

Znaczenie badania markerów powierzchniowych limfocytów B u dzieci z defektami biosyntezy przeciwciał

The importance of studying B-cell surface markers in children with defective biosynthesis of antibodies

ALEKSANDRA SZCZAWIŃSKA-POPŁONYK¹, HUSAM SAMARA², ANNA BRĘBOROWICZ¹, GRZEGORZ DWORACKI², LIDIA OSSOWSKA¹, AGATA KOLECKA²

¹ Klinika Pneumonologii, Alergologii Dziecięcej i Immunologii Klinicznej, III Katedra Pediatrii, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

² Zakład Immunologii, Katedra Immunologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Streszczenie

Wprowadzenie. Hipogammaglobulinemia u niemowląt i małych dzieci jest zaburzeniem o złożonej patogenecie oraz zróżnicowanej manifestacji klinicznej i rokowaniu. Defekt wytwarzania przeciwciał jest efektem działania różnych zewnętrznych i wewnętrznych czynników prowadzących do zaburzenia homeostazy limfocytów krwi obwodowej.

Cel. Zasadniczym celem pracy było dokładniejsze poznanie patomechanizmu hipogammaglobulinemii u niemowląt i małych dzieci. Celem dodatkowym przeprowadzonej analizy immunofenotypowej subpopulacji limfocytów B we krwi obwodowej było określenie jej przydatności diagnostycznej i zastosowania w aspekcie prognozowania przebiegu zaburzeń wytwarzania przeciwciał.

Materiał i metody. U 22 dzieci z hipogammaglobulinemią w zakresie IgG z lub bez niedoboru innych izotypów immunoglobulin, w wieku od 8 do 61 miesięcy (średnia 26 miesięcy, mediana 23 miesiące), chorujących na infekcje układu oddechowego, przeprowadzono analizę immunofenotypową różnicowania limfocytów B krwi obwodowej.

Wyniki. Nie stwierdzono w badanej grupie dzieci zaburzeń różnicowania prekursorów limfocytów B na etapie limfopoetycznej szpiczowej. We krwi obwodowej wykazano zwiększenie wartości względnej limfocytów B przejściowych u 13 spośród 22 dzieci (59%), istotnie częściej u dzieci z defektem wytwarzania immunoglobulin G i A ($p=0,039$) oraz zwiększenie wartości względnej plazmablastów u 16 dzieci (73%).

Wnioski. Hipogammaglobulinemia u niemowląt i małych dzieci związana jest z zaburzeniami dojrzewania subpopulacji limfocytów B krwi obwodowej. Analiza immunofenotypowa pozwala na wykluczenie defektów różnicowania prekursorów w szpiku kostnym i identyfikację zaburzeń dojrzewania limfocytów B krwi obwodowej i stąd powinna być niezbędnym elementem immunodiagnostyki niedoborów wytwarzania przeciwciał.

Słowa kluczowe: niedobór odporności, immunoglobuliny, limfocyty B, dzieci

Summary

Introduction. Hypogammaglobulinemia in infancy and early childhood is a disorder characterized by complex pathogenesis as well as diverse clinical manifestations and prognosis. Antibody production defect is a common result of the activity of various endo- and exogenous factors, leading to the disturbed peripheral blood lymphocyte homeostasis.

Aim of the study. The main purpose of the study was to elucidate the pathomechanism of hypogammaglobulinemia in infants and young children. The additional purpose of the flow cytometric immunophenotyping was to define its immunodiagnostic application and to enable prognosticating the process of development of antibody defects.

Material and methods. Immunophenotyping of peripheral blood B lymphocyte subsets was performed in twenty-two children with IgG hypogammaglobulinemia and with or without deficiency of other immunoglobulin isotypes, aged from 8 to 61 months, suffering from recurrent respiratory tract infections.

Results. Disorders of differentiation of B lymphocyte precursors at the stage of bone marrow lymphopoiesis were not identified in the study group. Increased proportion of transitional B cells was noted in peripheral blood in 13 of 22 children (59%); the increase was significantly more frequent in children with defects of immunoglobulin G and A production ($p=0,039$); besides, increased relative value of plasmablasts was detected in 16 children (73%).

Conclusions. Hypogammaglobulinemia in infants and young children is associated with impaired maturation of peripheral blood B lymphocyte subpopulations. Flow cytometric immunophenotyping facilitates elimination of differentiation disorders of B lymphocyte precursors in bone marrow and identification of peripheral blood B cell maturation defects. Therefore, the immunophenotyping should be an indispensable element of immunodiagnostic procedures used to detect antibody production deficiencies.

Keywords: immunodeficiency, immunoglobulins, B lymphocytes, children

WPROWADZENIE

Spośród pierwotnych niedoborów odporności (PNO) u dzieci zaburzenia wytwarzania przeciwciał stanowią najliczniejszą grupę, odpowiedzialną za ponad 50% wszystkich schorzeń. Defekty biosyntezy przeciwciał obejmują niedobory odporności heterogenne pod względem patogenez, przebiegu klinicznego oraz rokowania. Są one efektem działania zróżnicowanych zewnętrznych i wewnętrznych czynników prowadzących do zaburzenia homeostazy limfocytów krwi obwodowej [1,2].

Podczas ontogenezy stadia rozwojowe limfocytów B należących do przedziału krwi obwodowej obejmują zależne od wieku dziecka różnicowanie i dojrzewanie, którym towarzyszy ekspresja specyficznych antygenów powierzchniowych i wewnątrzkomórkowych [3]. Te precyzyjnie regulowane, wieloetapowe procesy zapoczątkowane poprzez limfopoezę szpikową kontynuowane są następnie w obwodowych narządach limfatycznych – grudkach chłonnych i ośrodkach rozmnażania w śledzionie i węzłach chłonnych, jak również w strefie brzeżnej śledziony, determinując zróżnicowany skład subpopulacji limfocytów B obecnych we krwi obwodowej [4]. Po opuszczeniu szpiku kostnego limfocyty B są homogenne morfologicznie, jednak ich powierzchniowy immunofenotyp, lokalizacja anatomiczna i właściwości czynnościowe są złożone, a analiza markerów powierzchniowych metodą cytometrii przepływową dodatkowo wykazuje ich znaczącą kompleksowość [5]. Z punktu widzenia stopnia dojrzałości limfocyty B krążące we krwi obwodowej mogą być podzielone na następujące subpopulacje: niedojrzałe/przejściowe, naiwne, komórki B pamięci oraz plazmablasty/plazmocyty. Najbardziej niedojrzałe limfocyty B w przedziale krwi obwodowej, limfocyty B przejściowe, określane także jako limfocyty opuszczające szpik kostny (*recent bone marrow emigrants*, RBE) charakteryzują się ekspresją powierzchniowych immunoglobulin sIgD i sIgM, antygeny CD10 i równocześnie dużą ekspresją antygenów CD24 i CD38 oraz nieobecnością CD27 [4]. Niedojrzałe limfocyty B odpowiadają na antygeny grasicznie niezależne (*T cell – independent antigens*, TI), takie jak bakteryjne lipopolisacharydy, silne mitogeny limfocytów B, które wywołują szybką odpowiedź związaną z przeciwciałami bez podlegającej restrikcji MHC (*major histocompatibility complex*, główny układ zgodności tkankowej) pomocy limfocytów T [6]. Limfocyty B naiwne stanowią pulę identyfikowaną w oparciu o cytometrię przepływową jako IgD+IgM+CD10-CD27-CD38+/-, krążącą we krwi obwodowej i przechodzącą do węzłów chłonnych, gdzie ulegają aktywacji przez antygenowo-specyficzne limfocyty T i migrują do ośrodków rozmnażania (*germinal center*, GC). Tam limfocyty B proliferują, podlegają hipermutacjom somatycznym (*somatic hypermutation*, SH) w regionach IG, przełączeniu klas syntezyzowanych izotypów poprzez rekombinację łańcucha ciężkiego immunoglobulin (IgH) (*class switch recombination*, CSR) oraz dojrzewaniu powinowactwa receptora (*B-cell receptor*, BCR) do antygeny dla rozwoju limfocytów B pamięci [7]. Posługując się antygenem CD27 jako markerem komórek B pamięci immunologicznej [8] wyróżnić można limfocyty B naiwne IgD+CD27- oraz

limfocyty B pamięci CD27+, które z kolei mogą być dalej podzielone na IgD+ (zwykle również IgM+) nieprzełączone albo limfocyty B strefy brzeżnej śledziony (*marginal zone B lymphocytes*, MZL) [9] oraz IgD- (najczęściej IgG+ lub IgA+) limfocyty B po przełączeniu klas [10,11]. Terminalnie zróżnicowane limfocyty B pamięci obejmują subpopulację plazmablastów CD19+CD24-CD38+CD138- oraz plazmocytów CD19+CD24-CD38+CD138+, recyrkulujących w stanie równowagi pomiędzy przedziałami krwi obwodowej i szpiku kostnego, które są najważniejszym źródłem przeciwciał o dużym powinowactwie do antygenów.

Zasadniczym celem pracy było dokładniejsze poznanie i lepsze zrozumienie patomechanizmu hipogammaglobulinemii u niemowląt i małych dzieci. Celem szczegółowym badania było określenie przydatności analizy immunofenotypowej subpopulacji limfocytów B we krwi obwodowej i oceny procesów różnicowania i dojrzewania limfocytów B do identyfikacji specyficznych defektów adaptacyjnej odpowiedzi immunologicznej przyczyniających się do zaburzeń wytwarzania przeciwciał oraz do prognozowania przebiegu choroby.

MATERIAŁ I METODY

Grupa badana

Badaniem objęto grupę 22 dzieci (17 chłopców i 5 dziewczynek) w wieku od 8 do 61 miesięcy (średnia 26 miesięcy, mediana 23 miesiące) diagnozowanych w pediatrycznej klinice pneumonologii, alergologii i immunologii uniwersytetu medycznego w kierunku pierwotnego niedoboru odporności z powodu nawracających infekcji układu oddechowego. Projekt badawczy został zaakceptowany przez uniwersytecką Komisję Bioetyczną. Zgodnie z Deklaracją Helsińską podpisaną w 1975 roku i opracowaną ponownie w 1983 roku, przed przystąpieniem do badania uzyskano od rodziców pisemną świadomą zgodę na uczestnictwo. Kryterium włączenia do badania stanowiła hipogammaglobulinemia w zakresie IgG lub więcej klas głównych immunoglobulin w surowicy w odniesieniu do normy wiekowej (ryc. 1). Kryteria wyłączenia z badania stanowiło wcześniactwo, które predysponuje do opóźnienia wytwarzania immunoglobulin, wiek poniżej 6 miesięcy życia, kiedy to w surowicy dziecka stwierdza się dominujące IgG pochodzenia matczynego w wyniku transferu przezłożyskowego, a także współistniejące schorzenia – mukowiscydoza, refluks żołądkowo-przełykowy oraz wady rozwojowe układu oddechowego, które stanowią czynniki ryzyka nawracających infekcji układu oddechowego.

Przygotowanie komórek i immunofenotypowanie

Próbki krwi żyłnej w objętości 2 ml pobierane były od pacjentów na czczo, w godzinach rannych do probówek z antykoagulantem (kwas etylenodiaminotetraoctowy, EDTA-K2), transportowane i przechowywane w temperaturze 4-8°C i podlegały dalszemu przetworzeniu w ciągu 24 godzin. Do znakowania komórek stosowano następujące mysie przeciwciała monoklonalne związane z fluorochromami: anti-CD45 FITC (fluoresceine isothiocyanate,

izotiocyjanian fluoresceiny), anti-CD14 PE (phycoerythrin, fikoerytryna), anti-CD19 PE, anti-CD19 PerCP (peridinin chlorophyll protein, białko peridynowo-chlorofilowe), anti-IgM FITC, anti-IgD FITC, anti-CD38 APC (allophycocyanin, allofikocyjanina), anti-CD27 PE, anti-CD21 FITC (Beckton-Dickinson, USA). Badane próbki krwi zmieszano z przeciwciałami i inkubowano w ciemnej komorze przez 15 minut, następnie w celu hemolizy erytrocytów i utrwalenia barwienia immunofluorescencyjnego inkubowano próbki w roztworze powodującym lizę komórek (FACS Lysing Solution, Beckton-Dickinson, USA). Następnie komórki dwukrotnie odwirowano i zawieszono w soli fizjologicznej buforowanej fosforanami (PBS, Roche, Niemcy). Próbki poddawano akwizycji i analizie przy użyciu cytometru przepływowego FACSCanto i oprogramowania FACSDiva (Beckton-Dickinson, USA). Metodą sekwencyjnego bramkowania na rozrzutach dwuparametrycznych zidentyfikowano następujące subpopulacje komórek: limfocyty CD45^{hi}CD14⁻, komórki B pamięci CD19⁺CD27⁺, limfocyty B naiwne CD19⁺CD27⁻, limfocyt B pamięci nieprzełączone / limfocyty B strefy brzeżnej CD19⁺CD27⁺IgD⁺, limfocyty B przejściowe CD19⁺CD38^{hi}sIgM^{hi}, plazmablasty C19⁺CD38⁺sIgM⁻ oraz limfocyty B niedojrzałe CD19⁺CD21^{lo}. Obliczono wartości względne limfocytów krwi obwodowej, limfocytów B wśród limfocytów oraz poszczególnych subpopulacji wśród limfocytów B. Liczbę bezwzględną każdej z subpopulacji komórkowych obliczono na podstawie liczby bezwzględnej leukocytów otrzymanej z analizatora SYSMEX XT 2000i. Analizę porównawczą przeprowadzono z grupą 111 dzieci zdrowych w wieku od 5 miesięcy do 5 lat, których wyniki badania immunofenotypowego limfocytów B krwi obwodowej, przeprowadzonego przez Piątosę i wsp. [12] były podstawą do opracowania wartości referencyjnych dla populacji pediatrycznej w różnych grupach wiekowych.

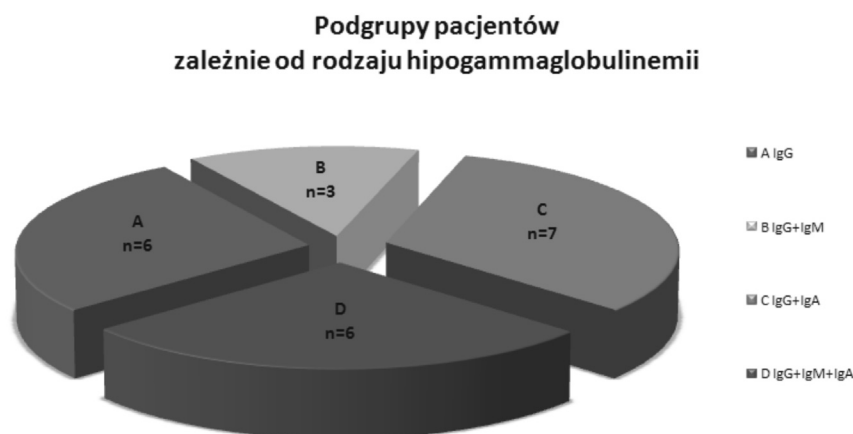
Analiza statystyczna

Dla zbadania zależności pomiędzy stężeniem immunoglobuliny G a wartościami względnymi i bezwzględnymi subpopulacji limfocytów B u badanych dzieci zastosowano test rang Spearmana i wyznaczono współczynnik korelacji rang Spearmana rho, który przyjmuje wartości od -1 do 1 oraz poziom jego istotności p; za istotne statystycznie przyjęte są wartości p<0,05. Obliczeń dokonano przy pomocy programu Statistica v9 firmy Statsoft.

WYNIKI

U 21 dzieci w przedziale krwi obwodowej obecne były komórki opuszczające szpik kostny – limfocyty B niedojrzałe CD19⁺CD21^{lo}, natomiast u jednego dziecka komórek tych nie zidentyfikowano. Ich wartość względna oraz liczba bezwzględna mieściły się w normie dla wieku u 18 badanych dzieci. U dwojga dzieci była zwiększona, a u jednego dziecka zmniejszona liczba bezwzględna tych komórek przy prawidłowej wartości procentowej, natomiast u jednego dziecka zwiększeniu wartości procentowej nie towarzyszyło zwiększenie liczby bezwzględnej. Wymienione odchylenia w zakresie odsetka i wartości bezwzględnej limfocytów B niedojrzałych nie były zależne od stężenia IgG w surowicy (rho 0,010 i -0,198, odpowiednio; p 0,966 i 0,378, odpowiednio).

Pośrednie stadium dojrzewania pomiędzy niedojrzałymi a dojrzałymi komórkami B jest reprezentowane przez limfocyty B przejściowe, których wartość procentowa zwiększona była u 13 dzieci (59%) spośród wszystkich dzieci z grupy badanej, przy czym w sześciu przypadkach liczba bezwzględna tych komórek mieściła się w normie wiekowej. Nie stwierdzono zależności pomiędzy wartością względną (rho 0,093, p 0,681) i wartością bezwzględną



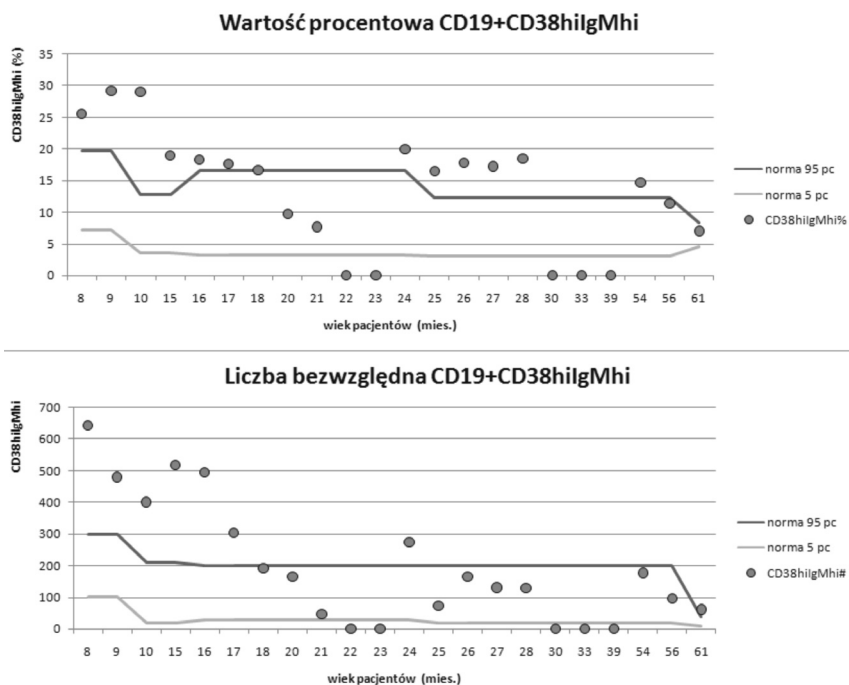
Ryc. 1. Podział dzieci z grupy badanej na podgrupy zależnie od rodzaju hipogammaglobulinemii

(rho -0,014, p 0,950) limfocytów B przejściowych a stężeniem IgG w surowicy. Aż sześciorgo dzieci, u których wartość względna limfocytów B przejściowych była zwiększona manifestowało niedobór klas głównych immunoglobulin G i A, a różnica pomiędzy tą grupą dzieci a dziećmi wykazującymi pozostałe rodzaje hipogammaglobulinemii była statystycznie istotna (p=0,039). U pięciorga dzieci nie stwierdzono ekspresji antygenu CD38 na limfocytach B (ryc. 2).

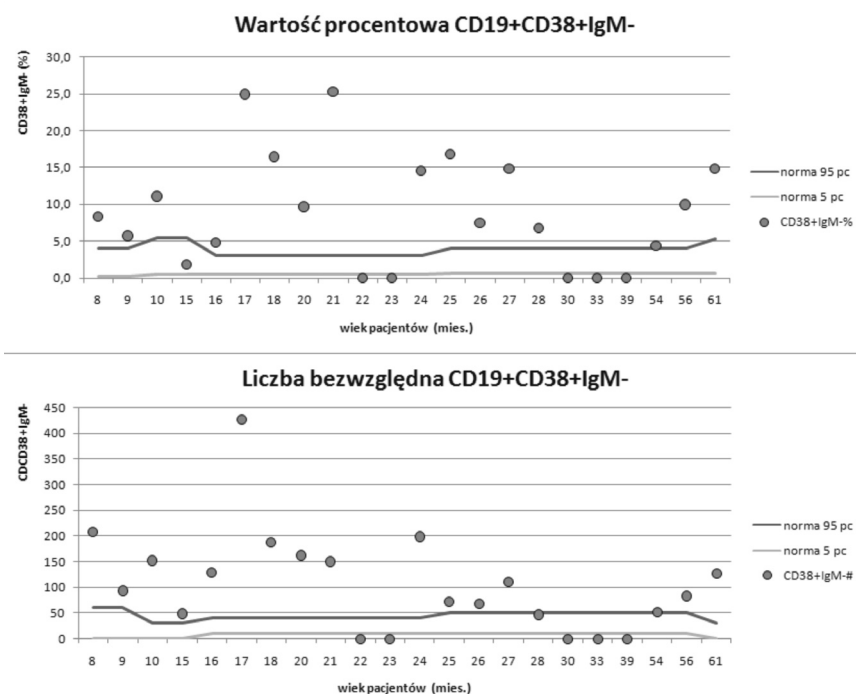
W badaniu limfocytów B naiwnych u sześciorga dzieci z grupy badanej (27%) odnotowano zmniejszoną wartość

procentową, a u dwojga zmniejszoną liczbę bezwzględną tych komórek. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy stężeniem IgG a odsetkiem i liczbą limfocytów B naiwnych (rho 0,029 i 0,021, odpowiednio; p 0,897 i 0,926, odpowiednio).

Wartość procentowa całkowitej puli limfocytów B pamięci była zwiększona w stosunku do normy wiekowej u sześciorga, zaś liczba bezwzględna – u trojga dzieci (27% i 13,5% wszystkich dzieci, odpowiednio). Z kolei wartość procentowa limfocytów B pamięci IgD+ (MZL) była zmniejszona w stosunku do wartości referencyjnych u czworga



Ryc. 2. Wartość względna (procentowa) i liczba bezwzględna limfocytów B przejściowych CD19+CD38hiIgMhi w badanej grupie dzieci



Ryc. 3. Wartość względna (procentowa) i liczba bezwzględna plazmablastów CD19+CD38+IgM- w badanej grupie dzieci

dzieci w wieku poniżej 2 lat. Nie stwierdzono zależności pomiędzy analizowanymi wartościami puli limfocytów B pamięci procentową (ρ 0,124, p 0,583) i bezwzględną (ρ 0,118, p 0,601) a stężeniem IgG w surowicy.

Analiza populacji plazmablastów wykazała, że aż u 16 dzieci z badanej grupy (73%) zwiększona była wartość względna tych komórek i ich liczba bezwzględna. Natomiast u pięciorga dzieci brak ekspresji antygenu CD38 na limfocytach nie pozwolił na identyfikację plazmablastów we krwi obwodowej. Obserwowane zjawisko nie cechowała istotna statystycznie zależność od stężenia IgG w surowicy ani rodzaju hipogammaglobulinemii (ρ 0,011 i 0,019, odpowiednio; p 0,960 i 0,932, odpowiednio) (ryc. 3).

DYSKUSJA

Dynamiczny rozwój i dojrzewanie układu odpornościowego w dzieciństwie implikuje znaczące różnice dotyczące zarówno wielkości bezwzględnej puli limfocytów, jak i w zakresie względnych wartości poszczególnych subpopulacji i ich stosunku względem siebie. W interpretacji badań cytometrycznych należy uwzględnić nie tylko kryterium wiekowe, z którym związane są istotne zmiany składu i wzajemnych proporcji elementów puli limfocytów, ale także inne czynniki, takie jak zakażenia czy stosowane leczenie immunosupresyjne. Po urodzeniu liczba bezwzględna limfocytów zwiększa się około 1,3-krotnie i pozostaje względnie stała do wieku około 2 lat, odkąd stopniowo zmniejsza się trzykrotnie do wieku dorosłego, a podobną dynamiką cechuje się także populacja limfocytów B CD19⁺ [4]. Zjawiska te mają istotne biologiczne znaczenie w okresie wczesnego dzieciństwa, odzwierciedlają bowiem nabywanie kompetencji immunologicznej. Szczegółowa analiza stadiów dojrzewania limfocytów B także wykazuje zmiany składu subpopulacji tych komórek zależne od wieku i najbardziej intensywne w ciągu pierwszych pięciu lat życia dziecka. Wzrastający kontakt antygenowy prowadzi do zmniejszenia liczby i wartości względnej niedojrzałych i naiwnych limfocytów B. W odniesieniu do komórek B pamięci, zarówno nieprzełączonych o fenotypie CD27⁺IgD⁺, jak i po przełączeniu klas, o fenotypie CD27⁺IgD⁻ obserwuje się bardziej złożoną dynamikę. Wartość procentowa obu subpopulacji oraz liczba bezwzględna komórek B pamięci po przełączeniu klas powoli rośnie, natomiast liczba bezwzględna limfocytów B pamięci nieprzełączonych zmniejsza się we wczesnym dzieciństwie [13]. Z kolei wartość procentowa komórek o fenotypie CD19⁺CD24⁻CD38⁺IgM⁻, reprezentujących plazmablasty we krwi obwodowej, nie wykazuje tendencji do zmian w różnych grupach wiekowych [4].

W badanej grupie dzieci z hipogammaglobulinemią wartość procentowa limfocytów B pamięci CD19⁺CD27⁺ była zmniejszona u dwojga dzieci w wieku 15 i 16 miesięcy, przy czym u żadnego z tych dzieci nie wykazano zmniejszenia liczby bezwzględnej tych komórek w stosunku do wartości referencyjnych odpowiednich dla wieku. Zwiększenie wartości procentowej limfocytów B pamięci odnotowano u sześciorga, a liczby bezwzględnej u trojga dzieci z grupy badanej. Chociaż w grupie wiekowej reprezentowanej przez pacjentów uczestniczących w badaniu,

limfocyty B pamięci nie mogą stanowić definitywnego kryterium prognostycznego pozwalającego na wykluczenie pospolitego zmiennego niedoboru odporności (*common variable immunodeficiency*, CVID), jednak można przyjąć, że u żadnego z dzieci z grupy badanej nie stwierdzono w analizie immunofenotypowej niedoboru tych komórek, nakazującego wysunąć podejrzenie CVID w oparciu o kryteria immunodiagnostyczne [14-18].

W przeciwieństwie do dzieci zdrowych, u których plazmablasty, stanowiące pulę najbardziej dojrzałych limfocytów B pamięci po przełączeniu klas, są nielicznie reprezentowane we krwi obwodowej, u dzieci z hipogammaglobulinemią stwierdzono zwiększenie wartości procentowej tych komórek aż w 16 przypadkach spośród 22 pacjentów (73%). Plazmablasty stanowią populację krótko żyjących, intensywnie dzielących się komórek, które są prekursorami plazmocytów, będących źródłem przeciwciał o dużym powinowactwie do antygenów [19,20]. Zwiększony odsetek plazmablastów we krwi obwodowej u dzieci z hipogammaglobulinemią i nawracającymi zakażeniami może mieć istotne biologiczne znaczenie i pozwala na wysunięcie hipotezy bloku na etapie terminalnego dojrzewania limfocytów B, skutkującego defektem wytwarzania przeciwciał. Blok czynnościowy na etapie wydzielających przeciwciała komórek plazmatycznych, pomimo akumulacji plazmablastów we krwi obwodowej stwarza mechanizm tzw. błędnego koła. Stymulacja antygenowa prowadzi do wzrostu dysfunkcyjnych plazmablastów, ale nie powoduje zwiększenia stężenia przeciwciał swoistych, będąc przyczyną hipogammaglobulinemii oraz źródłem konsekwencji klinicznych w postaci upośledzenia odpowiedzi na zakażenie.

Przeprowadzone badanie cytometryczne wskazało także na zwiększenie populacji limfocytów B przejściowych, które odnotowano u 13 (59%) dzieci z hipogammaglobulinemią. Ekspansja przejściowych limfocytów B we krwi obwodowej odzwierciedla efektywną limfopoezę szpikową, pozwala więc na wykluczenie u pacjentów z badanej grupy agammaglobulinemii oraz tych ciężkich złożonych niedoborów odporności, w których zaburzenia rozwojowe dotyczą prekursorów limfocytów B i skutkują brakiem ich wyrzutu do krwi obwodowej. Z kolei zwiększenie populacji limfocytów B przejściowych emigrujących ze szpiku kostnego może stanowić mechanizm kompensacyjny w postaci wypełnienia na obwodzie „niszy” związanej z małą liczbą dojrzałych limfocytów B. Zjawisko to mogłoby mieć znaczenie fizjologiczne i stanowić odzwierciedlenie immunologicznej niedojrzałości wieku dziecięcego, chociaż ostateczne przewidywanie jego ewentualnego przemijającego charakteru nie może być dokonane na obecnym etapie analizy i wymaga dalszej obserwacji prospektywnej.

WNIOSKI

Hipogammaglobulinemia u dzieci nie jest ograniczona wyłącznie zmniejszeniem stężenia poszczególnych izotypów w surowicy, ale związana jest z szeregiem zaburzeń w obrębie puli limfocytów B krwi obwodowej, które mogą mieć istotne znaczenie biologiczne skutkujące defektem biosyntezy przeciwciał. Przeprowadzona analiza immunofenotypowa pozwala na wykluczenie zaburzeń różnicowania

limfocytów w stadium limfopoezy szpikowej i przemawia za czynnościowymi zaburzeniami dojrzewania limfocytów. Z tego powodu należy uznać ją za niezbędny element immunodiagnostyki u dzieci z zaburzeniami wytwarzania

przeciwciał pomimo, że jej znaczenie prognostyczne jest ograniczone i nie pozwala na przewidywanie spontanicznej immunokorekcji ani czasu jej wystąpienia.

Piśmiennictwo

1. Van der Burg M, van Zelm MC, Driessen GJ i wsp. Dissection of B-cell development to unravel defects in patients with a primary antibody deficiency. *Adv Exp Med Biol* 2011; 697: 183-96.
2. Van der Burg M, van Zelm MC, Driessen GJ i wsp. New frontiers of primary antibody deficiencies. *Cell Mol Life Sci* 2012; 69(1): 59-73.
3. Luning Prak ET, Ross J, Sutter J i wsp. Age-related trends in pediatric B-cell subsets. *Pediatr Dev Pathol* 2011; 14(1): 45-52.
4. Morbach H, Eichhorn EM, Liese JG i wsp. Reference values for B cell subpopulations from infancy to adulthood. *Clin Exp Immunol* 2010; 162(2): 271-9.
5. LeBien TW, Tedder TF. B lymphocytes: how they develop and function. *Blood* 2008; 112(5): 1570-80.
6. Lesinski GB, Westerink MA. Novel vaccine strategies to T-independent antigens. *J Microbiol Methods* 2001; 47(2): 135-49.
7. Perez-Andres M, Paiva B, Nieto WG i wsp. Human peripheral B-cell compartments: a crossroad in B-cell traffic. *Cytometry Part B* 2010; 78B (supl 1): 47-60.
8. Agematsu K, Hokibara S, Nagumo H i wsp. CD27: a memory B-cell marker. *Immunol Today* 2000; 21(5): 204-6.
9. Krutzmann S, Rosado MM, Weber H i wsp. Human immunoglobulin M memory B cells controlling *Streptococcus pneumoniae* infections are generated in the spleen. *J Exp Med* 2003; 197(7): 939-45.
10. Sanz I, Wei Ch, Lee FE i wsp. Phenotypic and functional heterogeneity of human memory B cells. *Semin Immunol* 2008; 20(1): 67-82.
11. Tarlinton D. B-cell memory: are subsets necessary? *Nature Rev Immunol* 2006; 6(10): 785-90.
12. Piątosa B, Wolska-Kuśnierz B, Pac M i wsp. B cell subsets in health children: reference values for evaluation of B cell maturation process in peripheral blood. *Cytometry Part B* 2010; 78B (6): 372-81.
13. Huck K, Feyen O, Ghosh S i wsp. Memory B cells in health and antibody-deficient children. *Clin Immunol* 2009; 131(1): 50-9.
14. Schatorje EJ, Gemen EF, Driessen GJ i wsp. Age-matched reference values for B lymphocyte subpopulations and CVID classifications in children. *Scand J Immunol* 2011; 74(5): 502-10.
15. Van de Ven AA, van de Corput L, van Tilburg CM i wsp. Lymphocyte characteristics in children with common variable immunodeficiency. *Clin Immunol* 2010; 135(1): 63-71.
16. Smet J, Mascart F, Schandene L. Are the reference values of B cell subpopulations used in adults for classifications of common variable immunodeficiency appropriate for children? *Clin Immunol* 2011; 138(3): 266-73.
17. Alachkar H, Taubenheim N, Haeney N i wsp. Memory switched B cell percentage and not serum immunoglobulin concentration is associated with clinical complications in children and adults with specific antibody deficiency and common variable immunodeficiency. *Clin Immunol* 2006; 120(3): 310-18.
18. Yong PL, Orange JS, Sullivan KE. Pediatric common variable immunodeficiency: immunologic and phenotypic associations with switched memory B cells. *Pediatr Allergy Immunol* 2010; 21(5): 852-8.
19. Jourdan M, Caraux A, De Vos J i wsp. An in vitro model of differentiation of memory B cells into plasmablasts and plasma cells including detailed phenotypic and molecular characterization. *Blood* 2009; 114(25): 5173-81.
20. Tarte K, Zhan F, De Vos J i wsp. Gene expression profiling of plasma cells and plasmablasts: toward a better understanding of the late stages of B cell differentiation. *Blood* 2003; 102(2): 592-600.