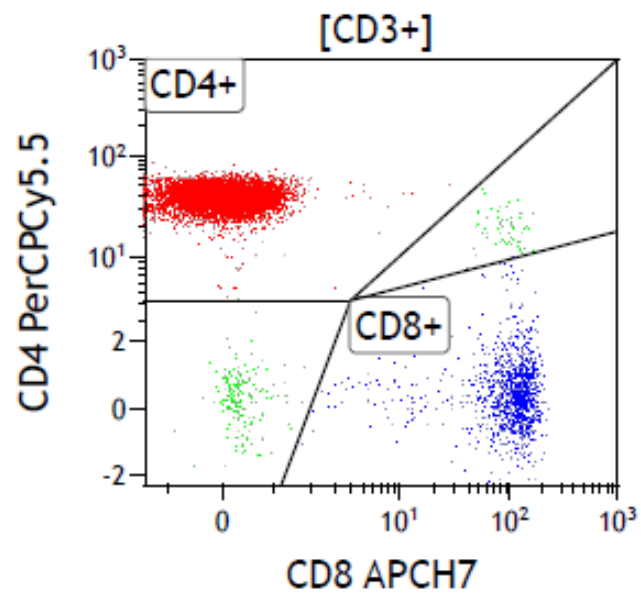
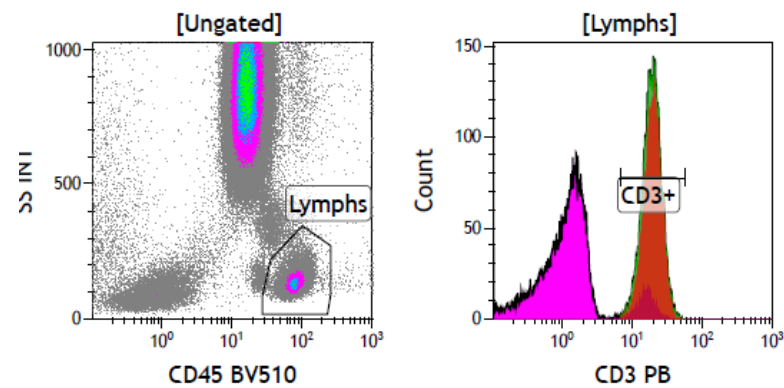
T-celler hos patienter med CVID

- **T-cellsanalys bör utföras vid CVID**
- För att utesluta annan (kombinerad) immunbrist /LOCID
- **Naiva CD4+ T-celler** kan vara låga hos vissa CVID-patienter och detta korrelerar med förekomst av autoimmunitet och lymfoproliferation
- **T regulatoriska celler** – mer omdiskuterat diagnostiskt värde – ev. markör för icke-infektiösa komplikationer
- Minskad andel naiva och ökad andel aktiverade (HLA-DR+ CD38+) **CD8+ T-celler** har också kopplats till icke-infektiösa komplikationer.

FITMAN-panelen för T-celler



T regulatoriska celler



Nationella rekommendationer för fenotypning av B- och T-cellssubpopulationer med flödescytometri vid misstanke om variabel immunbrist



- <https://www.kitm.se/flodecytometri/>
- För B-cellspopulationer är följande dokumenterat kliniskt viktiga att identifiera vid variabel immunbrist: switchade minnesceller (definierade som CD27+, IgD-, IgM-), aktiverade B-celler med lågt uttryck av CD21 och transitionella B-celler
- På T-cellssidan är det viktigt att i första hand identifiera naiva CD4+ T-celler
- Att identifiera regulatoriska T-celler med flödescytometri bedöms inte nödvändigt vid utredning av CVID. Om det finns utrymme i panelen kan i stället markör för alfa/beta T-cellsreceptor och/eller aktivitetsmarkörer CD38/HLA-DR inkluderas i panelen.
- Väldesignade paneler för immunfenotypning kan ge underlag för beslut om genetisk immunbristutredning och värdefull information om andra immunbristsjukdomar.



Funktionella analyser vid CVID

Generella:

- Specifika immunglobuliner
- *In vitro Ig produktion*
- T-cellsreaktivitet mot olika antigen

Specifika: verifiera fynd vid genetisk undersökning

Genetisk diagnostik - indikationer

1. CVID-patient med GLILD eller lymfoproliferation som är behandlingskrävande
2. CVID-patient med ovanlig och svår fenotyp
3. Immunbristpatient UNS med ovanlig och svår fenotyp
4. De flesta CVID-patienter som fått sin CVID-diagnos under 18 års ålder

Hereditet eller släktgifte stärker indikationen.

Många (majoriteten) av CVID-patienter har mjältförstoring och viss lymfoproliferation och i nuläget skickas inte samtliga av dessa för helgenomsekvensering.



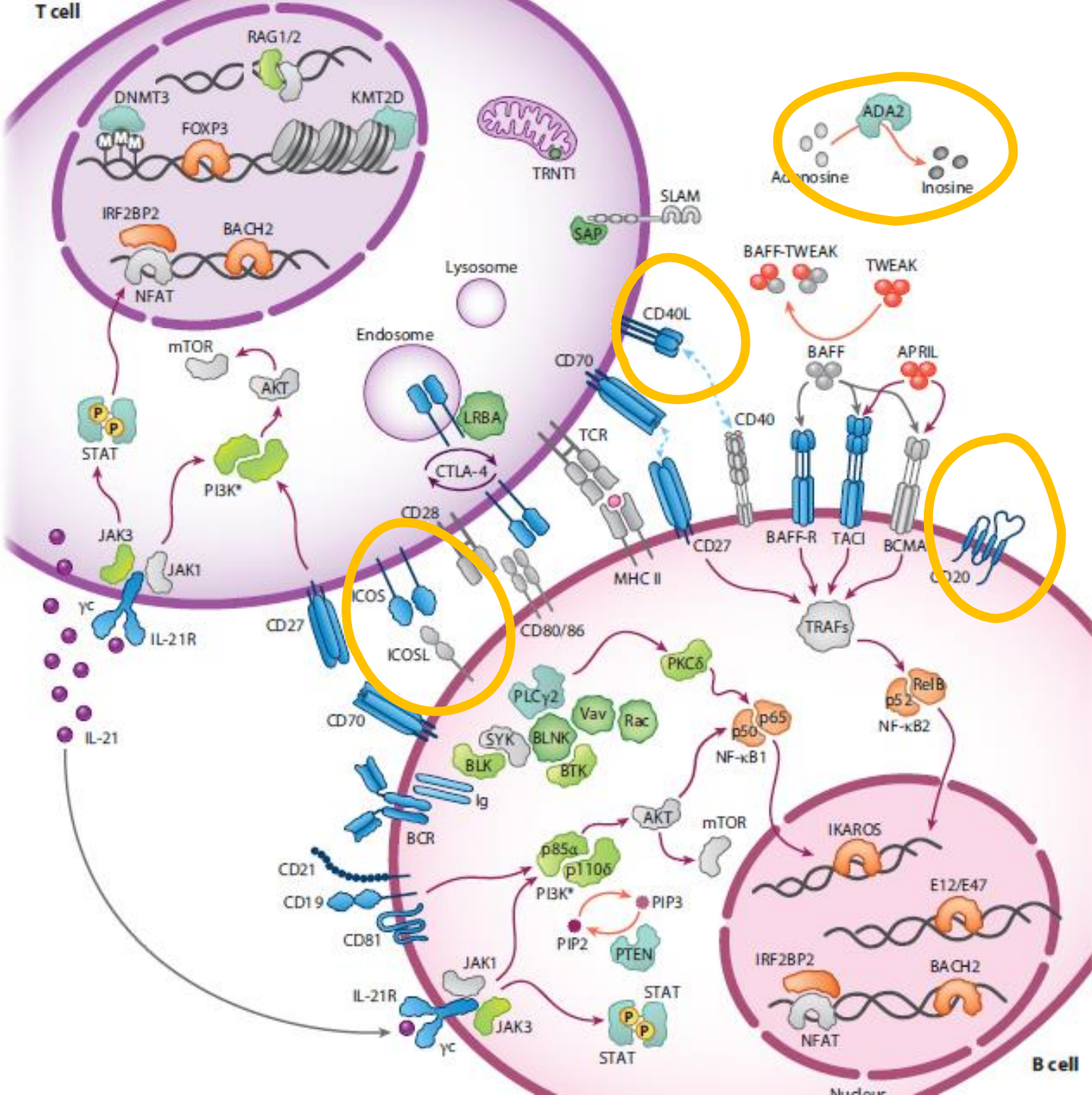
Verifiera genetiska fynd



HUR SÅG
LYMFOCYTPOPULATIONERNA UT?
STÄMMER DET MED LITTERATUREN?



FINNS DET NÅGOT TEST SOM (ENKELT)
KAN AVSPEGLA GENENS FUNKTION?
ICOS JFR MED NFKB1



Funktionella analyser...

Komplex patogenes

Utmanande för ett enskilt lab... samarbete!

Forskningsanalys vs klinik

Common Variable Immunodeficiency: More Pathways than Roads to Rome. Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis. 2023. 18:283–310

Tack!

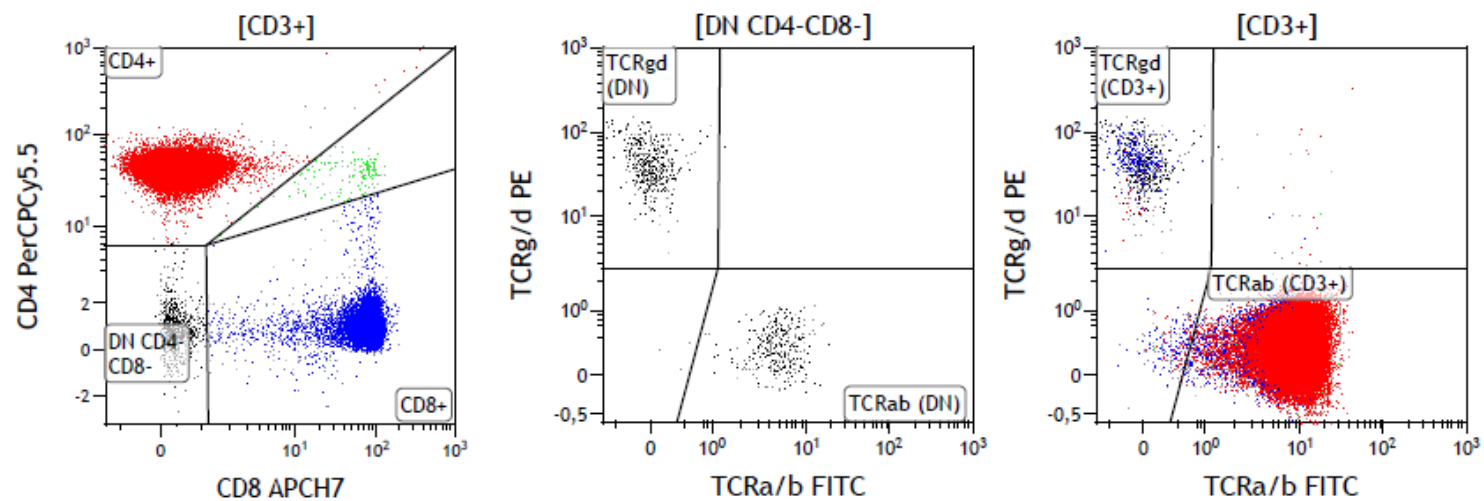
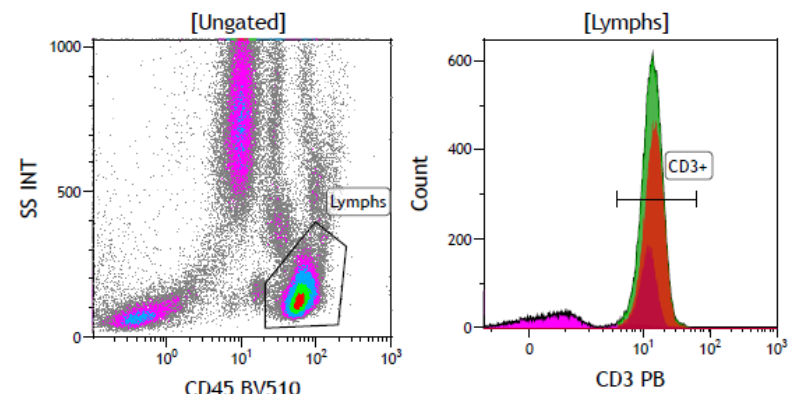
Helgenomgänget vid
Klinisk immunologi
Karolinska

- Sofie Vonlanthen
- Ann-Charlotte Wikström
- Malin Winerdal
- Peter Bergman
- Yen-an Bryceson
- Elina Erikson

EQUALIS Expertgrupp i
flödescytometri

- Åsa Johansson
- Olof Hultgren
- Mats Bemark
- Sofia Nyström
- Ida Bergström
- Elina Eriksson

TCR $\alpha\beta/\gamma\delta$



ANALYSIS	RESULT	LID	LIS
DN TCRab (% av CD3+)	0,645	1131251594QE	LC10
TCRab (% av CD3+)	97,84	1131251594QE	LC9
TCRgd (% av CD3+)	1,61	1131251594QE	LC8