

Joanna Jagłowska

ROZPRAWA NA STOPIEŃ DOKTORA NAUK MEDYCZNYCH

Ocena typu niedomogi odpornościowej u dzieci z zespołem Downa oraz próba ustalenia standardów postępowania zapobiegającego infekcjom w tej grupie.

Promotor: prof. dr hab. med. ANNA BALCERSKA

KLINIKA PEDIATRII, HEMATOLOGII, ONKOLOGII
I ENDOKRYNOLOGII
AKADEMII MEDYCZNEJ W GDAŃSKU

GDAŃSK 2007

Promotorowi pracy,
Pani Profesor dr hab. med. Annie Balcerskiej
składam serdeczne podziękowania
za życzliwość i okazaną pomoc

Pracę tę dedykuje:

*Rodzicom i Mężowi w
podziękowaniu za ich miłość*

SPIS TREŚCI

I. Indeks stosowanych skrótów	5
II. Wstęp.....	7
II.1. Odrębności budowy anatomicznej charakteryzujące ZD	7
II.2. Czynniki zwiększające ryzyko przedwczesnej śmierci chorych z ZD	10
II.2.1. Wrodzone nieprawidłowości ze szczególnym uwzględnieniem wrodzonych wad układu krążenia.....	11
II.2.2. Współistniejące przewlekłe schorzenia o podłożu infekcyjnym	12
II.2.3. Zwiększone ryzyko zapadalności na chorobę nowotworową oraz mniejsza tolerancja zdrowych tkanek na chemioterapię	13
II.3. Czynniki predysponujące do nawracających infekcji	15
II.3.1. Fenotyp dzieci z ZD jako podłoże nawracających infekcji	16
II.3.2. Refluks żołądkowo-przełykowy	17
II.3.3. Zaburzenia odporności u pacjentów z ZD.....	22
II.3.3.1. Nieprawidłowości w zakresie subpopulacji limfocytów.....	25
II.3.3.1.1. Subpopulacje limfocytów T	26
II.3.3.1.2. Odpowiedź proliferacyjna limfocytów T na stymulację mitogenem.....	27
II.3.3.1.3. Limfocyty B	28
II.3.3.1.4. Komórki NK	30
II.3.3.2. Leukocyty	31
II.4. Konsekwencje upośledzenie funkcji układu immunologicznego u pacjentów z ZD	31
II.4.1. Nosicielstwo <i>Chlamydia pneumoniae</i> , <i>Helicobacter pylorii</i> , <i>HBV</i>	32
II.4.2. Choroby z grupy autoagresji.....	33
II.4.2.1. Celiakia	35
II.4.2.2. Niedoczynność tarczycy	36
II.4.2.3. Cukrzyca	38
II.5. Przypuszczalny patomechanizm występowania zaburzeń odporności u pacjentów z ZD	39
II.5.1. Przedwczesne starzenie się organizmu	39
II.5.2. Nieprawidłowości budowy i funkcji grasicy	42
II.5.3. Niedobór mikroelementów	43
II.5.4. Zaburzenia wewnątrzkomórkowej transmisji sygnału	45
II.5.5. Zaburzenia ekspresji genów dla IL-2.....	47
II.5.6. Hiperekspresja cząsteczek LFA-1 oraz ICAM	47
II.6. Aktualnie obowiązujący program opieki medycznej nad dzieckiem z ZD	49
II.7. Podsumowanie	52
III. Cel pracy	53
IV. Materiał i metody.....	53
IV.1. Charakterystyka badanych dzieci	53
IV.2. Metodyka badań.....	57
IV.2.1. Analiza wywiadu chorobowego	58
IV.2.2. Badania biochemiczne	58
IV.2.3. Metody oceny statystycznej	60
V. Wyniki.....	61
V.1. Charakterystyka grup klinicznych w oparciu o dane uzyskane z wywiadu	61

<i>V.1.1. Wywiad ciążowo-porodowy.....</i>	<i>63</i>
<i>V.1.2. Wywiad rodzinny.....</i>	<i>64</i>
<i>V.1.2.1. Choroby matczyne.....</i>	<i>64</i>
<i>V.1.2.2. Obciążony wywiad infekcyjny u rodzeństwa badanych dzieci.</i>	<i>65</i>
<i>V.1.3. Schorzenia predysponujące do nawracających infekcji dróg oddechowych ..</i>	<i>67</i>
<i>V.1.3.1. Wrodzone wady układu krążenia.....</i>	<i>67</i>
<i>V.1.3.2. Hipertrofia tkanki limfoidalnej pierścienia gardłowego.....</i>	<i>70</i>
<i>V.1.3.3. Refluks żołądkowo-przełykowy.....</i>	<i>71</i>
<i>V.1.3.4. Choroby alergiczne</i>	<i>72</i>
<i>V.1.4. Manifestacja kliniczna zakażeń</i>	<i>72</i>
<i>V.1.4.1. Charakterystyka manifestacji klinicznej zakażeń w poszczególnych grupach</i> <i>.....</i>	<i>72</i>
<i>V.1.4.3. Nawracające zapalenia uszu a niedosłuch.....</i>	<i>73</i>
<i>V.1.4.5. Podaż preparatów immunoglobulin jako działanie wspomagające terapię</i> <i>zakażeń</i>	<i>74</i>
<i>V.1.5. Stosowana profilaktyka zakażeń.....</i>	<i>76</i>
<i>V.1.5.1. Szczepienia dodatkowe.....</i>	<i>76</i>
<i>V.1.5.2. Preparaty immunostymulujące</i>	<i>77</i>
<i>V.2. Wyniki badań laboratoryjnych.....</i>	<i>78</i>
<i>V.2.1. Analiza wyników badań morfologii krwi obwodowej.....</i>	<i>78</i>
<i>V.2.2. Analiza wyników oznaczeń stężeń immunoglobulin</i>	<i>80</i>
<i>V.2.3. Ocena subpopulacji limfocytów</i>	<i>83</i>
<i>V.2.4. Ocena aktywności granulocytów – test NBT.....</i>	<i>87</i>
<i>V.2.5. Pierwotne zaburzenia odporności a niedojrzałość układu immunologicznego –</i> <i>analiza wyników badań immunologicznych u dzieci do 2 roku życia.....</i>	<i>90</i>
<i>V.3. Podsumowanie</i>	<i>93</i>
<i>VI. Omówienie wyników i dyskusja.....</i>	<i>94</i>
<i>VII. Wnioski</i>	<i>130</i>
<i>VIII. Streszczenie.....</i>	<i>131</i>
<i>IX. Piśmiennictwo.....</i>	<i>135</i>
<i>X. Spis załączników.....</i>	<i>145</i>

I. Indeks stosowanych skrótów.

AAP	American Academy of Pediatrics
ABR	potencjały wywołane z pnia mózgu
ACIP	Advisory Committee on Immunization Practices
ALL	ostra białaczka limfatyczna
AML1	onkogen obecny na chromosomie 21q22
ANLL	ostra białaczka szpikowa
APP	amyloid beta/A4 precursor protein
ASD	ubytek przegrody międzyprzedsionkowej
AVSD	całkowity kanał przedsionkowo-komorowy
ChA	choroba Alzheimera
Con A	konkawalina A
CuZnSOD	dysmutaza nadtlenkowa
dB	decybele
DSCR	Down Syndrome Critical Region - region krytyczny dla zespołu Downa
ECHO	echokardiografia
Eurocat	Europejski Rejestr Wrodzonych Wad Rozwojowych
FAB	French-American-British Co-operative Group
fT4	tyroksyna
FTS	grasiczy czynnik surowiczy
GADA	przeciwciała skierowane przeciwko białku błonowemu p65
GATA1	gen kodujący czynnik transkrypcyjny
GER	refluks żołądkowo-przelykowy
HAV	wirus zapalenia wątroby typu A
Hbd	tydzień trwania ciąży
HbsAg	antygen powierzchniowy wirusa zapalenia wątroby typu B
HBV	wirus zapalenia wątroby typu B
HC	ciałko Hassall'a
HCG	ludzka gonadotropina kosmówkowa
Hib	<i>Haemophilus influenzae</i> typ b
HLA	układ zgodności tkankowej
IAA	przeciwciała skierowane przeciwko insulinie

IA-2A	przeciwciało skierowane przeciwko proinsulinie
ICAM-1	cząsteczka adhezji międzykomórkowej
IFN	interferon
IgA	przeciwciało klasy IgA
IgG	przeciwciało klasy IgG
IgM	przeciwciało klasy IgM
IgE	przeciwciało klasy IgE
IgD	przeciwciało klasy IgD
IgA-AGA	przeciwciała antygliadynowe w klasie IgA
IgA-TAG	przeciwciała skierowane przeciwko transglutaminazie tkankowej w klasie IgA
IL2	interleukina 2
IMMD	insulinozależna cukrzyca typu I
LFA-1	antygen związany z czynnością limfocytów
NASPGHAN	North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition
NBT	test redukcji błękitu nitrotetrazoliowego
OAE	emisje otoakustyczne
PDA	przewód tętniczy Botalla
PHA	fitohemaglutynina
RTG	zdjęcie rentgenowskie
S100B	S100 calcium binding protein
SIRS	zespół uogólnionej odpowiedzi zapalnej
SMR	standaryzowany wskaźnik śmiertelności
TAM	przejściowa nieprawidłowa mielopoeza
TCGF	czynnik wzrostu limfocytów T
TCR	receptor limfocytów T
TIAM1	tumor invasion and metastasis factor
TSH	hormon tyreotropowy
VSD	ubytek przegrody międzykomorowej
ZD	zespół Downa
ZUM	zakażenie układu moczowego
ZUŚ	zapalenie ucha środkowego

II. Wstęp

Zespół Downa (ZD) jest obecnie jedną z najczęściej spotykanych chromosomopatii. Według danych bazy Eurocat (Europejski Rejestr Wrodzonych Wad Rozwojowych), obejmujących statystyki z lat 1999-2004 częstotliwość występowania ZD w Polsce wynosi 1/823 urodzeń. Wartość ta jest porównywalna do częstości występowania trisomii 21 w innych krajach europejskich, i tak w Finlandii częstotliwość ta wynosi 1/402 urodzeń, a w Hiszpanii 1/1203 urodzeń [www.eurocat.ulster.ac.uk].

Po raz pierwszy symptomatologia zespołu została opisana w 1866 roku przez brytyjskiego lekarza Johna Langdon-Downa [Pietrzyk, 1999]. Natomiast w 1959 roku Lejeune, Gautier oraz Turpin odkryli związek pomiędzy ZD a trisomią chromosomu 21 [Roizen, 2003]. Wiemy już, że najczęściej występującą postacią cytogenetyczną ZD jest prosta trisomia chromosomu 21 i stanowi około 95% przypadków, 3-5% to niezrównoważone translokacje robertsonowskie, dotyczące najczęściej chromosomów 14 lub 21 (ale również chromosomy: 13, 15, 22), natomiast około 1% to przypadki, gdy stwierdzamy obecność dwóch linii komórkowych: prawidłowej oraz trisomicznej; sytuację taką określamy mianem mozaikowości [Committee on Genetics, American Academy of Pediatrics, 2001; Samiksan Dutta, 2005].

II.1. Odrębności budowy anatomicznej charakteryzujące ZD

Udokumentowane rozpoznanie zespołu Downa stawiane jest na podstawie oceny kariotypu pacjenta. Postępowanie to może być zainicjowane przez prenatalne stwierdzenie występowania czynników ryzyka (wywiad rodzinny, wyniki badań biochemicznych – test potrójny, badanie ultrasonograficznego płodu) oraz postnatalnie na podstawie stwierdzenia charakterystycznych cech fenotypowych u noworodka [Roizen, 2003]. Tabela numer II.1 przedstawia zestawienie cech klinicznych charakteryzujących trisomię chromosomu 21 [Berkov, 1995; Kava, 2004; Nelson, 1996; Roizen, 2003].

Tabela II.1. Cechy fenotypowe charakteryzujące zespół Downa.

	cechy kliniczne
twarzoczaszka:	<ul style="list-style-type: none">• brachycefalia• płaska potylicyca• skośne szpary powiekowe• zmarszczki nakątne• duży język• nisko osadzone zniekształcone małżowiny uszne• płaska nasada nosa• plamki Brushfielda
dłonie i stopy:	<ul style="list-style-type: none">• bruzdy poprzeczne• krótkie szerokie dłonie• brachydaktylia• klinodaktylia palca piątego• duży odstęp pomiędzy paluchem a drugim palcem
układ mięśniowo-stawowy:	<ul style="list-style-type: none">• hipotonia mięśniowa tzw. „żabi brzuch”• przepuklina pępkowa• wiotkość więzadeł• zmniejszony kąt nachylenia stóp panewek stawów biodrowych• nadmierna ruchliwość w stawach
rozwój:	<ul style="list-style-type: none">• upośledzenie umysłowe• opóźniony rozwój ruchowy
inne:	<ul style="list-style-type: none">• wysokie podniebienie• zez• krótka szeroka szyja• hipoplazja zębów• wysuwanie języka• zarośnięcie odbytu• wnetrostwo• małe prącie

Od momentu gdy ZD po raz pierwszy został opisany do dnia dzisiejszego nasz stan wiedzy na temat tego zespołu genetycznego znacznie się poszerzył. Obecnie znajomość obrazu klinicznego trisomii chromosomu 21, wczesne rozpoznanie i leczenie towarzyszących wad wrodzonych, jak również prewencja najczęstszych schorzeń związanych z zespołem umożliwiły nie tylko wydłużenie życia tych pacjentów, ale również polepszenie jego jakości. Zestawienie najczęściej występujących problemów klinicznych związanych z zespołem Downa przedstawiono w tabeli numer II.2 [Kava, 2004; Marder, 1997; Pietrzyk, 1999; Roizen, 2003].

	objawy kliniczne
kardiologiczne	<ul style="list-style-type: none"> wrodzone wady serca – AVSD (45% noworodków z ZD), VSD (35%), ASD (8%), PDA (7%), tetralogia Fallota (4%) serce płucne nabyte wady zastawkowe
ortopedyczne	<ul style="list-style-type: none"> podwichnięcia / przemieszczenia stawów biodrowych niestabilność rzepki skolioza szpotawość śródstopia płaskostopie niestabilność kręgosłupa szyjnego
laryngologiczne	<ul style="list-style-type: none"> niedosłuch przewodzeniowy niedosłuch odbiorczy niedrożność górnych dróg oddechowych przewlekły nieżyt górnych dróg oddechowych przerost migdałków podniebiennych i gardłowego
okulistyczne	<ul style="list-style-type: none"> wady refrakcji zapalenie brzegów powiek niedrożność przewodów nosowo-łzowych zaćma jaskra oczopląs zez stożek rogówki
gastroenterologiczne	<ul style="list-style-type: none"> wady wrodzone przewodu pokarmowego (zarośnięcie odbytu, niedrożność jelit i dwunastnicy, przetoki przełykowo-tchawicze, trzustka obrączkowata) problemy z karmieniem refluks żołądkowo-przełykowy choroba Hirschprunga celiakia
endokrynologiczne	<ul style="list-style-type: none"> niskorosłość niedoczynność tarczycy cukrzyca otyłość zaburzenia okresu pokwitania
immunologiczne	<ul style="list-style-type: none"> niedobory odporności choroby autoimmunizacyjne nosicielstwo HbsAg, <i>Chlamydia pneumoniae</i>, <i>Helicobacter pylorii</i>
hematologiczne	<ul style="list-style-type: none"> białaczka TAM (przejściowa nieprawidłowa mielopoeza) czerwieńca noworodkowa trombocytopenia noworodkowa
dermatologiczne	<ul style="list-style-type: none"> suchość skóry zapalenie mieszków włosowych bielactwo łysienie plackowate grzybica skóry i paznokci

neuropsychiatryczne	<ul style="list-style-type: none">• padaczka• autyzm• depresja• choroba Alzheimera
stomatologiczne	<ul style="list-style-type: none">• agenezja, hipoplazja, dystrofia zębów• wady zgryzu• próchnica• choroby przyzębia

Tabela II.2. Najczęściej występujące problemy kliniczne związane z zespołem Downa.

Od momentu odkrycia związku pomiędzy występowaniem fenotypowych cech ZD a trisomią chromosomu 21 dokonał się ogromny postęp w zakresie wiedzy medycznej dotyczącej uwarunkowań genetycznych poszczególnych zaburzeń charakterystycznych dla zespołu. Obecnie metody sekwencjonowania chromosomu 21 umożliwiły identyfikację genów na tym chromosomie. Uważa się, że chromosom ten zawiera 225 genów, a część z nich zlokalizowana jest w obrębie tzw. regionu krytycznego dla zespołu Downa (DSCR-Down Syndrome Critical Region) – 21q22.2-21q22.3. Istnieje hipoteza, że geny zakodowane w DSCR są odpowiedzialne za fenotyp ZD pod warunkiem, że obecne są trzy kopie tego regionu. Natomiast funkcja części białek kodowanych w obrębie DSCR nadal nie jest poznana [Roper, 2006; Samiksan Dutta, 2005; Vesa, 2005]. Sekwencjonowanie genów w obrębie DSCR umożliwia nie tylko ustalenie neuropatogenezy zespołu, jak również pozwala lepiej zrozumieć fenotyp ZD.

II.2. Czynniki zwiększające ryzyko przedwczesnej śmierci chorych z ZD

W ciągu ostatnich lat znacznie wzrosła długość życia pacjentów z ZD. Yang i współpracownicy określili, opierając się o badanie grupy 17 897 pacjentów, że średni wiek w chwili śmierci wzrósł z 25 lat w 1983 roku do 49 lat w roku 1997 [Yang, 2002]. Obecnie niektórzy autorzy sugerują, że długość życia pacjentów z ZD może osiągnąć nawet 60 lat [Day, 2005; Glasson, 2002]. Równocześnie jakość życia tych pacjentów uległa zdecydowanej poprawie, na co wpływ miała nie tylko coraz większa wiedza medycyny na temat samego zespołu, ale również większa świadomość i możliwości wsparcia rozwoju przez samych rodziców pacjentów z ZD.

Pomimo to nadal wskaźniki śmiertelności dla tej grupy pacjentów sześciokrotnie przewyższają te dla ogółu populacji. Natomiast w przypadku

pacjentów z ZD płci żeńskiej są one nawet ośmiokrotnie wyższe, co ma najprawdopodobniej związek z częstszym występowaniem wad serca u dziewczynek [Hermon, 2001; Leonard, 2000]. Ocena ryzyka występowania nowotworów oraz znajomość przyczyn śmiertelności wśród dzieci z ZD ma więc ogromne znaczenie dla lekarzy sprawujących podstawową opiekę zdrowotną nad takim pacjentem. Pozwoli to na wczesne wykrywanie i leczenie chorób związanych z zespołem.

Dla miarodajnego porównania wskaźników śmiertelności dla grupy pacjentów z ZD oraz populacji ogólnej użyto standaryzowanego wskaźnika śmiertelności (SMR standarized mortality ratio) czyli stosunku liczby zgonów w populacji badanej do liczby oczekiwanych zgonów, gdyby populacja badana miała współczynniki zgonów populacji standardowej. Dzięki standaryzacji tych współczynników uzyskujemy wskaźniki wolne od wad i zniekształceń związanych z wewnętrzną strukturą populacji badanej [Topór-Mądry, 2002].

II.2.1. Wrodzone nieprawidłowości ze szczególnym uwzględnieniem wrodzonych wad układu krążenia

Szczególnie wysoka śmiertelność w okresie dzieciństwa jest związana z występowaniem wrodzonych wad układu krążenia oraz przewodu pokarmowego [Hermon, 2001; Hill, 2003; van Trotsenburg, 2006]. Infekcje dróg oddechowych są najczęstszym powikłaniem występującym u niemowląt z ZD i współwystępującymi wrodzonymi malformacjami układu krążenia oraz przewodu pokarmowego. Przyczyniają się one do zwiększenia częstości i długości trwania hospitalizacji oraz śmiertelności w tej grupie chorych [Formigari, 2004; Frid, 2002; Szydłowski, 2004; van Trotsenburg, 2006].

Szacuje się, że wrodzoną wadę serca rozpoznaje się u około 50% noworodków urodzonych z trisomią chromosomu 21 [Roizen, 2003]. Fakt ten jest podstawą obserwacji, iż pierwszą co do częstości przyczyną śmiertelności pacjentów z ZD są właśnie wrodzone wady serca, a standaryzowany wskaźnik śmiertelności (SMR) z powodu wrodzonych wad układu krążenia dla populacji dzieci z ZD wynosi 94 [Day, 2005; McGrother, 1990]. Obserwujemy szczególny wzrost śmiertelności z powodu wrodzonych wad serca w grupie dzieci do 2 roku życia oraz po 14 roku życia. W przypadku grupy dzieci starszych jest to najprawdopodobniej związane z konsekwencjami nie leczonych wad serca, takimi jak: zespół Eisenmengera czy

nadciśnienie płucne [Day, 2005; Leonard, 2000]. Obecnie obserwuje się znaczący spadek śmiertelności z powodu wrodzonych wad serca w grupie dzieci do 2 roku życia; z 10,6 przypadków śmiertelnych na 1000 osobo-lat w okresie 1988-1993 do 1,7 na 1000 osobo-lat w latach 1994-1999 [Day, 2005]. Fakt ten ma ewidentny związek ze wzrostem dostępności pacjentów z ZD do kardiochirurgicznych procedur, postępowaniem medycyny odnośnie samej techniki chirurgicznej, jak również postępującym rozwojem opieki pooperacyjnej [McGrother, 1990; van Trotsenburg, 2006]. Istnieją nawet sugestie, iż długość życia pacjentów ze skorygowaną wadą serca jest porównywalna do długości życia pacjentów z ZD bez współistniejącej wady układu krążenia [Leonard, 2000].

II.2.2. Współistniejące przewlekłe schorzenia o podłożu infekcyjnym

W chwili obecnej uznaje się, że nawracające infekcje stanowią drugą, co do częstości przyczynę śmiertelności w grupie pacjentów z trisomią chromosomu 21 [Day, 2005; Garrison, 2005; Lockitch, 1987; Ribeiro, 2005]. SMR związany z czynnikami infekcyjnymi dla populacji dzieci z ZD wynosi 27 [Day, 2005]. Hill i współpracownicy podkreślają znaczenie infekcji wirusowych oraz bakteryjnych, jako przyczyny 1/5 zgonów w analizowanej grupie 4872 pacjentów z ZD, czego obrazem jest obserwowana dwunastokrotnie wyższa śmiertelność związana z chorobami infekcyjnymi w porównaniu do populacji ogólnej [Hill, 2003].

Ze względu na ciężki przebieg infekcji w tej grupie dzieci, wymagają one znacznie częściej leczenia szpitalnego; szczególnie dotyczy to dzieci młodszych oraz tych ze współistniejącą wadą serca. W dostępnej literaturze podkreśla się fakt, iż to właśnie wśród najmłodszych pacjentów z ZD obserwuje się najwyższy wskaźnik śmiertelności związany z infekcjami dróg oddechowych. Problem ten podkreślają kliniczne obserwacje częstości występowania zapaleń płuc w pierwszych latach życia oraz wyraźna redukcja tych zachorowań po 2-3 roku życia [Noble, 1988; Ribeiro, 2005].

Wysoka śmiertelność śródinfekcyjna u dzieci z ZD wynika przede wszystkim z ciężkiego przebiegu klinicznego zakażeń w tej grupie dzieci. Ryzyko występowania powikłań w przebiegu choroby infekcyjnej w tej grupie pacjentów nie jest takie samo co w populacji ogólnej, a uogólnienie procesu zapalnego (SIRS) w

przebiegu infekcji u dzieci z ZD podwyższa znacząco śmiertelność śródinfekcyjną. Ocenia się, że śmiertelność dzieci z ZD z powodu SIRS jest o 30% wyższa niż u innych pacjentów hospitalizowanych z tego samego powodu. Fakt ten tłumaczy się występowaniem pierwotnych zaburzeń odporności, wpływających zarówno na przebieg kliniczny, jak i uzyskiwany ostateczny efekt terapeutyczny [Garrison, 2005].

II.2.3. Zwiększone ryzyko zapadalności na chorobę nowotworową oraz mniejsza tolerancja zdrowych tkanek na chemioterapię

Zsumowane ryzyko wystąpienia choroby nowotworowej u pacjentów z ZD jest 2,9 razy większe niż dla populacji generalnej, natomiast ryzyko zachorowania na inny niż białaczka złośliwy nowotwór wynosi 1,2. W badaniach opartych o grupę 1453 pacjentów z ZD Goldacre, analizując dane dotyczące nowotworów innych niż białaczka, stwierdził występowanie różnorodnych nowotworów, jednakże tylko częstotliwość występowania raka jądra była znacząco większa [Goldacre, 2004]. Tę opisywaną predyspozycję do zachorowań na raka jądra można prawdopodobnie wiązać ze zwiększoną częstością występowania wnętrstwa u pacjentów z ZD [Dieckmann, 1997; Hermon, 2001].

Bezdyskusyjny jest fakt, iż w tej grupie chorych znamienne częściej występują nowotwory wywodzące się z układu krwiotwórczego. SMR dla białaczek w populacji dzieci z ZD wynosi 17 [Day, 2005]. Białaczka stanowi 60% wszystkich nowotworów występujących w tej grupie, a 97% nowotworów występujących przed 15 rokiem życia. W latach pięćdziesiątych poprzedniego stulecia po raz pierwszy opisano wzrost zapadalności na białaczkę wśród pacjentów z ZD. Do chwili obecnej problem procesów rozrostowych w obrębie szpiku w grupie dzieci z ZD jest już dobrze udokumentowany, a prawdopodobna patogeneza opisana. Można dopatrywać się istnienia związku pomiędzy zwiększoną zapadalnością na nowotwory hematologiczne a dodatkową kopią AML1, onkogenu obecnego na chromosomie 21 (21q22) [Hill, 2003]. Translokacje powyższego genu stwierdza się u 25% przypadków ostrej białaczki limfatycznej (ALL) i 15% przypadków ostrej białaczki szpikowej (ANLL) rozpoznanych u dzieci z ZD. Ponadto istnieje sugestia, iż w patogenezie białaczek w opisywanej grupie chorych odgrywa rolę również gen

TIAM1 (tumour invasion and metastasis factor), kodowany na chromosomie 21. Obecność TIAM1 jest częściej spotykana w szpiku pacjentów z ZD i rozpoznaniem ANLL [Hasle, 2000]. U pacjentów z ZD i rozpoznaniem ANLL czy przejściowej nieprawidłowej mielopoezy (TAM – transient abnormal myelopoiesis) często spotyka się mutację genu GATA1, kodującego czynnik transkrypcyjny, niezbędny dla zachowania prawidłowego rozwoju megakariocytów, erytrocytów, eozynofili oraz komórek tucznych [Ross, 2005; Webb, 2005].

Obecnie ocenia się, że wzrost zapadalności na białaczki obserwowany u dzieci z ZD jest 3 do 100 razy wyższy niż dla ogółu populacji, choć większość autorów zgadza się, że relatywne ryzyko zawiera się w przedziale pomiędzy 10 a 20 [Awasthi, 2005; Hasle, 2000; Hill, 2003]. Do lat dziewięćdziesiątych poprzedniego stulecia uważano, że częstość występowania u pacjentów z ZD ANLL w porównaniu do ALL jest porównywalna do ogółu populacji. Jednakże ostatnio poglądy te zostały zweryfikowane i okazało się, że wystąpienie danego typu białaczki jest uzależnione od wieku dziecka. I tak u starszych dzieci z ZD częściej występuje ALL, natomiast do 4 roku życia dominuje rozpoznanie ANLL [Kojima, 1990; Płoszyńska, 1998].

Ustalenie rozpoznania typu białaczki w oparciu o klasyfikację FAB było problematyczne, ze względu na trudności w interpretacji cech morfologicznych i histochemicznych mieloblastów pacjentów z trisomią 21. Rozwój badań immunocytochemicznych ułatwił diagnostykę hematologiczną białaczek. Dzięki temu stwierdzono, że ZD związany jest ze zwiększoną zapadalnością na ostrą białaczkę megakariocytarną M7 przed 4 rokiem życia. I tak relatywne ryzyko wystąpienia tego typu białaczki określane jest na 400 do 600 razy większe niż dla ogółu populacji, w zależności od publikacji danego autora [Awasthi, 2005; Hasle, 2000; Kojima, 1990; Płoszyńska, 1998; Webb, 2005].

Podsumowując: najwyższe ryzyko rozwoju białaczki obejmuje grupę dzieci z ZD w wieku do 4 roku życia i maleje ono wraz z wiekiem dziecka. Wykładnikiem tego stanu rzeczy jest pięciokrotnie wyższy wskaźnik zapadalności na białaczki dla dzieci z ZD w grupie wiekowej od zera do 4 roku życia, niż w grupie wiekowej 5-29 lat [Hasle, 2000; Hermon, 2001; Ross, 2005]. Dodatkowym problemem klinicznym w grupie noworodków z ZD jest występowanie przejściowej nieprawidłowej mielopoezy - TAM. Jest to samoograniczająca się choroba rozrostowa układu krwiotwórczego, występująca tylko u dzieci z ZD w ciągu pierwszych czterech

tygodni życia. Ocenia się, że problem ten dotyczy około 10% noworodków z ZD, a relatywne ryzyko TAM wynosi 175. Odległe rokowanie dla pacjentów z TAM jest dobre, większość z tych dzieci zaprezentuje spontaniczną i długotrwałą remisję. Jednakże 20-30% tych pacjentów w ciągu pierwszych 4 lat życia rozwinię ostra białaczkę megakariocytarną. Stąd w piśmiennictwie można spotkać się z pojęciem, iż charakterystyczny dla ZD TAM stanowi „pierwszy krok” w rozwoju białaczki [Awasthi, 2005; Hasle, 2000; Girodon, 2000; Płoszyńska, 1998; Yumura-Yagi, 1992].

Znaczącym problemem w terapii białaczek u pacjentów z ZD jest zwiększona wrażliwość trisomicznych komórek na cytostatyki. W piśmiennictwie podkreśla się fakt, iż pomimo dobrej odpowiedzi na leczenie przeciwnowotworowe, u dzieci z ZD obserwuje się mniejszą tolerancję zdrowych tkanek na chemioterapię, co prowadzi do zwiększenia ryzyka śmiertelności wynikającego z toksycznych powikłań stosowanej terapii [Kojima, 1990; Płoszyńska, 1998; Webb, 2005].

Jako czynniki ryzyka wystąpienia białaczki w opisywanej grupie podaje się: zaawansowany wiek matki w okresie ciąży, udokumentowane zaburzenia odporności oraz niedobory cynku i witamin, jako czynniki pośrednio wpływające na funkcję układu odpornościowego. **Tym samym podkreśla się rolę występujących u pacjenta z ZD zaburzeń prawidłowego funkcjonowania układu immunologicznego, jako czynnika uruchamiającego mechanizm nowotworzenia** [Ross, 2005].

II.3. Czynniki predysponujące do nawracających infekcji

Współistniejące nieprawidłowości w budowie anatomicznej pacjentów z ZD oraz upośledzenie funkcji ich układu immunologicznego przyczyniają się do skrócenia czasu przeżycia pacjentów z tą nieprawidłowością genetyczną. Do schorzeń predysponujących pacjentów z ZD do nawracających infekcji możemy zaliczyć: nieprawidłowości budowy anatomicznej twarzoczaszki oraz dróg oddechowych, zaburzenia motoryki przełyku z towarzyszącą hipotonią mięśniową, jako czynniki predysponujące do rozwoju refluksu żołądkowo-przełykowego (GER – gastroesophageal reflux) [Gęsicki, 2005; Hotaling, 1999; Ribeiro, 2005; van Cleve, cz.II, 2006].

II.3.1. Fenotyp dzieci z ZD jako podłoże nawracających infekcji

Hipotonia mięśniowa, malformacje twarzoczaszki z redukcją przestrzeni w obrębie jamy ustnej i gardła, otyłość, relatywna hiperplazja migdałków podniebiennych i gardłowego oraz przerost języka obserwowane u dzieci z ZD stanowią predyspozycję do występowania nocnych bezdechów. Ocenia się, iż częstotliwość występowania nocnych bezdechów u dzieci z ZD wynosi od 14 do 50 %. Ponadto wymienione wyżej nieprawidłowości stanowią czynnik ryzyka zwiększonej częstości zakażeń dróg oddechowych w tej grupie dzieci. Dlatego w leczeniu infekcji w obrębie dróg oddechowych u pacjentów obciążonych trisomią chromosomu 21 powinno się stosować intensywną antybiotykoterapię, a w leczeniu nawracających zapaleń migdałków rozważyć wskazania do tonsilektomii oraz adenotomii [Dahlqvist, 2003; Hotaling, 1999].

Nieprawidłowości budowy twarzoczaszki stanowią również predyspozycję do zachorowań na różnego rodzaju schorzenia otolaryngologiczne. W tej grupie dzieci znacznie częściej występują zaburzenia funkcji trąbki słuchowej, co prowadzi do niewystarczającej wentylacji ucha oraz do występowania refluksu gardłowo-nosowego. Ponadto zwężony kanał słuchowy jest przyczyną zalegania woszczyzny, co sprzyja przewlekłemu bakteryjnemu lub grzybiczemu zapaleniu ucha zewnętrznego. Nieprawidłowości budowy anatomicznej, towarzyszący przerost tkanki limfoidalnej oraz zaburzenia odporności powodują, że dzieci z ZD znacznie częściej chorują na nawracające zapalenia ucha środkowego, zarówno ostre ropne, jak i przewlekłe wysiękowe. Ocenia się, że infekcje te występują u około 50-70% dzieci z ZD. Ich przebieg kliniczny jest zazwyczaj niemy, stąd często bywają nie rozpoznawane lub nie dość intensywnie leczone, czego konsekwencją jest powstawania niedosłuchu przewodzeniowego [Hotaling, 1999].

U dzieci z zespołem wad wrodzonych nawet nieznaczny niedosłuch ma niekorzystny wpływ na rozwój chorego. Niedosłuch w zakresie 15-40 dB, upośledzając odbiór mowy, potęguje już istniejące opóźnienie rozwoju, utrudnia uczenie się oraz upośledza rozwój odbiorczych i ekspresyjnych funkcji języka. Ze względu na znaczenie tego problemu zalecana jest stała opieka otolaryngologiczna

oraz ocena słuchu co pół roku metodą ABR (pomiar potencjałów wywołanych z pnia mózgu) lub OAE (emisje otoakustyczne) [APP, 2001; van Cleve, cz.I, 2006].

Dlatego też istnieją w piśmiennictwie zalecenia, iż w celu profilaktyki nabytego niedosłuchu, dziecko z ZD podczas każdej infekcji dróg oddechowych powinno być poddane badaniu otolaryngologicznemu. Konieczne również jest stosowanie wczesnej i agresywnej terapii zapalenia ucha środkowego [Hotaling, 1999; Marder, 1997; Roizen, 2005; van Cleve, cz.I 2006].

II.3.2. Refluks żołądkowo-przelykowy

Refluks żołądkowo-przelykowy jest kolejnym czynnikiem predysponującym dzieci z ZD do zachorowań na infekcje układu oddechowego o ciężkim i nawrotowym przebiegu klinicznym.

Korelacje pomiędzy występowaniem refluksu żołądkowo-przelykowego (GER gastroesophageal reflux) a objawami ze strony układu oddechowego są od dawna przedmiotem zainteresowania naukowców. GER jest spowodowany niedomykalnością dolnego zwieracza przełyku i prowadzi do zarzucania kwaśnej treści z żołądka do przełyku. Oprócz klasycznych objawów ze strony układu pokarmowego, tj.: dyspeptycznych czyli zgagi, bólów w nadbrzuszu (których małe dziecko, a w szczególności dziecko upośledzone nie potrafi wyartykułować), obserwuje się wymioty oraz krwawienia z górnego odcinka przewodu pokarmowego. GER może także manifestować się objawami typowymi dla schorzeń układu oddechowego, jak np.: astmą, nawracającymi zapaleniami płuc, obturacyjnymi zapaleniami oskrzeli czy też napadami bezdechów z towarzyszącą bradykardią.

Badania epidemiologiczne wskazują, że u około 30 do 50% dzieci z rozpoznanym GER w wywiadzie retrospektywnym odnotowano występowanie nawracających infekcji dróg oddechowych. Częstość występowania patologicznych objawów ze strony dróg oddechowych, uzależnionych od obecności GER wzrasta wraz z wiekiem dziecka; i tak w wieku 3-15 miesiąca życia wynosi 20%, a 33% u dzieci starszych. Wielu autorów podaje, że w przypadku pacjentów obciążonych występowaniem dolegliwości ze strony układu oddechowego zależnych od GER, odnotowano znaczną poprawę kliniczną po zastosowaniu farmakologicznego bądź chirurgicznego leczenia GER. Fakt ten podkreśla znaczenie wczesnej diagnostyki i

leczenia GER w terapii nawracających infekcji dróg oddechowych [Gęsicki, 2005; Kaliciński, 1989; Mi-Zu Jiang, 2006; Orenstein, 1988].

Istnieje wiele teorii dotyczących patomechanizmu powstawania objawów ze strony układu oddechowego w przebiegu choroby refluksowej. Już ponad 50 lat temu odruch z dróg oddechowych w odpowiedzi na ekspozycję treści żołądkowej wiązano z pobudzeniem nerwu błędnego. Proksymalne drogi oddechowe oraz przełyk są wyściełane receptorami aktywowanymi przez wodę, treść o niskim pH oraz rozciąganie. Aktywacja tych receptorów, poprzez przedłużającą się ekspozycję treści żołądkowej w obrębie powyższych struktur anatomicznych, prowadzi do skurczu krtani oraz oskrzeli; ponadto może prowadzić do bezdechu pochodzenia centralnego czy bradykardii. Nie bez znaczenia pozostaje fakt bezpośredniego działania mikroaspiracji treści żołądkowej na błonę śluzową dróg oddechowych, inicjując reakcje wysiękowe i zapalne tejsze. [Gęsicki, 2005; Mi-Zu Jiang, 2006; Orenstein, 1988].

Tak jak bezdyskusyjny jest wpływ GER na powstawanie objawów ze strony układu oddechowego, tak pewne patologiczne reakcje z układu oddechowego mogą również prowokować GER, o ile zaburzają one bariery antyrefluksowe. Są nimi: wzrost dodatniego ciśnienia w obrębie jamy brzusznej, wzrost ujemnego ciśnienia w jamach opłucnowych, zaburzenie naturalnego wpływu grawitacji nacisku zawartości żołądka oraz zaburzenie prawidłowego funkcjonowania naturalnych struktur anatomicznych, takich jak: dolny zwieracz przełyku, kąt żołądkowo-przełykowy (kąt Hissa), prawa odnoga przepony oraz przewężenie przeponowe przełyku. Przy czym największe znaczenie antyrefluksowe ma prawidłowo funkcjonujący dolny zwieracz przełyku. Jednakże u dzieci mechanizmy bariery antyrefluksowej są mniej efektywne niż u dorosłych. Fakt ten wynika z funkcjonalnej oraz anatomicznej niedojrzałości omawianych struktur i w efekcie stanowi czynnik predysponujący do występowania GER [Halkiewicz, 2000; Orenstein, 1988]. Nasilony kaszel oraz kichanie towarzyszące infekcjom dróg oddechowych powodują wzrost dodatniego ciśnienia w obrębie jamy brzusznej, nasilona duszność wywołana obturacją oraz czkawka powodują wzrost ujemnego ciśnienia w jamach opłucnowych, zaś wiele leków stosowanych w terapii zakażeń i obturacji dróg oddechowych powoduje spadek napięcia dolnego zwieracza przełyku oraz wzrost produkcji soków żołądkowych. Ponadto stosowanie żywienia dojelitowego przy pomocy sondy dożołądkowej

dodatkowo mechanicznie zaburza funkcjonowanie dolnego zwieracza przełyku. W terapii przewlekłych zakażeń dróg oddechowych stosuje się również fizjoterapię tzw. rehabilitację oddechową. I tak pozycja leżąca z niskim ułożeniem głowy, nasilony wydech czy odruchy kaszlowe, mają ułatwiać wydalanie zalegającej wydzieliny, ale jednocześnie nasilają ryzyko rozwoju GER. W ten sposób powstaje „błędne koło”: choroby dróg oddechowych wywołane przez GER oraz ich terapia mogą prowadzić do nasilania się objawów GER. Uświadomienie sobie powyższych zależności ma istotne znaczenie w diagnostyce i skuteczności terapii GER [Chang, 2006; Orenstein, 1988].

U 73% pacjentów ze współwystępowaniem GER i chorób układu oddechowego stwierdza się obecność zaburzeń motoryki przełyku. Natomiast przedłużająca się ekspozycja soków żołądkowych w proksymalnej części przełyku, inicjuje kaskadę zmian w obrębie dróg oddechowych, prowadząc do wystąpienia obturacji i rozwoju procesu zapalnego. Tak więc zaburzenia motoryki przełyku mogą stanowić czynnik ryzyka dla rozwoju chorób układu oddechowego, szczególnie u pacjentów pediatrycznych. Podkreśla się fakt, iż właśnie u pacjentów pediatrycznych w obrazie klinicznym zaburzeń motoryki przełyku dominują objawy patologiczne ze strony dróg oddechowych, natomiast w grupie pacjentów dorosłych są to przede wszystkim objawy dyspeptyczne. U dzieci z ZD często obserwujemy występowanie zaburzeń motoryki przełyku, jednakże ze względu na problemy komunikacyjne istnienie objawów dyspeptycznych bywa niezauważone przez otoczenie. I tak objawy ze strony przełyku mogą mieć charakter niespecyficzny, przybierając postać odmowy jedzenia czy powikłań ze strony dróg oddechowych [Field, 2003; Mi-Zu Jiang, 2006; Zarate, 1999].

W piśmiennictwie podnoszony jest fakt, iż w patomechanizmie zaburzeń motoryki przełyku u pacjentów z ZD mogą odgrywać rolę nieprawidłowości układu immunologicznego. Zakażenie wirusem z grupy herpes (w szczególności *herpes zoster*) oraz wirusem odry może prowadzić do zniszczenia zwojów nerwowych w obrębie śluzówki przełyku, co w efekcie stanowi podłoże zaburzeń motoryki przełyku, a nawet może prowadzić do achalazji. Zwiększona zapadalność pacjentów z ZD na infekcje wirusowe może być więc czynnikiem łączącym obie jednostki chorobowe. Ponadto zwiększona tendencja do produkcji autoprzeciwciał w tej grupie chorych może stanowić dodatkowy czynnik sprzyjający powstawaniu tych

nieprawidłowości [Zarate, 1999]. Nie bez wpływu na motorykę przewodu pokarmowego u pacjentów z ZD pozostaje fakt współwystępowania niedoczynności tarczycy. Około 10-15% dzieci obciążonych tym zespołem genetycznym wymaga substytucji hormonów tarczycy [Marder, 1997; Roizen, 2005; Zarate, 2001]. Tak więc mając przed sobą dziecko z zespołem Downa z nawracającymi wymiotami, nieprawidłowym przyrostem masy ciała i wzrostu czy nawracającymi objawami ze strony układu oddechowego należy rozważyć współistnienie zaburzeń gastroenterologicznych [Zarate, 1999].

W diagnostyce GER możemy wykorzystać szereg badań: badanie radiologiczne przełyku z doustnym podaniem środka kontrastującego, badania radioizotopowe, całodobową pH-metrię, manometrię, badanie endoskopowe z pobraniem i oceną histopatologiczną wycinka oraz badanie ultrasonograficzne.

Badanie radiologiczne przełyku z doustną podażą kontrastu barytowego było do tej pory najczęściej stosowaną metodą w diagnostyce GER. Jednakże jest to metoda mało czuła, ze względu na krótki czas monitoringu oraz mało specyficzna, ze względu na fakt, iż wykrywa również fizjologiczny refluks występujący u ludzi zdrowych. Ponadto metoda ta stanowi dodatkową ekspozycję pacjenta na promieniowanie rentgenowskie. Zaletą badania radiologicznego czy scyntygraficznego jest jednak możliwość potwierdzenia aspiracji treści żołądkowej do dróg oddechowych, czego nie umożliwiają nam inne metody. Jednakże wskaźnik fałszywie negatywnych wyników może być dość wysoki [Gomes, 2003; Koumanidou, 2004; Orenstein, 1998]. Badanie scyntygraficzne jest oceniane jako czułe i wiarygodne, ale wymaga zastosowania drogiego, wysokospecjalistycznego sprzętu. Ponadto pacjent poddany jest promieniowaniu jonizującemu, co stanowi poważne przeciwwskazanie w przypadku pacjentów pediatrycznych [Gomes, 2003]. PH-metria jest bardzo czułym badaniem, jednakże może zaniżać częstotliwość występowania fal zwrotnych związanych z przyjęciem posiłku o neutralnym pH. Ponadto jest to badanie stosunkowo drogie, dostępne w ośrodkach wysokospecjalistycznych, a w przypadku pacjentów z problemami komunikacyjnymi, jakimi są dzieci z ZD, trudne technicznie do wykonania. Badanie endoskopowe z towarzyszącą oceną histopatologiczną wycinka jest bardziej czułe niż badanie ultrasonograficzne, jednakże nie ujawni wszystkich morfologicznych i funkcjonalnych aspektów GER. Ponadto wykonanie gastrokopii u dziecka z ZD

wymaga intubacji i znieczulenia ogólnego, co oczywiście podwyższa koszty badania i stanowi dodatkowe ryzyko wystąpienia powikłań [Koumanidou, 2004; Orenstein, 1998].

W latach dziewięćdziesiątych po raz pierwszy opisano zastosowanie metody ultrasonograficznej w diagnostyce GER. Ultrasonografia jest metodą tanią, dostępną, nieinwazyjną, nie obciążoną ryzykiem powikłań, czułą i precyzyjną. Zastosowanie dodatkowo techniki Dopplera zwiększa czułość metody z 94,4% do 95,5%, co daje nam wyniki porównywalne z otrzymywanymi przy wykorzystaniu pH-metrii, uznanej za złoty standard w diagnostyce GER. Kryterium rozpoznania GER w obrazie ultrasonograficznym jest skrócenie podprzeponowej części przełyku (nawet 2 mm skrócenie przełyku może być wykryte przy zastosowaniu tej metody), rozwarty kąt Hissa, wydolność odnóg przepony w utrzymaniu prawidłowej lokalizacji dystalnej części przełyku w rozwarze przełykowym, brzuszna lokalizacja dolnego zwieracza przełyku oraz obecność fal zwrotnych [Halkiewicz, 2000; Koumanidou, 2004].

Podsumowując badanie ultrasonograficzne pogranicza żołądkowo-przełykowego powinno być badaniem pierwszego rzutu w diagnostyce dzieci podejrzewanych o GER. Dzięki zastosowaniu ultrasonografii uzyskujemy informacje dotyczące morfologicznego, jak i funkcjonalnego defektu, w sposób szybki, nie narażając pacjenta na stres czy promieniowanie. Dokładnie zebrany wywiad, dotyczący objawów GER zarówno ze strony układu pokarmowego, jak i oddechowego, w zestawieniu z wynikiem badania ultrasonograficznego upoważnia nas do zastosowania terapii antyrefluksowej. Ze względu na możliwość powtarzalności oceny ultrasonograficznej pogranicza żołądkowo-przełykowego można także oceniać skuteczność stosowanego leczenia. Jedynie w przypadku utrzymywania się patologicznych objawów klinicznych pomimo zastosowanego leczenia wskazane jest zastosowanie innych, inwazyjnych procedur (pH-metria, gastroscopia) wymagających hospitalizacji oraz rewizja poprawności wstępnego rozpoznania [Gomes, 2003; Koumanidou, 2004; Orenstein, 1998].

Przedstawione zagadnienia dają obraz jak skomplikowane i wieloczynnikowe jest podłoże nawracających infekcji u dzieci z ZD. Infekcje dróg oddechowych stanowią manifestację kliniczną różnorodnych schorzeń, dotyczących różnych układów. Stąd tak istotne jest objęcie tych pacjentów opieką wielu specjalistów.

II.3.3. Zaburzenia odporności u pacjentów z ZD

Współistnienie zaburzeń układu immunologicznego u pacjentów z ZD jest udokumentowane przez wielu autorów [Annaren, 1990; 1992; Bartelik, 1992; Cossarizza, 1991; Cuadrado, 1996; Douglas, 2005; de Hingh, 2005; Lockitch, 1987; Lukas, 1980; Magnusson, 1997; Noble, 1988; Ribeiro, 2003]. Wiadomo, że konsekwencją tych nieprawidłowości jest większe ryzyko występowania u tych chorych schorzeń o podłożu infekcyjnym oraz rozwoju białaczek. Natomiast patomechanizm tych współzależności nadal pozostaje niejasny.

Pierwsze doniesienia dotyczące występowania zaburzeń odporności u pacjentów z ZD pojawiły się w latach siedemdziesiątych poprzedniego stulecia. Badania kliniczne z reguły przeprowadzano na grupie pacjentów przebywających w zakładach zbiorowej opieki, gdzie narażenie na liczne patogeny chorobotwórcze jest znacznie wyższe niż w środowisku domowym. Tym samym zwiększona ekspozycja na infekcje przyczynia się do modulacji układu immunologicznego. Stąd zrodziło się pytanie czy zaburzenia odporności mają charakter pierwotny i są w sposób nierozwalny związane z samym zespołem, czy może mają charakter wtórny? Czy obserwowane zaburzenia immunologiczne są przyczyną czy efektem nawracających zakażeń w tej grupie pacjentów? Tak więc wyeliminowanie tego czynnika daje nam możliwość obiektywnego i wiarygodnego formułowania wniosków dotyczących powyższych zależności. Potwierdzeniem występowania pierwotnych zaburzeń odporności u pacjentów z ZD są obserwacje dzieci przebywających w środowisku domowym. Natomiast pobyt tych pacjentów w zakładach opieki zbiorowej, poprzez wzmożoną stymulację antygenową może jedynie nasilać wrodzone zaburzenia odporności [Franceschi, 1992; Lockitch, 1987; Noble, 1988].

Obecnie bezdyskusyjnym wydaje się być fakt występowania zaburzeń odporności u pacjentów z ZD. Pacjenci ci prezentują szerokie spektrum nieprawidłowości immunologicznych, zarówno o charakterze ilościowym, jak i funkcjonalnym. I tak u tych dzieci obserwuje się: nieprawidłowe poziomy immunoglobulin, obniżenie liczby i zaburzenie wzajemnych proporcji subpopulacji limfocytów, obniżenie aktywności fagocytarnej neutrofilii oraz zaburzenia odpowiedzi proliferacyjnej limfocytów T na stymulację mitogenami. Ponadto wielu

autorów podaje charakterystyczny dla tego zespołu brak ekspansji limfocytów w pierwszych latach życia [Costello, 1976, de Hingh, 2005]. Zestawienie rodzaju stwierdzanych zaburzeń odporności u dzieci z ZD prezentuje tabela numer II.3.

Badania dotyczące zależności pomiędzy zwiększoną zapadalnością dzieci z ZD na infekcje a występowaniem zaburzeń odporności są rzadko spotykane w piśmiennictwie. Część autorów podaje, iż pomimo stwierdzanych zaburzeń odporności istnieje grupa pacjentów z ZD, która nie manifestuje żadnych objawów klinicznych typowych dla schorzeń infekcyjnych. Stąd twierdzenie o istnieniu wzajemnych powiązań tych procesów budzi kontrowersje [Cuadrado, 1996; de Hingh, 2005; Ribeiro, 2003].

Niemniej dominuje w piśmiennictwie pogląd, iż pomimo, że informacje dotyczące zaburzeń odporności w ZD są tak zróżnicowane, bezdyskusyjnym pozostaje fakt istnienia związku pomiędzy dysfunkcją układu immunologicznego a trisomią chromosomu 21.

parametr immunologiczny	nieprawidłowość	referencje
grasica		
	<ol style="list-style-type: none"> 1. inwolucyjne zmiany w budowie hist-pat 2. zaburzenia produkcji cytokin 3. wzmożona ekspresja cząsteczek adhezyjnych 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Bartelik, 1992; Franceschi, 1981; Fabris, 1984; Larocca, 1988; Levin, 1979; Philip, 1986; 2. Gerez, 1991; Gupta, 1983; Philip, 1986; Scotese, 1998; 3. Barrena, 1992; Cuadrado, 1996; Franceschi, 1981; Kennedy, 1992; Lin, 2001; Murphy, 1993; Taylor, 1988
subpopulacje limfocytów		
limfocyty B	↓	Cossarizza, 1991; Cuadrado, 1996; Douglas, 2005; de Hingh, 2005; Lockitch, 1987; Lukas, 1980, Noble, 1988
CD4+/ CD8+	odwrócenie	Barrena, 1993; Bertotto, 1994; Cossarizza, 1991; Cuadrado, 1996; de Hingh, 2005; Lockitch, 1987
CD4+CD45RA+	↓	Barrena, 1993; Bertotto, 1994, 1987; Cuadrado, 1996; Murphy, 1992
CD8+CD57+	↑	Cossarizza, 1991; Maccario, 1984;
NK	↑	Cossarizza, 1991; Lockitch, 1987; Noble, 1988; Maccario, 1984;
funkcja efektorowa		
limfocyty B IgA, IgG, IgM	N, ↓, ↑	Annaren, 1990; 1992; Bartelik, 1992; Lockitch, 1987; Lukas, 1980; Magnusson, 1997
produkcja specyficznych przeciwciał	defekt	Ribeiro, 2003
limfocyty T odpowiedź proliferacyjna	↓ odpowiedź na: <ol style="list-style-type: none"> 1. PHA, Con A, mitogen szkarłatki 2. anty-CD3 3. antygeny specyficzne 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Bertotto, 1987; Burgio, 1978; Karttunen, 1984; Licastro, 1994; Lockitch, 1987; Philip, 1986; Ribeiro, 2003; Stabile, 1991 2. Barrena, 1993; Bertotto, 1987; Scotese, 1998; 3. Philip, 1986;
produkcja cytokin	defekt	Gerez, 1991; Gupta, 1983; Philip, 1986; Scotese, 1998;
aktywność komórek NK	defekt	Cossarizza, 1991; Noble, 1988;
leukocyty		
zabijanie mikroorganizmów	↓ redukcji w teście NBT	Costello, 1976; Khan, 1975
fagocytoza, chemotaksja, adhezja	↓	Costello, 1976; Khan, 1975

Tabela II.3. Zaburzenia układu immunologicznego stwierdzone u pacjentów z ZD.

II.3.3.1. Nieprawidłowości w zakresie subpopulacji limfocytów

Podstawą wrodzonych oraz nabytych zaburzeń odporności jest niedobór lub dysfunkcja jednej lub wielu subpopulacji limfocytów. Kluczowym krokiem w diagnostyce dziecka podejrzanego o nieprawidłowości w zakresie układu immunologicznego jest ocena subpopulacji limfocytów przy pomocy cytometrii przepływowej. Limfocyty krążące w krwi obwodowej stanowią zaledwie 2% całkowitej liczby limfocytów. Wzajemne stosunki pomiędzy poziomem limfocytów krążących a ich tkankowymi rezerwuarami nie jest łatwo ocenić. Ponadto poszczególne subpopulacje mogą się znacznie i gwałtownie zmieniać pod wpływem bakteryjnych czy wirusowych infekcji, fizycznego lub emocjonalnego stresu oraz używania czy nadużywania leków. Stąd tak istotne jest wykonywanie badań diagnostycznych w okresie zdrowia pacjentów, nieobciążonych przyjmowaniem preparatów immunomodulujących. Prawidłowa interpretacja wyników cytometrii przepływowej opiera się przede wszystkim na odniesieniu do wartości prawidłowych z uwzględnieniem wieku pacjenta [Bonilla, 1997; Comans-Bitter, 1997; Erkeller-Yuksel, 1992; 2000; de Hingh, 2005; de Vries, 1999].

Badania oceniające subpopulacje limfocytów u pacjentów z ZD były wielokrotnie podejmowane, ale analiza porównawcza wykazała rozbieżność wyników uzyskiwanych przez poszczególnych autorów [Bartelik, 1992; Barrena, 1993; Bertotto, 1994; Burgio, 1978; Cossarizza, 1991; Cuadrado, 1996; Douglas, 2005; Gupta, 1983; de Hingh, 2005; Karttunen, 1984; Larocca, 1988; Lockitch, 1987; Lukas, 1980; Maccario, 1984; Noble, 1988; Philip, 1986]. Różne czynniki mogły leżeć u podłoża takiej postaci rzeczy. A mianowicie: celem oceny subpopulacji limfocytów u dzieci należy posługiwać się wartościami referencyjnymi opracowanymi dla danej grupy wiekowej; ponadto w różnych badaniach używano odmiennych markerów służących do fenotypizacji, co utrudnia porównanie badań z różnych ośrodków. Obecnie rozwój cytometrii przepływowej, jako metody immunofenotypizacji, umożliwia ujednoczenie uzyskiwanych wyników [Erkeller-Yuksel, 2000; de Hingh, 2005; Stabile, 1991; de Vries, 1999].

Do chwili obecnej dobrze udokumentowano występowanie zaburzeń w obrębie subpopulacji limfocytów, takich jak: niska liczba krążących limfocytów B, obniżenie poziomu limfocytów CD4, zwiększenie subpopulacji limfocytów CD8, co

w efekcie prowadzi do odwrócenia wskaźnika CD4/CD8 oraz zwiększony odsetek komórek z antygenami komórek NK na swej powierzchni [Cossarizza, 1991; Cuadrado, 1996; Lockitch, 1987].

Udokumentowaną odmiennością występującą u dzieci z ZD jest brak ekspansji limfocytów w pierwszych latach życia, jaką stwierdza się u dzieci zdrowych. W tym okresie życia stałe narażenie na antygeny środowiskowe prowadzi do stymulacji organizmu do masywnej aktywacji, proliferacji oraz dojrzewania limfocytów T i B. U dzieci z ZD ta wczesna ekspansja limfocytów T oraz B jest zniesiona, niezależnie od częstości przebytych infekcji czy też rozwoju u nich procesów autoimmunizacyjnych. Natomiast niektórzy autorzy uważają, że nawracające infekcje w tym okresie życia mają negatywny wpływ na rozwój odporności komórkowej, czyli mogą wyprzedzać powstałe zaburzenia odpowiedzi immunologicznej [de Hingh, 2005; Noble, 1988].

Średnia całkowita liczba limfocytów w grupie dzieci z ZD od 9 do 15 miesiąca życia jest niższa od norm dla dzieci zdrowych w chwili urodzenia. Podobny wzór odzwierciedlają wartości bezwzględne limfocytów T i B. U dzieci z ZD subpopulacje limfocytów T stopniowo wraz z wiekiem dziecka osiągają wartości normalne. Limfocyty B pozostają niskie przez cały okres dzieciństwa, aczkolwiek to właśnie spadek limfocytów B jest najbardziej zaznaczony w każdej grupie wiekowej [de Hingh, 2005].

II.3.3.1.1. Subpopulacje limfocytów T

Krające limfocyty T u pacjentów z ZD prezentują liczne fenotypowe nieprawidłowości. Zaobserwowano, że w tej grupie pacjentów zmniejszona jest ilość limfocytów CD4⁺/CD45RA⁺ tzw. naiwnych limfocytów T. Natomiast subpopulacja limfocytów CD4⁺/CD45RO⁺ tzw. limfocytów pamięci jest zdecydowanie większa [Barrena, 1993; Bertotto, 1994; Murphy, 1992].

Zdrowe noworodki są bardziej podatne na infekcje ze względu na niedojrzałość układu immunologicznego, co wynika z faktu, iż ich limfocyty nie miały jeszcze kontaktu z antygenami, a dominującą subpopulacją są właśnie komórki „naiwne”. Subpopulacja tych „naiwnych” limfocytów, głównie CD4⁺/CD3⁺, jest stale produkowana przez pierwszy rok życia, jako rezerwu

komórek, które po stymulacji antygenem dojrzewają funkcjonalnie i biorą udział w pierwotnej odpowiedzi immunologicznej [de Vries, 1999, 2000]. Na podstawie badań *in vitro* stwierdzono, że aktywacja limfocytów CD4⁺ powoduje sekwencyjne pojawienie się komórek o fenotypie CD29, CD45RO⁺ oraz stopniowy spadek ilości komórek o fenotypie CD45RA⁺. Tak więc subpopulacja komórek CD45RA⁺ stanowi rezerwuar regeneracyjny dla limfocytów CD4⁺. Obserwowana już w okresie dzieciństwa u pacjentów z ZD redukcja subpopulacji komórek CD45RA⁺ prawdopodobnie jest przyczyną obniżonej zdolności regeneracji limfocytów T CD4⁺ [Barrena,1993; Cuadrado,1996].

II.3.3.1.2. Odpowiedź proliferacyjna limfocytów T na stymulację mitogenem

Odpowiedź limfocytów na mitogeny takie jak: PHA (fitohemaglutynina) i Con A (konkawalina A) do 10 roku życia dzieci z ZD jest porównywalna do dzieci zdrowych, natomiast w drugiej dekadzie życia odpowiedź na powyższe antygeny ulega obniżeniu [Lockitch, 1987; Nespoli, 1993]. Podobnie Burgio i Bertotto podkreślają, iż prawidłowa odpowiedź proliferacyjna limfocytów T na PHA u dzieci z ZD jest uzależniona od wieku pacjentów. Obaj zaobserwowali, że w drugiej dekadzie życia pacjentów z trisomią 21 reakcja limfocytów na stymulację PHA gwałtownie i nieodwracalnie ulegała obniżeniu, osiągając patologicznie niskie poziomy [Bertotto, 1987; Burgio, 1978].

Natomiast Philip oceniając produkcję IL2 w odpowiedzi na stymulację niespecyficznym mitogenem PHA stwierdził (podobnie jak Karttunen), że jest ona porównywalna do obserwowanej u dzieci zdrowych. Jego badania ujawniły jednak nieprawidłowości produkcji IL2 w odpowiedzi na stymulację antygenami tężcowego toxoidu oraz antygenami wirusa grypy A oraz B. Zaobserwowana nieprawidłowość nasuwa wniosek, że proces ten jest uzależniony od natury zastosowanego stymulatora. Natomiast obserwowano prawidłową odpowiedź proliferacyjną na wybrane bakteryjne antygeny, takie jak: *staphylococcus* czy *streptococcus*. Fakt ten może sugerować, iż zaburzenia komórkowej odporności dotyczą tylko odpowiedzi na niektóre antygeny i nie jest to defekt „uniwersalny” [Karttunen, 1984; Philip, 1986].

Defekt odpowiedzi limfocytów T na stymulację mitogenami może być częściowo tłumaczony przez dominację subpopulacji limfocytów supresorowych oraz komórek NK, przy jednoczesnym obniżeniu odsetka limfocytów CD4+ w krwi obwodowej trisomicznych pacjentów. Znaczenie tej hipotezy podkreśla fakt, iż zaobserwowano wzrost produkcji IL2 w odpowiedzi na stymulację mitogenem w obecności subpopulacji limfocytów CD4+. Mechanizm ten może również tłumaczyć inne nieprawidłowości układu odpornościowego u pacjentów z ZD, takie jak: obniżony poziom immunoglobulin w surowicy krwi czy zaburzenia produkcji specyficznych IgG w odpowiedzi na antygeny przypominające [Bertotto, 1987; Karttunen, 1984; Philip, 1986].

II.3.3.1.3. Limfocyty B

Wiele publikacji donosi o zaburzeniach odporności humoralnej u pacjentów z ZD. Zaburzenia te dotyczą zarówno liczby krążących limfocytów B oraz ich aktywności, czyli produkcji samych immunoglobulin. Aczkolwiek ze względu na różnorodność przedstawianych wyników badań temat ten budzi wiele kontrowersji. **Większość autorów uważa, że limfopenia B utrzymująca się przez cały okres życia jest typowym objawem zaburzeń układu immunologicznego pacjentów trisomicznych** [Cossarizza, 1991; Cuadrado, 1996; Douglas, 2005; de Hingh, 2005; Lockitch, 1987; Lukas, 1980; Noble, 1988]. Jednakże istnieją również doniesienia, które nie potwierdziły obecności statystycznie istotnych zaburzeń liczby limfocytów B oraz produkcji poszczególnych klas immunoglobulin [Levin, 1979].

Wyniki badań odnośnie poziomu immunoglobulin u dzieci z ZD są sprzeczne. Poziom IgG, IgA oraz IgE oceniano jako podwyższony, jak i w zakresie normy; natomiast dane odnośnie poziomu IgD mówią o jego podwyższeniu, obniżeniu bądź o wartościach prawidłowych. **Jednak większość autorów zgodnie mówi o obniżonym poziomie IgM u dzieci z ZD.** Przejawem dojrzewania układu odpornościowego jest wzrost poziomu immunoglobulin wraz z wiekiem. I tak stwierdzany obniżony poziom IgM u dzieci z ZD stopniowo rośnie, jednakże nie ulega normalizacji. Natomiast poziom IgG oraz IgA jest wyższy w każdej grupie wiekowej pacjentów z ZD w porównaniu do ogółu populacji, a ich wzrost wraz z wiekiem jest bardziej gwałtowny niż u dzieci zdrowych [Bartelik, 1992; Levin, 1979; Lockitch, 1987; Magnusson, 1997].

U dorosłych z ZD stwierdzono znacznie obniżony poziom IgG₂ oraz IgG₄; natomiast poziom IgG₁ oraz IgG₃ przyjmował wartości prawidłowe lub podwyższone. **Obecnie uważa się, że około połowa dzieci z ZD ma niedobór IgG₄.** Podwyższony poziom IgG₁ oraz IgG₃ może być konsekwencją stymulacji nawracającymi bakteryjnymi infekcjami. Natomiast fakt, iż w odpowiedzi na zakażenie organizm pacjenta z ZD nie reaguje wzrostem poziomu IgG₂ oraz IgG₄ sugeruje zaburzenia ich wytwarzania. Tak więc obserwowana u dzieci z ZD zwiększona wrażliwość na infekcje bakteryjne może być częściowo tłumaczona niedoborem podklas immunoglobulin IgG₂ oraz IgG₄, które są odpowiedzialne za pierwotną odpowiedź organizmu na polisacharydowe antygeny bakterii otoczkowych, takich jak: *Streptococcus pneumoniae* oraz *Haemophilus influenzae* [Annaren, 1992].

Ponadto w piśmiennictwie podaje się istnienie u pacjentów trisomicznych deficytu pierwotnej i wtórnej produkcji specyficznych przeciwciał po stymulacji antygenami toxoidu błonniczego, wirusami grypy typu A i B, antygenami polisacharydowymi pneumokoków oraz po zastosowaniu szczepionki przeciwko durowi brzuszemu. Oceniając obecność w surowicy krwi krążących specyficznych immunoglobulin skierowanych przeciwko wirusowi *herpes simplex*, adenowirusom oraz antygenom wirusa grypy okazało się, że odsetek dzieci z ZD posiadających powyższe przeciwciała jest znacznie mniejszy w porównaniu do dzieci zdrowych [Philip, 1986].

Ponieważ żaden z genów regulujących produkcję immunoglobulin nie znajduje się w obrębie chromosomu 21 wyklucza się efekt superekspresji genów jako przyczyny powyższych zaburzeń. Istnieją dwie teorie tłumaczące te zaburzenia: zaburzone dojrzewanie limfocytów B, nieprawidłowe interakcje z limfocytami T lub kombinacja obu tych czynników oraz niedobór mikroelementów, takich jak selen. Stwierdzane o pacjentów z ZD zaburzenia dojrzewania limfocytów T mają również swoje odzwierciedlenie w nieprawidłowej regulacji funkcjonowania limfocytów B. Ponadto zaburzenia proporcji subpopulacji limfocytów (dominacja subpopulacji limfocytów supresorowych oraz komórek NK, przy jednoczesnym obniżeniu odsetka limfocytów CD4⁺ w krwi obwodowej) prowadzi do obniżenia produkcji immunoglobulin oraz zaburzenia produkcji specyficznych przeciwciał w odpowiedzi

na antygeny przypominające [Anneren, 1990, 1992; Barrena, 1992; Bertotto, 1987; de Hingh, 2005; Levin, 1979; Karttunen, 1984; Murphy, 1993; Philip, 1986].

II.3.3.1.4. Komórki NK

Wielu autorów podaje, że nasilająca się wraz z wiekiem ekspansja komórek NK jest kolejną nieprawidłowością układu immunologicznego charakteryzującą trisomię chromosomu 21 [Cossarizza, 1991; Cuadrado, 1996; Lockitch, 1987; Maccario, 1984; Noble, 1988]. Aczkolwiek istnieją w piśmiennictwie doniesienia negujące te obserwacje [de Hingh, 2005]. Rozbieżności przedstawianych przez naukowców teorii dotyczą również aktywności tych komórek. Istnieje jednak zgodność co do prawidłowej odpowiedzi trisomicznych komórek NK na działanie interferonu γ . Prawdopodobnie fakt, ten jest związany ze zwiększoną ekspresją genu dla receptora IFN γ kodowanego na chromosomie 21 oraz uogólnioną nadwrażliwością wszystkich komórek trisomicznych na tę cytokinę [Cossarizza, 1991; Kennedy, 1992; Maccario, 1984; Noble, 1988].

Rozwój cytometrii przepływowej umożliwił dokładne określenie fenotypu komórek NK dominujących w krążeniu pacjentów z ZD. Cossarizza zbadał komórki, posiadające na swej powierzchni markery związane z aktywnością komórek NK – CD16, CD56 oraz CD57. Okazało się, że pomimo nasilającej się wraz z wiekiem u pacjentów z ZD ekspansji komórek NK, aktywność tych komórek jest znacznie zredukowana w porównaniu do zdrowych rówieśników. Istnieją subpopulacje komórek z antygenami CD57+CD16– oraz CD57+CD16+ charakteryzujące się odpowiednio niską i średnią aktywnością NK. Interesujące jest, że u pacjentów z ZD dominuje przede wszystkim subpopulacja komórek z niską NK aktywnością, co szczególnie zaznaczone jest w przypadku osób dorosłych z tym zespołem, u których komórki te stanowią około 1/3 krążących limfocytów. Natomiast subpopulacja komórek CD57–CD16+ charakteryzująca się wysoką aktywnością NK jest zredukowana [Cossarizza, 1991; Nair, 1984; Stabile, 1991].

II.3.3.2. Leukocyty

Najczęściej spotykaną anomalią w obrębie leukocytów u pacjentów z ZD jest upośledzenie zdolności neutrofilii do zabijania mikroorganizmów, zwłaszcza *Candida albicans*. Dla tej grupy chorych charakterystyczna jest uboga redukcja w teście NBT obrazująca defekt zabijania mikroorganizmów. **W porównaniu do ludzi zdrowych wartości testu NBT oznaczane u pacjentów z trisomią chromosomu 21 są znacznie niższe.** Oceniając aktywność trisomicznych leukocytów okazało się, że zarówno indeks fagocytarny, jak i indeks adhezyjności są zredukowane. Jeśli porównamy chemotaktyczną migrację leukocytów pacjentów z ZD i ludzi zdrowych stwierdzamy, iż proces ten jest znacznie zredukowany u pacjentów obciążonych trisomią chromosomu 21. Jednakże zaburzeń tych nie obserwuje się jeżeli surowicę tych pacjentów poddamy inkubacji z egzogenną endotoksyną. Obserwacja ta nasuwa sugestię, iż defekt chemotaksji u pacjentów trisomicznych jest wtórny do defektu samych leukocytów i najprawdopodobniej dotyczy enzymów leukocytarnych.

Zaburzenia chemotaksji, fagocytozy oraz defekt zabijania mikroorganizmów obserwowane u pacjentów z ZD stanowią jeden z wielu immunologicznych mechanizmów, przyczyniających się do zwiększonej zachorowalności na infekcje [Costello, 1976; Khan, 1975].

II.4. Konsekwencje upośledzenie funkcji układu immunologicznego u pacjentów z ZD

Zaburzone procesy immunologiczne sprawiają, że pacjenci z ZD są bardziej wrażliwi na czynniki środowiskowe, w szczególności te infekcyjne. Fakt ten owocuje znacznie wyższą śmiertelnością w tej grupie pacjentów w porównaniu do ogółu populacji.

Zaburzenia odporności występujące u dzieci z ZD oraz obserwowana w tej grupie predyspozycja do nawracających infekcji, rozwoju nowotworów wywodzących się z układu krwiotwórczego, chorób z grupy autoagresji oraz przewlekłej kolonizacji różnymi patogenami są pośrednim dowodem na rzecz istniejących zaburzeń układu immunologicznego. Sytuacja ta może być również związana z interakcją pomiędzy genami a czynnikami środowiskowymi [Hill, 2003].

II.4.1. Nosicielstwo *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylorii*, HBV.

Proces przetrwałego, przewlekłego zakażenia wynika z braku zdolności organizmu do eliminacji patogenu. Wynika to nie tylko ze zjadliwości danego szczepu bakterii czy wirusa, ale również z upośledzeniem systemu obronnego organizmu. Natomiast przewlekłe nosicielstwo czyli przewlekła stymulacja układu immunologicznego może prowadzić do procesów nowotworzenia bądź rozwoju chorób naczyń wieńcowych.

Wśród pacjentów z ZD obserwuje się czterokrotny, a nawet według niektórych autorów szesnastokrotny wzrost ryzyka choroby niedokrwiennej serca. Wpływ na wzrost śmiertelności z tego powodu mają: nierozpoznane i nie leczone wady serca, nadwaga, niska aktywność fizyczna chorych oraz współistniejąca cukrzyca. Jednakże udział w patogenezie chorób układu krążenia w tej grupie pacjentów ma również wysoka zachorowalność na zapalenia płuc, grypę czy inne infekcje, w szczególności przewlekłe zakażenia *Chlamydia pneumoniae* [Hill, 2003].

Chlamydia pneumoniae jest pasożytem wewnątrzkomórkowym, wywołującym zakażenia dolnych i górnych dróg oddechowych. Wiele zakażeń tym patogenem ma charakter skąpo- lub bezobjawowy, z tendencją do przewlekania się procesu zapalnego. Sytuacja ta dotyczy najczęściej pacjentów z defektami immunologicznymi uniemożliwiającymi jego eliminację. Pod koniec lat osiemdziesiątych pojawiły się pierwsze doniesienia, a obecnie udowodniono już ścisły związek pomiędzy przewlekłym lub nawracającym zakażeniem *Chlamydia pneumoniae* a takimi schorzeniami jak: astma oskrzelowa, miażdżyca, choroba wieńcowa serca, rozwój tętniaka aorty brzusznej jak również z podwyższonym ryzykiem udaru mózgu [Mussa, 2006; Niedźwiadek, 2002].

Wśród chorych obciążonych trisomią chromosomu 21 częściej występują przewlekłe zakażenia *Helicobacter pylorii* prowadzące do powstawania nawracających wrzodów żołądka i dwunastnicy i w efekcie powodując zwiększenie zapadalności na nowotwory żołądka. Tym samym przewlekłe zakażenie tym patogenem przyczynia się do wzrostu śmiertelności w tej grupie chorych [Hill, 2003].

Wirusowe zapalenie wątroby typu B stanowi specyficzny problem kliniczny wśród pacjentów z upośledzeniem umysłowym, którzy przebywają w placówkach opieki zbiorowej. Problem ten szczególnie dotyka pacjentów z ZD, ponieważ u tych chorych zakażenie wirusem HBV przebiega w sposób niekonwencjonalny tj. znacznie częściej przechodzi w stan przetrwałej przewlekłej infekcji [Troisi, 1985]. Jeszcze w latach siedemdziesiątych i dziewięćdziesiątych poprzedniego stulecia znaczny odsetek pacjentów z ZD przebywał w ośrodkach opieki, gdzie duże skupisko ludzi, nieprawidłowe wzorce zachowań społecznych oraz problemy z higieną osobistą stanowiły istotny czynnik predysponujący do podobnych zakażeń [Hermon, 2001]. **Interesujące jest, iż porównując dwie populacje pacjentów z opóźnieniem rozwoju przebywające w tych samych ośrodkach opieki, pacjentów z ZD i bez ZD, antygenem HbsAg potwierdzono u 28% pacjentów z ZD w porównaniu do 3% - u pacjentów bez ZD** [Hill, 2003; Lockitch, 1987].

Obecnie większość dzieci z ZD pozostaje w środowisku domowym, co sprawiło wzrost transmisji wirusa wirusowego zapalenia wątroby typu B w publicznych szkołach, gdzie dzieci z ZD mogą kształcić się w klasach integracyjnych [Troisi, 1985], a z drugiej strony powinno przyczynić się do eliminacji nosicielstwa.

Fakt częściej występującej przewlekłej antygenemii HbsAg u pacjentów obciążonych trisomią chromosomu 21 w piśmiennictwie wiąże się z zaburzeniami odporności komórkowej oraz humoralnej, które mogą uniemożliwiać eliminację wirusa HBV z organizmu [Hawkes, 1978; Hill, 2003].

II.4.2. Choroby z grupy autoagresji

Podstawą chorób z grupy autoagresji jest patologiczny stan autoimmunizacji, w którym dochodzi do zaatakowania własnych tkanek i narządów organizmu w procesie **nieprawidłowo przebiegającej odpowiedzi immunologicznej**. Zjawisko autoagresji odgrywa istotną rolę nie tylko w patogenezie uogólnionych i narządowych chorób autoimmunizacyjnych, ale również w procesie starzenia się [Gołąb, 2002; Zembala, 2001].

U dzieci z ZD znamienne częściej występują choroby z grupy autoagresji w porównaniu do populacji generalnej. I tak obserwuje się wzrost ryzyka zachorowań na celiakię, niedoczynność tarczycy, przewlekłe aktywne zapalenie wątroby,

cukrzycę typu 1 oraz choroby dermatologiczne tj.: łysienie plackowate i bielactwo [Gillespie, 2006; Goldacre, 2004; Roizen, 2003; Shield, 1999]. Wymienione wyżej schorzenia autoimmunizacyjne wiąże się z nieprawidłową, dominującą odpowiedzią komórkową [Gołąb, 2002]. Stąd prawdopodobnie defekt dojrzewania i funkcji regulatorowej limfocytów T jest pierwotny do procesów autoimmunologicznych u pacjentów z ZD. Zaburzenia te mogą częściowo być spowodowane wzmożoną ekspresją LFA-1 (lymphocyte function-associated antigen - antygen związany z czynnością limfocytów) oraz wrażliwością tkanek na interferony.

LFA-1 obecna na komórkach limfoidalnych stymuluje adhezję do komórek prezentujących antygen w cytotoksycznych reakcjach zależnych od limfocytów T. Ekspresja LFA-1 jest wzmożona u pacjentów z ZD ze względu na fakt, iż gen dla łańcucha β tej cząsteczki (CD18) jest kodowany na chromosomie 21. Natomiast ekspresja ICAM-1 (intercellular adhesion molecule – cząsteczka adhezji międzykomórkowej), naturalnego ligandu LFA-1, jest wzmożona poprzez działanie $IFN\gamma$. Kompleks LFA-1/ICAM-1 ma ogromne znaczenie w interakcji pomiędzy tymocytami a komórkami epitelium grasicy. Wzmożona ekspresja tego kompleksu w prosty sposób prowadzi do zaburzenia dojrzewania limfocytów T, a to może prowadzić do rozwoju procesów autoimmunizacji.

Komórki trisomiczne charakteryzują się zwiększoną wrażliwością na działanie interferonów (IFN), co wyraża się intensyfikacją hamującego działania IFN na proliferacyjną odpowiedź limfocytów stymulowaną przez antygeny bądź mitogeny. Spośród wszystkich interferonów $IFN\gamma$ ma najsilniejszy wpływ na układ immunologiczny. Jest produkowany przez aktywowane limfocyty T i ma możliwość indukowania ekspresji cząsteczek MHC klasy II. Wynikiem tego procesu jest efektywna prezentacja tzw.: „ukrytych” epitopów autoantygenów oraz aktywacja limfocytów zdolnych do ich rozpoznania, co zapoczątkowuje proces autoimmunizacji.

Nie tylko wzmożona wrażliwość komórek na $IFN\gamma$ oraz hiperekspresja kompleksu LFA-1/ICAM-1 mogą inicjować wzmożoną prezentację autoantygenów. Podobny efekt wywołują również niskie poziomy hormonów grasiczych stwierdzone u dzieci z ZD oraz zaburzenia gospodarki hormonów tarczycy u matki w trakcie ciąży, wywołane przez wysokie poziomy ludzkiej gonadotropiny kosmówkowej (hCG) [Franceschi, 1981; Gołąb, 2002; Kennedy, 1992].

Pomimo przedstawionych powyżej teorii dotyczących podstaw molekularnych zjawiska autoagresji u pacjentów z trisomią chromosomu 21 nadal wielu autorów uważa, że problem ten wymaga dalszych badań [Gillespie, 2006; Roizen, 2003; Shield, 1999].

II.4.2.1. Celiakia

Szacuje się, że częstość występowania celiakii u dzieci z ZD wynosi od 4,6 do nawet 7,1%, a według niektórych autorów nawet 7 do 16%. Przy czym należy podkreślić, iż częstość występowania choroby trzewnej w populacji ogólnej określa się na 0,42% [Bermejo, 2003; van Cleve, cz.II, 2006; NASPGHAN, 2005; Roizen, 2005; Zubilaga, 1993].

Licastro uważa, że dysfunkcja nabłonka jelitowego u pacjentów z ZD prowadzi do zaburzeń wchłaniania wielu mikroelementów, między innymi cynku. Niedobór cynku i selenu zaś przyczynia się do niedoborów immunologicznych oraz zaburzeń endokrynologicznych w zakresie produkcji hormonów tarczycy. Ponadto zaburzenia funkcji nabłonka jelitowego są przyczyną wzmożonej ekspozycji na antygeny pokarmowe, tym samym zaburzając zależne od antygeny dojrzewanie komórek limfoidalnych w obwodowych narządach limfatycznych (kępkach Peyera skupionych w błonie śluzowej jelita). Proces ten może prowadzić do zwiększenia liczby krążących autoreaktywnych limfocytów i w efekcie indukować rozwój choroby trzewnej [Licastro, 2001].

Około 12,8 do 26% dzieci z ZD prezentuje wysokie poziomy przeciwciał antygliadynowych w klasie IgA (IgA-AGA). Wskazaniem do wykonania dalszych inwazyjnych badań diagnostycznych, jakim jest biopsja jelita cienkiego, jest współwystępowanie klinicznie jawnej choroby. Jednakże część z tych pacjentów jest zupełnie asymptomatyczna lub prezentuje bardzo skąpe objawy choroby trzewnej. Zatem klinicyści musi podjąć decyzję: które dzieci spośród tej grupy chorych należy kwalifikować do dalszych inwazyjnych badań diagnostycznych ?

Uważa się, że u podstaw predyspozycji pacjentów trisomicznych do zachorowań na chorobę trzewną leżą nieprawidłowości układu immunologicznego lub genetyczne uwarunkowanie związane z układem zgodności tkankowej HLA. Haplotyp HLA DQ2, DQ8, DR3, DR5, DR7 wiąże się ze zwiększoną częstością

występowania celiakii [NASPGHAN, 2005]. Castro i Zubilaga wykazali obecność haplotypu predysponującego u wszystkich pacjentów z ZD, u których rozpoznanie celiakii zostało potwierdzone biopsją jelita, niezależnie od występowania czy braku objawów choroby. Podobnie wg NASPGHAN u 100% chorych z ZD chorych na celiakię stwierdza się obecność heterodimeru DQ2. **Tak więc ocena antygenów HLA jest istotna w diagnostyce pacjentów z ZD i wysokim mianem przeciwciał IgA-AGA, którzy nie prezentują charakterystycznych objawów celiakii.** Należy również nadmienić, że całkowitą atrofię kosmków jelitowych w biopsji jelita cienkiego stwierdzono u około 1/3 pacjentów z podwyższonym mianem IgA-AGA [Castro, 1993; NASPGHAN, 2005; Zubilaga, 1993].

Stąd bezdyskusyjna jest konieczność prowadzenia badań przesiewowych w kierunku choroby trzewnej. Obecnie uważa się, że najbardziej czułym i swoistym markerem serologicznym celiakii jest oznaczanie przeciwciał przeciw transglutaminazie tkankowej w klasie IgA [NASPGHAN, 2005]. Stąd postępowaniem rekomendowanym przez Down Syndrome Medical Interest Group oraz Komitet Genetyczny Amerykańskiej Akademii Pediatrii jest ocena miana przeciwciał przeciw transglutaminazie tkankowej w klasie IgA oraz całkowitego poziomu IgA u wszystkich dzieci z ZD po ukończeniu pierwszego roku życia [Roizen, 2005; van Cleve, cz.I i II, 2006].

II.4.2.2. Niedoczynność tarczycy

Niedoczynność tarczycy wśród dzieci z ZD występuje 28 razy częściej niż w populacji z prawidłowym kariotypem. Podkreśla się fakt, iż częstotliwość występowania hypotyreozy u pacjentów z ZD rośnie wraz z wiekiem. W porównaniu do ogółu populacji u noworodków z ZD niedoczynność tarczycy rozpoznaje się nawet 30 razy częściej, a w populacji dorosłych z ZD rozpoznanie to stawia się nawet u 54% chorych. Roizen podaje, że rozpoznanie pierwotnej, wrodzonej niedoczynności tarczycy stawia się u 1 na 141 noworodków z ZD, w porównaniu do 1/4000 noworodków populacji ogólnej [Barg, 2006; Goldacre, 2003, Kamińska, 2005; Kennedy, 1992; Marder, 1997; Roizen, 2005].

Wśród przyczyn niedoczynności tarczycy w opisywanej grupie wymienia się: niedobór jodu, stres okołoporodowy, niedojrzałość osi podwzgórzowo-

przysadkowej, sekrecja tyreotropin o niskiej aktywności biologicznej oraz procesy autoimmunologiczne prowadzące do powstawania przeciwciał przeciwarczycowych [Kamińska, 2005]. Immunologiczny patomechanizm niedoczynności tarczycy jest szczególnie zaznaczony u dzieci starszych, podobnie jak w populacji generalnej. Obecność przeciwciał tarczycowych stwierdza się u 13-34% dzieci z ZD powyżej 8 roku życia (według niektórych autorów nawet 85%) i koreluje z występowaniem biochemicznych wykładników zaburzonej gospodarki hormonami tarczycy [Barg, 2006; Kennedy, 1992].

Ludzka gonadotropina kosmówkowa (hCG) strukturalnie jest podobna do hormonu tyreotropowego (TSH). Wysokie poziomy tego hormonu w trakcie ciąży mogą zaburzać gospodarkę hormonów tarczycy zarówno u matki, jak i u płodu. Hiperstymulacja tarczycy w trakcie ciąży może prowadzić do nasilenia efektywnej prezentacji autoantygenów układowi immunologicznemu, tym samym stanowi czynnik ryzyka rozwoju procesów autoimmunizacji [Kennedy, 1992].

Ponadto uważa się, że istnieje związek pomiędzy niedoborem mikroelementów a niedoczynnością tarczycy u chorych z ZD. Komórki tarczycy są stale poddane działaniu wolnych rodników – endogennego H_2O_2 , który pełni rolę kofaktora reakcji jodowania prekursorów tyroksyny. Niedobór selenu u dzieci z ZD prowadzi do zmniejszenia aktywności metaloenzymów (zawierających selen) pełniących funkcję ochronną przed działaniem wolnych rodników. Natomiast doniesienia dotyczące roli niedoboru cynku w prawidłowym funkcjonowaniu tarczycy budzą kontrowersje [Barg, 2006].

Niedoczynność tarczycy u pacjentów z ZD zwykle ma charakter subkliniczny. Ponadto w praktyce lekarskiej trudno jest odróżnić objawy hypotyreozy od charakterystycznych cech ZD. Opóźnienie rozwoju psychomotorycznego, sucha marmurkowata skóra, wolna akcja serca oraz skłonności do zaparć stanowią typowy obraz kliniczny zarówno niedoczynności tarczycy, jak i zespołu Downa. **Stąd zasadnym stało się stworzenie systemu profilaktyki niedoczynności tarczycy i tak zgodnie z wytycznymi Down Syndrome Medical Interest Group oraz Komitetu Genetycznego Amerykańskiej Akademii Pediatrii konieczna jest kontrola poziomu hormonów tarczycy (TSH, FT4) raz w roku** [Barg, 2006; van Cleve, 2006].

II.4.2.3. Cukrzyca

Częstotliwość występowania cukrzycy typu I (IMMD - insulin dependent diabetes mellitus) u dzieci z ZD jest znacznie wyższa w porównaniu do populacji generalnej. W piśmiennictwie mówi się o cztero, a nawet ośmiokrotnie wyższym ryzyku zachorowania na IMMD dla dzieci z trisomią chromosomu 21. Ponadto już w latach sześćdziesiątych zauważono, że szczyt zachorowań na IMMD w tej grupie pacjentów pojawia się znacznie wcześniej – około 8 roku życia *versus* 14 rok życia u dzieci nie obciążonych tym genetycznym zespołem (wg Bergoldta 6 rż *versus* 8 rż). Bardziej współczesne badania podają, że spośród dzieci z ZD i rozpoznaną IMMD u 22% objawy rozwinęły się do 2 roku życia, natomiast w populacji ogólnej rozpoznanie choroby w tym wieku postawiono u 7% pacjentów z IMMD [Bergholdt, 2006; Gillespie, 2006].

Istnieje kilka teorii dotyczących patomechanizmu leżącego u podłoża IMMD u dzieci z ZD. Dotyczą one procesu przedwczesnego starzenia się organizmu, wpływu stylu życia, ale największe znaczenie przypisuje się obserwowanej w tym zespole predyspozycji do rozwoju procesu autoagresji.

Gillespie w oparciu o badania 106 dzieci z ZD oraz 2860 zdrowych rówieśników (w obu grupach nie stwierdzono klinicznych cech cukrzycy) postawiła tezę o zwiększonej subklinicznej predyspozycji do rozwoju procesów autoimmunizacyjnych skierowanych przeciwko wyspom trzustki w populacji dzieci obciążonych ZD. Spośród przebadanej grupy dzieci 106 z ZD u sześciorga stwierdzono obecność dwóch lub więcej markerów tj.: przeciwciał przeciwko insulinie (IAA), proinsulinie (IA-2A) oraz białku błonowemu p65 (GADA glutamine acide decarboxylase antibody); natomiast spośród grupy dzieci zdrowych markery te stwierdzono zaledwie u 13 dzieci. Ponadto Gillespie podaje, że ekspresja antygenów zgodności tkankowej HLA klasy II DR4-DQ8 oraz DR3-DQ2 nie jest wzmożona u pacjentów z ZD. Aczkolwiek dzieci z ZD oraz IMMD prezentują ten sam układ HLA, który charakteryzuje cukrzycę typu 1 w populacji generalnej, sugerując istnienie podobnej etiologii w patogenezie IMMD. U żadnego z badanych dzieci z ZD i towarzyszącą IMMD nie stwierdzono występowania protekcyjnego haplotypu HLA klasy II DRB1-DQB1 [Gillespie, 2006]. W opozycji do tej teorii stoją wyniki badań przeprowadzonych przez Bergholdta. Autor badaniami objął 2094 pacjentów z

ZD, z czego u ośmiorga rozpoznano IMMD. Spośród tych ośmiu pacjentów tylko u jednego stwierdzono obecność haplotypu predysponującego do rozwoju IMMD, zaś u sześciu stwierdzono haplotyp protekcyjny. Co skłania do poszukiwania innych niż układ HLA czynników ryzyka IMMD u pacjentów z ZD. Ponadto dotychczasowe badania dotyczące antygenów zgodności tkankowej HLA klasy II nie ujawniły jakichkolwiek różnic pomiędzy populacją pacjentów z trisomią chromosomu 21 a populacją ogólną. **Stąd sugestia, że zwiększona predyspozycja tych pacjentów do autoimmunizacji nie wynika ze zmian w obrębie układu HLA. Musi więc istnieć gen na chromosomie 21, którego wzmożona ekspresja prowadzi do zwiększonej zapadalności dzieci z ZD na IMMD. Współczesne metody sekwencjonowania genów umożliwiły odkrycie takiego genu w regionie 21q21.11-q22.3. Odkrycie to wymaga jeszcze dalszych badań** [Bergholdt, 2005, 2006; Gillespie, 2006; Kamińska, 2005; Roizen, 2005; Shield, 1999]. Natomiast niezależnie od patomechanizmu powstawania cukrzycy typu 1 u pacjentów z ZD dodatkowo przyczynia się do wzrostu śmiertelności w tej grupie [Hermon, 2001].

II.5. Przypuszczalny patomechanizm występowania zaburzeń odporności u pacjentów z ZD

W piśmiennictwie istnieje wiele hipotez dotyczących patogenezы zaburzeń odporności u pacjentów z ZD: zmniejszona aktywność hormonów grasiczych, niedobór cynku, zaburzenia regulacji cytokin IL2, TNF α oraz IFN γ w obrębie grasicy lub zwiększona ekspresja genu dla integryny łańcucha β 2 (CD18) i w efekcie hiperekspresja cząsteczek adhezyjnych (LFA-1; ICAM-1). Jednakże nie ma jedności uznawanych poglądów. Ponadto nadal istnieją kontrowersje czy opisane procesy są efektem przedwczesnego starzenia się organizmów trisomicznych czy może są związane z nadmiarem materiału genetycznego. Prawdopodobnie sekwencjonowanie chromosomu 21 stanie się pomocne w rozwiązaniu tego problemu.

II.5.1. Przedwczesne starzenie się organizmu

Charakterystyczne dla ZD są objawy przedwczesnego starzenia się, co usprawiedliwia zakwalifikowanie tego zespołu do grupy chorób określanych mianem „segmental progeroid syndromes”. Choroby te są definiowane jako genetyczne

zaburzenia, których fenotyp prezentuje wiele aspektów procesu przedwczesnego starzenia się [Annaren, 1990; Douglas, 2005; Hasle, 2000].

Kliniczną manifestacją tego procesu jest fakt, iż znaczna większość dorosłych pacjentów z ZD do 40 roku życia rozwinię neuropatologiczne objawy choroby Alzheimera (chA). Nie bez wpływu na patogenezę chA u pacjentów z ZD pozostaje fakt nadmiaru materiału genetycznego. U tych pacjentów obserwuje się cztero-, a nawet pięciokrotny wzrost ekspresji genu APP (amyloid beta/A4 precursor protein - 21q21.3-22.05), co powoduje odkładanie się w mózgu β amyloidu tworzącego charakterystyczne dla tej choroby starcze blaszki oraz sploty neurofibrularne. Ponadto wzrost ekspresji genu S100B (S100 calcium binding protein) stymuluje nadmierną proliferację gleju.

Dodatkowym czynnikiem przyspieszającym starzenie się komórek jest stres oksydacyjny. Kolejnym enzymem zakodowanym na chromosomie 21 i biorącym udział w patogenezie omawianego procesu jest dysmutaza nadtlenkowa (CuZnSOD). Funkcją tego enzymu jest usuwanie szkodliwych nadtlenkowych wiązań. Obserwowany 50 % wzrost aktywności CuZnSOD w tkankach pacjentów z ZD, zaburza równowagę tlenowego metabolizmu komórki, a tym samym inicjuje stres oksydacyjny przyspieszając starzenie się komórek. Ponadto wzrost aktywności tego enzymu powoduje również obniżenie wrażliwość organizmu na karcynogeny [Annaren, 1990; Douglas, 2005; Hasle, 2000]. Natomiast gen Ets2 kodujący czynnik transkrypcyjny w przypadku swojej zwiększonej aktywności prowadzi do zintensyfikowania procesu neuronalnej apoptozy [Roizen, 2003; Samiksan Dutta, 2005].

Konsekwencją przedwczesnego starzenia się jest nie tylko rozwój chorób neurodegeneracyjnych, takich jak chA, ale również szereg innych nieprawidłowości charakteryzujących ZD. Podkreśla się związek pomiędzy powyższym procesem a występowaniem zaburzeń odporności, chorób z grupy autoagresji czy chorób rozrostowych układu krwiotwórczego występujących w relatywnie młodej grupie pacjentów z ZD, w porównaniu do populacji generalnej [Park, 2000; Ribeiro, 2003]. Sugeruje się, że obserwowane zaburzenia w zakresie subpopulacji limfocytów są uwarunkowane wiekiem pacjentów, ponieważ obserwowany skład procentowy poszczególnych subpopulacji u dzieci z ZD jest podobny do prawidłowych wartości stwierdzanych u zdrowych dorosłych. Pomimo, że liczba limfocytów CD3, CD8 oraz

CD4 jest niższa niż stwierdzana w ogólnej populacji, to prezentuje podobną, jak u dzieci zdrowych, tendencję spadkową wraz z wiekiem. Takich tendencji nie wykazuje poziom limfocytów B, który nie ulega zmianom zależnym od wieku, aczkolwiek przyjmuje wartości niższe niż obserwowane w populacji ogólnej.

Obraz wzajemnych stosunków subpopulacji limfocytów CD4⁺ (przewaga limfocytów CD4⁺/CD45RO⁺ nad CD4⁺/CD45RA⁺) u dzieci z ZD odpowiada zmianom stwierdzanym u zdrowych dorosłych. Przy czym w przypadku dzieci z trisomią chromosomu 21 zjawisko to jest bardziej nasilone, a tempo zachodzących wraz z wiekiem zmian znacznie przyspieszone. Nieprawidłowy fenotyp subpopulacji CD4⁺ oraz wszelkie zmiany w obrębie subpopulacji pojawiające się wraz z wiekiem pacjentów dają obraz przedwczesnego starzenia się układu immunologicznego u tych ludzi [Barrena, 1993; Bertotto, 1994; Cuadrado, 1996; Murphy, 1992].

Subpopulacja limfocytów CD57⁺ fizjologicznie zwiększa się wraz z wiekiem i podobną zależność zaobserwowano również u pacjentów z ZD, jednakże fenomen ten jest znacznie bardziej nasilony i jego występowanie przyspieszone w omawianej grupie pacjentów [Cossarizza, 1991; Cuadrado, 1996]. Fakt ten stanowi kolejny argument przemawiający za akceleracją procesów starzenia się u pacjentów z ZD.

Ponadto wraz z wiekiem pacjentów z ZD obserwujemy również inne zmiany w zakresie układu immunologicznego. Poziom cynku w surowicy ZD jest o 20-30% niższy u ogółu populacji. Obniżenie to utrzymuje się na stałym poziomie przez całe życie tych pacjentów. Efektem niedoboru cynku w organizmie jest obniżona aktywność hormonów grasiczych, co także przyczynia się do powstawania niedoborów odporności [Fabris, 1986].

Teoria o roli procesu przedwczesnego starzenia się, jako patomechanizmu zaburzeń odporności w tej grupie pacjentów, została wysunięta na podstawie obserwowanych zmian w obrębie subpopulacji limfocytów (obniżenie liczby limfocytów T i B oraz wzrost liczby komórek NK) porównywalnych z obserwowanymi u zdrowych dorosłych. Badania subpopulacji limfocytów u dzieci z ZD wykonane przez de Hingh w oparciu o cytometrię przepływową nie potwierdziły tak podkreślanej przez innych autorów ekspansji komórek NK [Cossarizza, 1991; Lockitch, 1987; Noble, 1988; Maccario, 1984]. Obserwowane w okresie noworodkowym i pierwszych latach życia u dzieci z ZD zaburzenia adaptacyjne

układu immunologicznego stanowią argument negujący teorię o jego przedwczesnym starzeniu się [de Hingh, 2005; Lukas, 1980]. Prawdopodobnie obserwowany relatywny wzrost liczby komórek NK należałoby wiązać z obniżeniem liczby limfocytów T oraz B. Ponadto de Hingh uważa, iż obserwowana wraz z wiekiem normalizacja poziomu subpopulacji limfocytów T przeczy teorii o przedwczesnym starzeniu się układu immunologicznego. Pozostaje również kwestią sporną czy normalizacja wraz z wiekiem subpopulacji limfocytów T obserwowana u ZD odzwierciedla populacje komórek z prawidłowym fenotypem i funkcją, pomimo ich ograniczonej ekspansji we wcześniejszym wieku [de Hingh, 2005].

II.5.2. Nieprawidłowości budowy i funkcji grasicy

Podstawy zwiększonej wrażliwości na infekcje w tej grupie pacjentów nie są jeszcze dobrze poznane, aczkolwiek wiadomo, że budowa grasicy dzieci z ZD, w porównaniu do zdrowych rówieśników, różni się w znacznym stopniu. Zmiany te dotyczą przede wszystkim budowy histopatologicznej, takich jak: hipoplazja grasicy, przerost tkanki łącznej, uboga korowo-rdzeniowa demarkacja, zmniejszenie liczby tymocytów oraz obecność olbrzymich ciałek Hassall'a (HC). Obserwowane u pacjentów z ZD zmiany histopatologiczne w obrębie grasicy są zmianami typowymi dla procesu inwolucji. Podobne ogromne HC stwierdza się również u chorych na miastenię czy toczeń rumieniowaty. Co ciekawe w większości jednostek chorobowych związanych z deficytem limfocytów T, pomimo podobnego zmniejszenia limfocytów w obrębie samej grasicy, nie obserwuje się ogromnych HC. Uważa się, że powstawanie HC jest związane z obumieraniem tymocytów. Stąd pojawia się sugestia, że ogromne HC stwierdzone u pacjentów z ZD są efektem przyspieszonej inwolucji grasicy [Bartelik, 1992; Larocca, 1988; Levin, 1979; Philip, 1986].

Obserwowane zmiany dotyczące grasicy pacjentów z ZD mają również charakter funkcjonalny, dotyczą przede wszystkim nieprawidłowego wzoru dojrzewania tymocytów. Obrazem nieprawidłowej funkcji grasicy jest obniżony odsetek komórek dojrzałych fenotypowo z ekspresją wysokich poziomów TCR $\alpha\beta$ i CD3, oraz nieefektywne uwalnianie dojrzałych limfocytów do krwi obwodowej [Larocca, 1988; Murphy, 1990, 1992]. Ponadto dysfunkcja grasicy prowadzi do

niedoboru aktywnych hormonów grasiczych takich jak: tymozyna, FTS (serum thymic factor) oraz tymopoetyna. Niedobór ten co przyczynia się do obniżenia liczby aktywnych limfocytów, przesunięcia w wartościach odsetkowych subpopulacji limfocytów oraz zaburzenia ich funkcji (np.: obniżenia odpowiedzi limfocytów T na mitogeny PHA).

Podobne zmiany w zakresie budowy histologicznej grasicy oraz obniżona aktywność hormonów grasiczych obserwowane są również u ludzi w wieku podeszłym. **Tak więc obserwowana u dzieci z ZD przyspieszona involucja grasicy oraz obniżenie poziom FTS w surowicy do wartości porównywalnych dla tych, stwierdzanych u zdrowych dorosłych może być dowodem na przedwczesne starzenie się układu immunologicznego. Zmiany patologiczne w zakresie histologicznej budowy grasicy skutkują jej nieprawidłową funkcją, a w efekcie prowadzi to do powstawania zaburzeń odporności komórkowej** [Bartelik, 1992; Fabris, 1984; Franceschi, 1981; Philip, 1986].

II.5.3. Niedobór mikroelementów

U większości dzieci z ZD stwierdza się współistnienie niedoboru poziomu cynku, aczkolwiek istnieją również doniesienia o prawidłowych poziomach tego mikroelementu w omawianej grupie dzieci [Fabris, 1986; Licastro, 1994; Lockitch, 1987; Noble, 1988; Stabile, 1991].

Wiadomo, że niedobór cynku, niezależnie czy wrodzony czy nabyty, istotnie wpływa na układ odpornościowy. Cynk jest kofaktorem wielu enzymów wpływających na układ immunologiczny na wielu płaszczyznach, jak również wpływa na syntezę DNA i RNA. Obniżenie poziomu cynku w surowicy krwi obniża zależną od cynku aktywację tymuliny, grasiczego hormonu obecnego we krwi krążącej. Zadaniem tymuliny jest stymulacja dojrzewania limfocytów T czyli nabywanie przez nie immunokompetencji. Już 20-30% obniżenie poziomu tego mikroelementu w surowicy krwi prowadzi do zaburzeń aktywności FTS. Niedobór cynku oraz obniżona aktywność hormonów grasiczych są charakterystyczne nie tylko dla dzieci z ZD, ale również dla ludzi w podeszłym wieku [Fabris, 1986; Franceschi, 1981; Garrison, 2005; Lockitch, 1987; Licastro, 1994; Stabile, 1991].

Podobne objawy dotyczące zaburzeń układu immunologicznego obserwuje się u pacjentów z niedoborem cynku nie obciążonych trisomią 21 (na przykład w przebiegu *acrodermatitis enteropatica* lub niedożywienia białkowego). Fakt ten dodatkowo podkreśla rolę niedoboru tego mikroelementu w prawidłowej odpowiedzi immunologicznej. Doustna terapia niskimi dawkami cynku (1mg/kg masy ciała/dobę) przez okres czterech miesięcy powoduje normalizację jego poziomu w surowicy krwi, jednocześnie doprowadzając do normalizacji aktywności tymuliny. Natomiast wydłużenie tej kuracji powyżej 4 miesięcy ma działanie supresyjne na układ immunologiczny [Licastro, 1994]. Efektem tej terapii jest wzrost aktywności limfocytów w odpowiedzi na mitogeny PHA oraz Con A, ponadto wzrost migracji granulocytów wielojądrzastych w odpowiedzi na czynniki chemotaktyczne oraz wzrost fagocytozy opsonizowanych bakterii. Jednakże substytucja cynku pozostaje bez wpływu na nieprawidłowości w zakresie liczby krążących leukocytów oraz zaburzeń subpopulacji limfocytów CD8, CD4 oraz CD3. Stabile uważa, że zastosowanie wyższych dawek cynku (mg/kg masy ciała/dobę) przez krótszy okres czasu (około dwóch miesięcy) daje podobny efekt modulujący odporność. Konkludując zaobserwowaną kliniczną korzyścią terapii cynkiem jest obniżenie liczby infekcji u dzieci z ZD [Licastro, 1994; Stabile, 1991].

Oceniając odporność humoralną u dzieci z ZD stwierdzono, że pomimo prawidłowych poziomów IgG, u dzieci tych często obserwuje się niedobór podklas IgG₂ oraz IgG₄. Istnieją dwie teorie tłumaczące te zaburzenia: nieprawidłowości w zakresie odporności komórkowej lub niedobór mikroelementów, takich jak selen. Anneren podkreśla znaczenie suplementacji selenu, jako czynnika zwiększającego koncentrację IgG₂ oraz IgG₄ w surowicy krwi, pozostając bez efektu na poziom IgG₁ oraz IgG₃ [Anneren, 1992]. Na podkreślenie zasługuje fakt, iż niskie poziomy selenu w surowicy odnotowano u pacjentów z ciężkimi zakażeniami bakteryjnymi, nie znajdując takiej zależności u osób chorujących na infekcje o etiologii wirusowej. Obserwacja ta potwierdza rolę IgG₂ w odpowiedzi organizmu na zakażenia bakteryjne. Stąd wydaje się słuszną podaż niskich dawek selenu w diecie, aby przerwać koło zależności: niedobór selenu, obniżony poziom IgG₂ i w efekcie nawracające infekcje. Natomiast suplementacja tego mikroelementu pozostaje bez wpływu na poziom IgM, IgA, IgD oraz IgE. Selen jest również składnikiem wielu metaloenzymów, takich jak peroksydaza glutationu, tak więc uzupełnienie

niedoborów selenu w organizmie powoduje wzrost aktywności enzymów zależnych od selenu, a tym samym poprawia ochronę przed wolnymi rodnikami. Selen zaś wpływa na wzrost (obniżonej u pacjentów z ZD) ekspresji receptorów dla IL-2 na limfocytach, a tym samym może wpływać na wzrost proliferacyjnej odpowiedzi limfocytów T na antygeny lub mitogeny [Annaren, 1990; Magnusson, 1997].

II.5.4. Zaburzenia wewnątrzkomórkowej transmisji sygnału

Nieprawidłowości układu immunologicznego stwierdzone u pacjentów trisomicznych dotyczą również zaburzeń funkcjonowania limfocytów, czego obrazem jest uboga odpowiedź proliferacyjna limfocytów T na stymulację fytomitogenami, czy przeciwciałami skierowanymi przeciwko powierzchniowym antygenom CD3, CD26 oraz CD2. Bertotto uważa, że ta funkcjonalna dysfunkcja limfocytów T jest prostą konsekwencją zmian fenotypowych obserwowanych w obrębie tej subpopulacji. Zaobserwowano, że w tej grupie pacjentów zmniejszona jest ilość limfocytów CD4+/CD45RA+ tzw. naiwnych limfocytów T. Natomiast subpopulacja limfocytów CD4+/CD45RO+ tzw. limfocytów pamięci jest zdecydowanie większa [Barrena, 1993; Bertotto, 1987, 1994; Murphy, 1992].

Antygen CD45 jest zaangażowany w przezbłonową transmisję sygnału, pozostając ściśle powiązany z antygenem CD26. Przeciwciała anti-CD26 wpływają na komodulację antygeny CD26 z CD45RO+, tym samym nasilając fosforylację łańcucha ζ kompleksu CD3/TCR oraz przyczyniając się do wzrostu aktywności kinazy tyrozynowej. Przeciwciała anti-CD26 jednakże pozostają bez wpływu na antygen CD45RA+ stąd wniosek, że antygen CD45RO+ jest kluczowym czynnikiem amplifikującym odpowiedź proliferacyjną limfocytów T po stymulacji przeciwciałami anti-CD3, anti-CD26 czy anti-CD2. Większość limfocytów T CD4+ u pacjentów z ZD ma niską ekspresję CD26 (większość z nich to CD4+ CD26-), czego efektem jest upośledzona odpowiedź na powyższe mitogeny. Obserwacje te sugerują istnienie zaburzeń transmisji „pierwszych” sygnałów aktywacji [Bertotto, 1994].

Zwolennikiem teorii istnienia funkcjonalnego defektu układu immunologicznego w grupie pacjentów z ZD jest również Scotese. Obecnie coraz częściej słyszy się doniesienia, że limfocyty T obecne w krążeniu pacjentów z ZD

mają wysoką ekspresję antygeny CD3 oraz łańcuchów α/β receptora TCR, co tym samym potwierdza obecność dojrzałych limfocytów w krążeniu tych pacjentów. Dojrzałe limfocyty T powinny odpowiadać proliferacją na stymulację antygenem CD3, jednakże u pacjentów z ZD odpowiedź ta jest znacznie upośledzona. Ciekawy jest fakt, iż pacjenci ci prezentują prawidłową odpowiedź proliferacyjną na jonomycynę czy estry forbolu, co sugeruje istnienie defektu wczesnego etapu procesu aktywacji, nie zaburzając aktywacji kinazy białkowej C. Za koncepcją zaburzenia wewnątrzkomórkowej transmisji sygnału dodatkowo przemawia zredukowana odpowiedź limfocytów T uzależniona od wewnątrzkomórkowego stężenia wapnia oraz zaburzenia regulacji receptorów dla IL2 [Scotese, 1998].

W trakcie procesu aktywacji, zarówno limfocytów T oraz B, uruchomiona zostaje kaskada wewnątrzcytoplazmatycznych molekuł przenoszących sygnał od receptorów błonowych aż po jądro komórkowe. Aktywacja kompleksu TCR/CD3 prowadzi następnie do fosforylacji łańcucha ζ receptora TCR, aktywacji rodziny *src* kinaz tyrozynowych *fyn* i *lck* oraz przyłączenie się białka ZAP-70 do receptora. Integralność tego wewnątrzkomórkowego systemu komunikacji jest konieczna dla prawidłowego rozwoju i różnicowania limfocytów. Scotese analizował fosforylację wewnątrzkomórkowych białek w przebiegu aktywacji limfocytów T po stymulacji antygenem CD3. Badania te ujawniły brak fosforylacji tyrozyny białek migrujących w strefie 21 i w strefie 60-70 kD, gdzie migruje białko ZAP-70. Natomiast prawidłowa fosforylacja białek migrujących do strefy 42-44 kD wskazuje na częściowo aktywną ścieżkę transdukcji sygnału po stymulacji antygenem CD3.

Żaden z do tej pory poznanych czynników, biorących udział w opisanym procesie aktywacji limfocytów, nie jest kodowany przez geny zlokalizowane na chromosomie 21. Tak więc może nieprawidłowości pozakomórkowego mikrośrodowiska zaburzają transmisję sygnału przez kompleks TCR/CD3. Natomiast chromosom 21 zawiera geny kodujące receptor α dla interferonu oraz łańcuch β receptora γ dla interferonu. Istnieje teoria, że właśnie zwiększona ekspresja powyższych genów może prowadzić do zaburzeń CD3 sygnału.

Konkludując: niedobory odporności u pacjentów z ZD częściowo mają charakter funkcjonalny i są związane z nieprawidłowym procesem fosforylacji tyrozyny, inicjowanym przez kompleks TCR/CD3 [Scotese, 1998].

II.5.5. Zaburzenia ekspresji genów dla IL-2

IL2 określana jako czynnik wzrostu limfocytów T (TCGF) jest najważniejszą molekułą biorącą udział w odpowiedzi immunologicznej zależnej od limfocytów T. Jest syntetyzowana przez limfocyty T aktywowane przez antygeny lub mitogeny. Efektem jej działania jest stymulacja proliferacji limfocytów T oraz aktywacja komórek NK. Defekt produkcji IL2, zaburzenia ekspresji lub funkcji receptorów dla IL2 mogą stanowić patomechanizm zaburzeń odporności komórkowej oraz schorzeń autoimmunizacyjnych u pacjentów z ZD [Barrena, 1992; Gerez, 1991; Karttunen, 1984]. **Badania przeprowadzone przez Karttunen ujawniły prawidłową produkcję IL2 w odpowiedzi na stymulację mitogenami (PHA) przez limfocyty T pacjentów obciążonych ZD. Natomiast podaż egzogennej IL2 pozostała bez wpływu na blastogenezę. Fakt ten sugeruje istnienie funkcjonalnego defektu receptorów dla IL2 na limfocytach trisomicznych [Karttunen, 1984].**

II.5.6. Hiperekspresja cząsteczek LFA-1 oraz ICAM

Jednym z patomechanizmów nieprawidłowej odpowiedzi immunologicznej (zarówno komórkowej, jak i humoralnej) u pacjentów z ZD jest hiperekspresja cząsteczek adhezyjnych LFA-1 oraz ICAM [Barrena, 1992]. LFA-1 jest heterodimerską molekułą obecną w błonie komórkowej, która składa się z dwóch niekowalencyjnie związanych łańcuchów α (CD11a) oraz β (CD18). LFA-1 spełnia funkcję cząsteczki adhezyjnej pomiędzy komórkami limfoidalnymi a szpikowymi oraz pobudza cytotoksyczną aktywność limfocytów T.

Zaobserwowano, że ekspresja LFA-1 na komórkach trisomicznych jest wzmożona. Fakt ten może wynikać ze zwiększonej ilości materiału genetycznego, ponieważ gen dla łańcucha β (CD18) tej cząsteczki jest zlokalizowany na chromosomie 21. Antygen CD18 jest niezbędny dla prawidłowej ekspresji CD11a, a formowanie kompleksu CD18/CD11a na powierzchni komórek może być wzmożone poprzez nadprodukcję CD18. Tak więc w przypadku pacjentów z ZD mamy do czynienia ze zwiększoną ekspresją obu antygenów [Barrena, 1992; Lin, 2001; Murphy, 1993; Taylor, 1988].

Jak powszechnie wiadomo interakcja pomiędzy tymocytami a mikrośrodowiskiem grasicy jest niezbędna dla prawidłowego procesu dojrzewania

limfocytów T. Jest to możliwe dzięki wiązaniu się LFA-1 na niedojrzałych oraz aktywowanych tymocytach z ICAM-1, ligandem dla LFA-1. Wzrost ekspresji tej cząsteczki w grasicy pacjentów z ZD jest rezultatem zwiększonej wrażliwości komórek trisomicznych na działanie cytokin, takich jak: IFN γ oraz TNF oraz wzmożeniem ekspresji tych cytokin. Dowodem na to może być ostatnio zaobserwowana zwiększona ilość mRNA dla IFN γ oraz TNF w komórkach grasicy pacjentów z ZD. Wpływom tych cytokin poddane są jeszcze inne cząsteczki adhezyjne – MHC klasy II oraz CD40, których ekspresja na komórkach mikrośrodowiska grasicy u pacjentów z ZD jest również podwyższona. Ponadto Murphy stwierdził, że w przeciwieństwie do ludzi zdrowych, u których ekspresja ICAM-1 dominuje w obrębie rdzenia grasicy, u pacjentów z ZD aktywność tej cząsteczki jest wysoka zarówno w obrębie rdzenia jak i kory grasicy. Odmienna niż u zdrowych ludzi dystrybucja ICAM-1 jest prawdopodobnie związana z ubogim rozgraniczeniem korowo-rdzeniowym charakterystycznym dla zespołu.

Tak więc wzmożona ekspresja tych adhezyjnych cząsteczek oraz nieprawidłowa dystrybucja ICAM-1 w grasicy pacjentów z ZD może prowadzić do wzmożonej i nieprawidłowej interakcji pomiędzy dojrzewającymi tymocytami a komórkami mikrośrodowiska. Proces ten może skutkować zwiększoną utratą tymocytów i tłumaczy skąpe utkanie kory oraz obniżony odsetek komórek o wysokiej ekspresji TCR $\alpha\beta$ oraz CD3 w grasicy pacjentów z ZD, czyli zaburzeniem dojrzewania limfocytów T [Murphy, 1993]. Ponadto międzykomórkowa kooperacja pomiędzy komórkami limfoidalnymi jest warunkiem optymalnej odpowiedzi immunologicznej nie tylko w zakresie prawidłowego dojrzewania tymocytów, ale również adhezji cytotoksycznych limfocytów T do komórek zainfekowanych wirusem oraz reakcji pomiędzy limfocytami T a autogenami [Barrena, 1992; Kennedy, 1992; Taylor, 1988].

Barrena i współpracownicy sugerują, że heterogenna ekspresja LFA-1 na leukocytach krwi obwodowej nie jest wynikiem wzmożonej ekspresji tej molekuly na powierzchni komórek, lecz konsekwencją zaburzonej równowagi pomiędzy poszczególnymi subpopulacjami limfocytów czyli niejednorodną dystrybucją komórek z wysokim i niskim poziomem LFA-1. I tak wzmożoną ekspresję LFA-1 obserwuje się na limfocytach CD8 z ekspresją antygeny CD57, a subpopulacja ta jest znacznie zwiększona u pacjentów z ZD, co skutkuje inwersją wskaźnika CD4/CD8.

U pacjentów z ZD obserwuje się wzrost puli limfocytów CD45RO+ tzw. limfocytów pamięci, na powierzchni tych komórek również stwierdzono zwiększoną ekspresję adhezyjnych molekuł [Barena, 1992]. Jednakże w opozycji do tego poglądu Murphy twierdzi, że u zdrowych ludzi dystrybucja LFA-1 na tymocytach ma charakter jednorodny, co podważa istnienie związku pomiędzy wzmożoną ekspresją LFA-1 a zaburzeniami proporcji poszczególnych subpopulacji limfocytów. Podkreśla tym samym, że hiperekspresja cząstek adhezyjnych, charakterystyczna dla trisomii 21 jest ewidentnie konsekwencją nadmiaru materiału genetycznego [Murphy, 1993].

II.6. Aktualnie obowiązujący program opieki medycznej nad dzieckiem z ZD

Ze względu na rozliczne problemy medyczne związane z ZD koniecznym stało się stworzenie wytycznych opieki nad dzieckiem obciążonym trisomią chromosomu 21. Istotą takiego systemu opieki medycznej jest wyrobienie w lekarzu pierwszego kontaktu wzmożonej czujności wykrywania nieprawidłowości związanych z zespołem. Wczesna interwencja zaś ma na celu maksymalizację długości i jakości życia tych pacjentów. Down Syndrome Medical Interest Group we współpracy z Komitetem Genetyki Amerykańskiej Akademii Pediatrii w 2001 roku opublikowały schemat medycznego nadzoru nad pacjentem z ZD. Stworzono system wielospecjalistycznej opieki nad pacjentem od momentu urodzenia aż do osiągnięcia wieku dorosłego oraz system wsparcia rodziców w zakresie stymulacji rozwoju oraz uspołecznienia tych pacjentów [AAP, Committee on Genetics; 2001]. Podsumowanie najnowszej wiedzy na temat zespołu oraz modernizację istniejących wytycznych przedstawiono w artykule autorstwa Susan van Cleve [van Cleve, 2006]. Sumaryczne zestawienie tych wytycznych prezentuje tabela numer II

WIEK w latach								
specjalista badanie diagnostyczne	diagnoza	1/2	1	1 1/2	2	2 1/2	3	>4
genetyk kariotyp, porada	+							
kardiolog ECHO	+							
audiolog ABR lub OAE		+	+	+	+	+	+	1x/rok
okulista badanie refrakcji, dno oka, testy ortoptyczne		+	+		+		+	1x/rok
endokrynolog TSH, fT4	+	+	+		+		+	1x/rok
stomatolog profilaktyka próchnicy					+	+	+	2x/rok
skrining celiakii total IgA, IgA-TAG					+			
neurolog RTG kręgosłupa szyjnego, badanie							RTG +	1x/rok
rozwój Ośrodek Wczesnej Interwencji	+	+	+	+	+	+	+	stale
brak wytycznych dotyczących prewencji zakażeń								

Tabela II.4. Wytyczne opieki nad dzieckiem z ZD [van Cleve, 2006].

Pomimo wszechstronności przedstawionego systemu opieki zabrakło w nim wskazań odnośnie postępowania z dzieckiem obciążonym wywiadem nawracających infekcji oraz wskazań do wysokospecjalistycznej diagnostyki układu immunologicznego.

W piśmiennictwie zalecane jest poszerzenie podstawowego kalendarza szczepień u dziecka z ZD o szczepionkę przeciwko pneumokokom, jako działanie zapobiegające zakażeniom. Dziecko z ZD powinno otrzymać tę szczepionkę już w pierwszym roku życia [APP, 2001]. Natomiast van Cleve w swym opracowaniu podaje, że niemowlę z ZD powinno otrzymać wszystkie rekomendowane szczepienia [van Cleve, cz.I, 2006]. Należy jednak zwrócić uwagę, że istnieją różnice w

programach szczepień ochronnych realizowanych w poszczególnych krajach Unii Europejskiej oraz w Stanach Zjednoczonych Ameryki. I tak w Wielkiej Brytanii do obowiązkowych szczepień należy skoniugowana szczepionka przeciwko meningokokom, w USA do obowiązkowych szczepień należy skoniugowana szczepionka przeciwko pneumokokom oraz przeciwko grypie, w obu tych krajach szczepionka przeciwko *Haemophilus influenzae* typ b (Hib) również jest obowiązująca. Natomiast w Polsce program szczepień ochronnych na rok 2006 zatwierdzony przez Głównego Inspektora Sanitarnego nie obejmuje szczepień zalecanych do stosowania u dzieci z zaburzeniami odporności w ramach profilaktyki nawracających infekcji tj.: inaktywowanych szczepionek przeciwko wirusowi grypy oraz szczepień przeciwko bakteriom otoczkowym. Wyjątek stanowią dzieci z rodzin wielodzietnych oraz dzieci przebywające w domach dziecka – dla tej grupy pacjentów szczepienia przeciwko Hib są finansowane ze środków Ministerstwa Zdrowia. Ze względu na rozbieżności w programach szczepień obowiązujących w różnych krajach brak jest jasności, które szczepienia należy uznać za „rekomentowane” w grupie dzieci z ZD.

Ponadto van Cleve uważa, że u dzieci z trisomią chromosomu 21 zasadnym może być stosowanie w okresie całego sezonu zwiększonej wiremii wirusa RS (czyli od listopada do kwietnia) comiesięcznych, domięśniowych iniekcji z immunoglobuliny anty-RSV /preparat Palivizumab firmy Syngis - jest to hybrydyzowana, humanizowana immunoglobulina monoklonalna (IgG₁) z silnym powinowactwem do powierzchniowego białka F wirusa *syncytium* nabłonka oddechowego (RSV)/. Postępowanie takie zaleca się u dzieci do 24 miesiąca życia obciążonych wadami serca, wcześniactwem, przewlekłymi chorobami płuc (takimi jak: mukowiscydoza, dysplazja oskrzelowo-płucna, astma oskrzelowa) czy nieprawidłowościami w zakresie układu immunologicznego [AAP, Committee on Infectious Diseases and Committee on Fetus and Newborn, 2003; van Cleve, cz.I, 2006].

W stworzonym przez AAP programie opieki nad dzieckiem z trisomią 21 zabrakło wytycznych odnośnie wysokospecjalistycznej diagnostyki immunologicznej. Istnieją wprawdzie zestawienia patologicznych sytuacji, na podstawie których można podejrzewać u dziecka istnienie zaburzeń odporności. Natomiast często skąpoobjawowy przebieg kliniczny zaburzeń odporności u dzieci z

ZD sprawia, że nie spełniają one kryteriów stosowanych dla ogółu populacji. Fakt ten może prowadzić do zaniechania wykonania badań diagnostycznych u tych pacjentów, a co za tym idzie do pojawienia się powikłań związanych z nieskuteczną terapią infekcji. Dlatego też koniecznym wydaje się stworzenie specjalnych kryteriów kwalifikacji pacjentów do wykonania badań diagnostycznych układu immunologicznego dla potrzeb grupy pacjentów z ZD (bądź zaadaptowanie istniejących kryteriów stosowanych dla populacji ogólnej).

II.7. Podsumowanie

Konkludując: drugą co do częstości przyczyną śmiertelności w grupie pacjentów z ZD są infekcje. Ze względu na ciężki przebieg infekcji w tej grupie dzieci wymagają one znacznie częściej leczenia szpitalnego; szczególnie dotyczy to dzieci młodszych oraz tych ze współistniejącą wadą serca. Wysoka śmiertelność śródinfekcyjna u dzieci z ZD wynika przede wszystkim z ciężkiego przebiegu klinicznego zakażeń w tej grupie dzieci. Fakt ten wiąże się z występowaniem pierwotnych zaburzeń odporności, co wpływa zarówno na przebieg kliniczny oraz uzyskiwany ostateczny efekt terapeutyczny zakażeń w tej grupie dzieci.

Ponieważ nadal związek pomiędzy zwiększoną podatnością dzieci z ZD na infekcje a występowaniem zaburzeń odporności budzi kontrowersje podjęliśmy się próby określenia czy taka korelacja istnieje w populacji dzieci z ZD zamieszkującej rejon województwa pomorskiego.

Dzięki stworzonemu systemowi opieki medycznej nad dzieckiem obciążonym trisomią chromosomu 21 możemy skupić się na prewencji nieprawidłowości związanych z zespołem, a nie na leczeniu ich powikłań. Ta wczesna interwencja ma na celu maksymalizację długości i jakości życia tych pacjentów, co w ogromnym stopniu już nam się udało, biorąc pod uwagę długość życia tych pacjentów i stopień ich uspołecznienia. Jednakże w opublikowanych wytycznych zabrakło wskazówek odnośnie opieki nad dzieckiem z ZD obciążonym wywiadem nawracających infekcji. Tak więc system ten wymaga pewnych aktualizacji. Stąd ostatecznym celem mojej pracy jest próba ustalenia standardów postępowania z dzieckiem z ZD obciążonym nawracającymi infekcjami, czyli stworzenie wytycznych kwalifikacji tych pacjentów do wykonywania specjalistycznych badań diagnostycznych oraz sposobu postępowania profilaktycznego nawracających infekcji.

III. Cel pracy

1. Analiza retrospektywna częstości występowania oraz przebiegu klinicznego zakażeń u dzieci z ZD, w odniesieniu do wydolności ich układu immunologicznego.
2. Stworzenie standardów postępowania zapobiegającego infekcjom w tej grupie.

IV. Materiał i metody

IV.1. Charakterystyka badanych dzieci

Badaniami objęto 67 dzieci z zespołem Downa, pozostających pod opieką Poradni Genetycznej SPSK 1 ACK Akademii Medycznej w Gdańsku. Analizie poddano okres od 2003 do 2006 roku. Dziesięcioro dzieci zakwalifikowano do grupy porównawczej, natomiast 57 pacjentów zostało zakwalifikowanych do grupy badanej tj. grupy wysokiego prawdopodobieństwa występowania zaburzeń odporności. Kryterium doboru pacjentów był obciążony retrospektywny wywiad chorobowy, co najmniej dwiema z przedstawionych poniżej patologicznych sytuacji sugerujących istnienie zaburzeń w obrębie układu immunologicznego. Wychodząc z założenia (w oparciu o dane z piśmiennictwa), że schorzenia infekcyjne u pacjentów z ZD charakteryzują się odmiennym, najczęściej skrytym przebiegiem klinicznym dokonano dla potrzeb niniejszej pracy modyfikacji kryteriów klinicznych, kwalifikujących pacjentów do przeprowadzenia szczegółowej diagnostyki układu immunologicznego. Zasadnicze kryteria kwalifikacji pacjentów do udziału w badaniu to:

- u przebycie 4 lub więcej zakażeń dróg oddechowych lub uszu w ciągu roku
- u przewlekły przebieg kliniczny infekcji
- u każdorazowo infekcja przebiega z gorączką oraz wymaga podaży antybiotyku
- u okresy zdrowia pomiędzy infekcjami wahają się od 1 do 2 tygodni
- u rozpoznanie dwóch lub więcej zapaleń płuc w ciągu roku
- u przebycie ciężkiego zakażenia o lokalizacji narządowej: OUN, kości, skóry lub posocznicy
- u hospitalizacja z powodów infekcyjnych w 1 lub 2 roku życia
- u zastosowanie preparatów immunoglobulin w terapii zakażeń.

W dalszej analizie wyodrębniono trzy grupy pacjentów: A, B i C, kierując się specyfiką przebiegu klinicznego oraz częstością występowania u nich schorzeń infekcyjnych:

- **grupę A** – dzieci z ZD, obciążone wywiadem nawracających i przewlekłych infekcji
- **grupę B** – dzieci z ZD, obciążone wywiadem infekcji o wyjątkowo ciężkim i przewlekłym przebiegu klinicznym
- **grupę C** – dzieci z ZD, stanowiące grupę porównawczą, u których wywiad retrospektywny nie wykazał występowania przewlekłych i nawracających infekcji

Na prowadzenie badań uzyskano zgodę Niezależnej Komisji Bioetycznej do Spraw Badań Naukowych przy Akademii Medycznej w Gdańsku.

GRUPA A

Grupę A stanowiło 31 dzieci, spełniających zasadnicze kryteria kwalifikacji do udziału w badaniu. Wiek chorych wahał się od 1 do 17 lat (średnia wieku 6,1 roku; odchylenie standardowe 4,7 roku; mediana 4,5 roku). Grupa objęła nieznaczna przewagę płci męskiej: 14 (45,2%) dziewcząt i 17 (54,8%) chłopców. Wiek, płeć, przebieg kliniczny zakażeń oraz współtowarzyszące schorzenia przedstawiono w tabeli IV.1.

Lp.	chory	wiek /lata	płeć	częstość infekcji w skali roku	liczba hospitalizacji w 1 rż	liczba hospitalizacji w 2 rż
1	AA	11,0	K	6	1	0
2	AM	7,5	K	8	1	0
3	BZ	1,5	M	4	1	1
4	BJ	16,0	M	5	1	0
5	BB	3,0	K	4	1	1
6	BiJ	1,0	M	5	0	0
7	BS	4,0	M	4	1	0
8	CA	2,0	M	4	1	0
9	DD	4,5	K	6	0	0
10	DC	4,5	K	6	0	1
11	DM	3,0	M	6	1	0
12	DA	15,0	M	6	1	1

13	KJ	5,0	K	3	1	0
14	KK	3,5	K	6	1	0
15	KB	13,0	M	4	0	0
16	KA	11,0	M	4	0	1
17	KuK	13,0	M	4	0	2
18	ŁK	5,0	M	6	0	0
19	MJ	5,0	K	6	0	1
20	MK	1,0	K	4	0	0
21	MA	8,0	M	5	0	1
22	OM	2,0	K	5	0	0
23	PE	4,0	K	4	1	1
24	PA	6,5	M	5	2	0
25	PO	1,5	M	6	0	0
26	RM	17,0	M	4	0	0
27	RD	8,0	M	4	0	0
28	SK	4,0	M	3	2	0
29	SW	6,0	K	6	3	1
30	WJ	2,5	M	6	0	0
31	ZM	1,0	M	8	1	0

Tabela IV.1. Wiek, płeć i przebieg kliniczny zakażeń u pacjentów w grupie A.

GRUPA B

Spośród zakwalifikowanych dzieci do próby badawczej wyodrębniono grupę 26 dzieci obciążonych wywiadem nawracających zakażeń o wyjątkowo ciężkim i przewlekłym przebiegu klinicznym. Grupa ta liczyła także nieznaczną przewagę płci męskiej: 11 (42,3%) dziewcząt i 14 (53,8%) chłopców w wieku od 6/12 do 22 lat (średnia wieku 5,9 roku; odchylenie standardowe 4,7 roku; mediana 5,5 roku). Ponadto do grupy B zakwalifikowano również młodego mężczyznę z ZD, w wieku 22 lat, który spełniał zasadnicze kryteria kwalifikacji oraz kryteria włączenia opracowane dla grupy A, a jednocześnie był krewnym pierwszego stopnia jednego z pacjentów. Uznano, iż istotnym dla tej pracy będzie porównanie wyników badań układu immunologicznego u rodzeństwa, obciążonego trisomią chromosomu 21.

Oprócz wspomnianych powyżej zasadniczych kryteriów kwalifikacji do badania celem zakwalifikowania dziecka do grupy B opracowano i stosowano następujące **kryteria włączenia:**

- 8 i więcej infekcji w skali roku
- 4 i więcej hospitalizacji z przyczyn infekcyjnych w 1 roku życia
- 4 i więcej hospitalizacji z przyczyn infekcyjnych w 2 roku życia
- przebycie posocznicy
- przewlekły charakter zakażeń (powyżej miesiąca)
- 2 i więcej zapaleń płuc w skali roku
- zastosowanie preparatów immunoglobulin w terapii zakażeń.

Wiek, płeć oraz przebieg kliniczny zakażeń przedstawiono w tabeli IV.2.

Lp.	chory	wiek /lata	płeć	częstość inf./rok	liczba hospit. w 1 rż	posocznica w wywiadzie	przewlekły przebieg infekcji	> 2 zapaleń płuc/rok	terapia sandoglobuliną
1	BK	3,0	M	10	1	0	0	0	0
2	BD	9,0	M	6	0	0	0	0	0
3	BeD	10,0	K	6	5	0	0	0	0
4	BM	4,0	M	8	1	0	0	1	0
5	BA	2,5	M	10	2	0	0	1	1
6	BB	22,0	M	5	2	0	1	1	0
7	BJ	15,0	K	12	2	0	0	1	0
8	BG	6,0	M	5	5	0	0	1	0
9	BI	5,0	K	12	1	0	0	0	0
10	FZ	7,0	K	10	6	0	0	1	0
11	GM	6,0	K	5	1	1	1	1	0
12	JD	7,0	M	6	5	1	0	1	0
13	KW	8,0	K	8	1	0	1	1	0
14	KK	3,0	K	6	2	1	0	0	0
15	MJ	6,5	M	10	0	0	0	0	0
16	NK	1,0	K	5	4	0	0	1	0
17	PK	0,5	M	8	4	1	1	1	1
18	RS	4,0	M	8	6	0	0	1	0
19	SŁ	2,5	M	6	1	0	1	1	1
20	SA	2,0	K	5	1	0	1	1	1

21	TG	0,5	M	6	3	0	0	0	0
22	TK	8,0	K	8	0	0	0	0	0
23	WP	6,0	M	8	0	0	1	0	0
24	WF	4,0	M	8	6	0	1	1	1
25	WŁ	10,	M	6	0	0	0	0	0
26	ZD	2,0	M	10	5	0	0	0	0

Tabela IV.2. Wiek, płeć i przebieg kliniczny zakażeń pacjentów w grupie B.

GRUPA C

Do grupy porównawczej włączono 10 dzieci z ZD pozostających pod opieką Poradni Genetycznej SPSK 1 ACK Akademii Medycznej w Gdańsku. Grupa objęła znaczną przewagę płci męskiej: 2 (20%) dziewczynki i 8 (80%) chłopców w wieku od 2/12 do 17 lat (średnia wieku 4,3 roku; odchylenie standardowe 4,6 roku; mediana 3,0 roku). Celem zakwalifikowania dziecka do grupy C opracowano i stosowano następujące **kryteria włączenia**:

- wiek od 1/12 do 18 lat
- płeć – dowolna
- retrospektywny wywiad chorobowy nieobciążony nawracającymi i przewlekłymi infekcjami
- badanie fizykalne w momencie kwalifikacji do badań nie wykazywało uchwytnych cech schorzeń infekcyjnych
- zgoda rodziców lub opiekunów prawnych na wykonanie badań.

IV.2. Metodyka badań

W czasie prowadzonych badań u wszystkich dzieci przeanalizowano dane epidemiologiczne oraz kliniczne zebrane na podstawie ankiety przedstawionej w załączniku numer 1. Ankieta obejmuje dane z wywiadu ciąży-porodowego, wywiadu rodzinnego, wiek, płeć, kliniczny przebieg infekcji, zastosowaną immunoprofilaktykę oraz schorzenia współtowarzyszące.

U każdego dziecka przed pobraniem próbki krwi dokonano oceny stanu klinicznego w poszukiwaniu uchwytnych cech infekcji. Dzieci te nie przyjmowały żadnych leków, mogących mieć wpływ na wyniki badań.

U wszystkich analizowanych chorych dokonywano jednorazowego oznaczenia morfologii krwi obwodowej, stężeń immunoglobulin IgA, IgG, IgM, subpopulacji limfocytów oraz aktywności granulocytów testem NBT.

IV.2.1. Analiza wywiadu chorobowego

Analizie poddano dane kliniczne uzyskane z wywiadów chorobowych, powstałych w oparciu o przygotowaną ankietę. Istotnym w ustaleniu podejrzenia istnienia zaburzeń funkcjonowania układu odpornościowego jest analiza częstości i rodzaju występujących zakażeń, przebiegu klinicznego infekcji, skuteczności stosowanego leczenia, powikłań poszczepiennych oraz wywiadu rodzinnego. Ponadto analizie poddano rodzaj stosowanej immunoprofilaktyki oraz współistnienie schorzeń predysponujących do nawracających infekcji (wrodzone wady serca, GOR, przerost migdałków: podniebiennych oraz gardłowego, choroby alergiczne).

IV.2.2. Badania biochemiczne

Zgodnie z przyjętą metodyką badań u wszystkich dzieci (z grup A, B i C) dokonano jednorazowego oznaczenia morfologii krwi obwodowej, stężeń immunoglobulin IgA, IgG, IgM, subpopulacji limfocytów oraz aktywności granulocytów przy wykorzystaniu testu NBT.

ocena morfologia krwi obwodowej

Morfologię krwi obwodowej oraz rozmaz białokrwinkowy krwi obwodowej oznaczano przy pomocy aparatu LH-750 Coulter-Beckmann. Uzyskane wyniki odniesiono do referencyjnych norm wiekowych podanych przez Nelsona, przedstawionych w załączniku numer 3.

oznaczenie stężeń immunoglobulin IgA, IgG, IgM

Oznaczenia stężeń immunoglobulin IgA, IgG, IgM dokonano w oparciu o metodę nefelometryczną z wykorzystaniem przeciwciał firmy Abbott. Miarą oceny reakcji jest nefelometryczny pomiar światła rozproszonego przez utworzone kompleksy antygen-przeciwciała. Interpretując wyniki stężeń immunoglobulin IgA, IgG, IgM odniesiono się do wartości referencyjnych opracowanych przez Kowalczyk [Zeman, 2002, tabela 37], które przedstawiono w załączniku numer 2.

Badania morfologii krwi obwodowej oraz oznaczanie poziomu immunoglobulin IgA, IgG, IgM były wykonywane w Centralnym Laboratorium Klinicznym SPSK 1 ACK AMG kierowanym przez dr Annę Skibowską-Bielińską.

ocena subpopulacji limfocytów

Ocenę dystrybucji poszczególnych subpopulacji limfocytów: CD3+, CD4+, CD8+, CD19+, CD16+56+, anty HLA-DR dokonano w oparciu o metodę cytometrii przepływowej, przy użyciu cytometru firmy Beckman Coulter® typu Cytomics FC 500, z wykorzystaniem układu odczynników przeciwciał:

- γ 1 FITC / γ 1 PE
- CD3 FITC / CD4 PE
- CD3 FITC / CD8 PE
- CD3 FITC / CD19 PE
- CD3 FITC / CD16+56+ PE
- CD3 FITC / anty HLA-DR PE

Oznaczenie to dokonano według specyfikacji producenta CRM *ImmunoTrol Low* SOP 01 S/ RM01. Interpretując wyniki wartości procentowych poszczególnych subpopulacji limfocytów odniesiono się do wartości referencyjnych przedstawionych przez Zemana [Zeman, 2002, tabela 35], przedstawione w załączniku do pracy tabela... Natomiast wartości bezwzględne subpopulacji limfocytów odniesiono do wartości referencyjnych opracowanych przez Comans-Bitter, przedstawionych w załączniku numer 5 i 6 [Comans-Bitter, 1997].

test NBT

Do oceny czynnościowej granulocytów wykorzystano test oceniający zdolność do wybuchu tlenowego tzw. test szkiełkowy NBT – w wersji spontanicznej i stymulowanej. Test ten opiera się na ocenie w mikroskopie świetlnym odsetka komórek wykazujących wewnątrzkomórkowe złogi formazanu – zredukowanej formy błękitu nitrotetrazoliowego (NBT). Test ten wykonano przy użyciu odczynników oraz w oparciu o procedury opracowane przez firmę Sigma-Aldrich.

Za wartość referencyjną przyjęto wynik 2-14 % w teście spontanicznym oraz 40-100 % w teście stymulowanym – wartości rekomendowane przez producenta odczynników.

Ocena subpopulacji limfocytów oraz test NBT zostały wykonane w Zakładzie Immunopatologii SPSK 1 ACK AMG kierowanym przez dr n med. Grażynę Moszkowską.

IV.2.3. Metody oceny statystycznej

Dane kliniczne i wyniki badań własnych zostały zgromadzone w bazie danych skonstruowanej w programie Microsoft Excel dla Windows XP (Microsoft).

Analiza statystyczna została przeprowadzona na zlecenie, przy pomocy programu Statistica dla Windows, wersja 7.1 (Statsoft, Inc.,2005) licencjonowanego dla Akademii Medycznej w Gdańsku. Właściwa analiza statystyczna poprzedzona została sprawdzeniem zgodności rozkładów wartości badanych parametrów z rozkładem normalnym za pomocą testu Shapiro-Wilka. Porównanie cech mierzalnych i porządkowych w analizowanych podgrupach było wykonane przy użyciu testów parametrycznych lub nieparametrycznych w zależności od rozkładu analizowanej zmiennej. W przypadku dwóch analizowanych podgrup stosowano test t Studenta lub test U Manna-Whitneya. W przypadku większej niż dwie liczby podgrup zastosowano test mediany lub test ANOVA Friedmana.

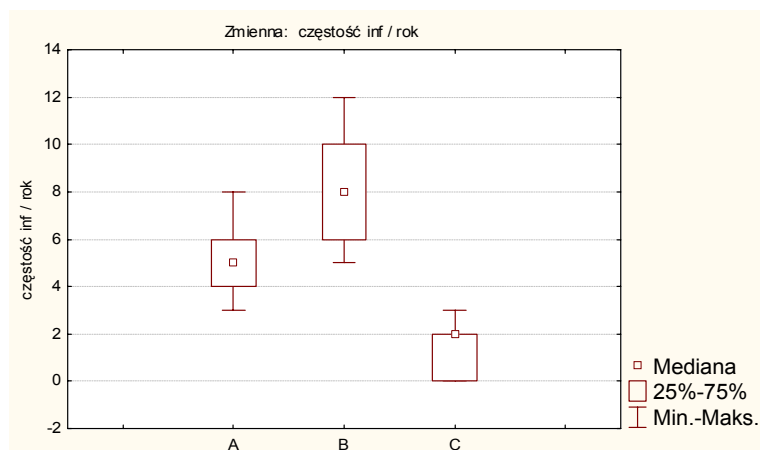
Związki w skalach jakościowych analizowano za pomocą testu chi-kwadrat Pearsona z poprawką Yatesa, dokładnym testem Fishera i testem V-kwadrat. Cechy ilościowe scharakteryzowano podając ich wartość minimalną, maksymalną, medianę, średnią arytmetyczną oraz odchylenie standardowe. Za poziom istotności przyjęto prawdopodobieństwo testowe $p=0,05$.

V. Wyniki

V.1. Charakterystyka grup klinicznych w oparciu o dane uzyskane z wywiadu

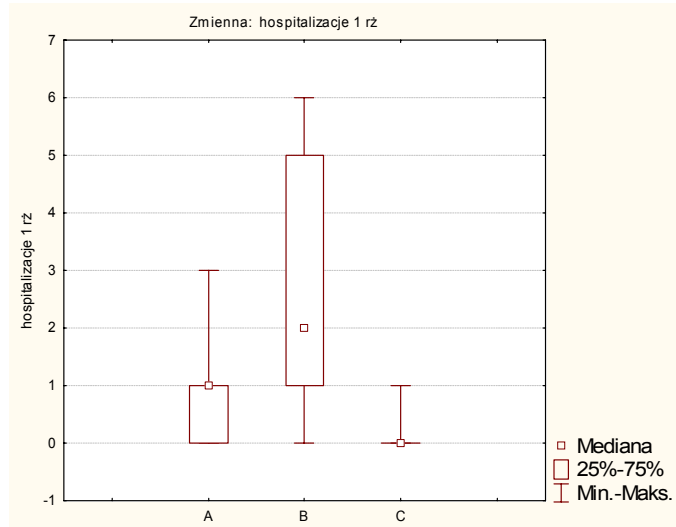
Jednym z zasadniczych warunków wykonania badań diagnostycznych u dzieci z ZD zakwalifikowanych do poszczególnych grup klinicznych był ich dobry stan ogólny. U żadnego z badanych dzieci (grupy A, B, C) w dniu wykonywania badań diagnostycznych nie stwierdzono obecności uchwytnych cech czynnej infekcji w badaniu fizykalnym, żadne z nich nie przyjmowało immunosupresyjnej terapii.

Analiza porównawcza wykazała, że badane grupy były jednorodne pod względem wieku ($p=0,43$). Średnia wieku badanych pacjentów wahała się między 4,35 lat (grupa C) a 6,12 w grupie A i 5,94 w grupie B. Natomiast istotne statystycznie różnice pomiędzy grupami odnotowano analizując dane dotyczące częstości infekcji w skali roku ($p=0,00$), częstości hospitalizacji w 1 roku życia z przyczyn infekcyjnych ($p=0,00$) oraz długości trwania okresu zdrowia pomiędzy infekcjami ($p=0,03$). Charakterystykę badanych grup z uwzględnieniem powyższych danych przedstawiono graficznie na rycinach 1,2,3.



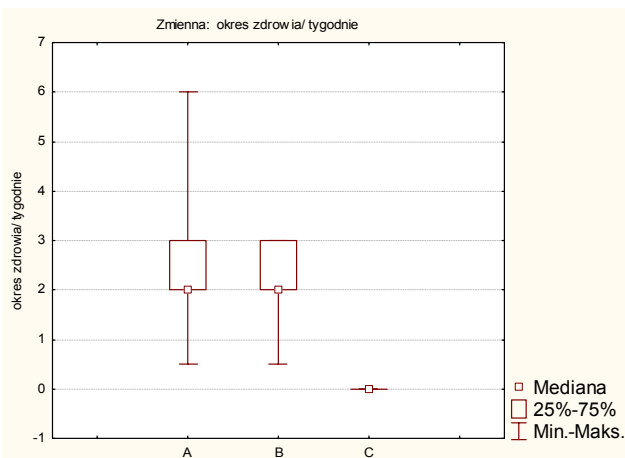
Rycina 1. Częstość infekcji w skali roku w grupach A, B, C z uwzględnieniem wartości maksymalnych, minimalnych oraz mediany.

Najwyższą częstość infekcji w skali roku odnotowano w grupie B. Średnio każde dziecko w tej grupie chorowało ponad 7 razy w roku (mediana 8,0), natomiast w grupie A dzieci chorowały ze średnią częstością 5 infekcji na rok (mediana 5,0), natomiast w grupie porównawczej mediana zachorowań wyniosła 2,0.



Rycina 2. Częstość hospitalizacji z przyczyn infekcyjnych w 1 roku życia w grupach A, B, C z uwzględnieniem wartości maksymalnych, minimalnych oraz mediany.

Największą częstość hospitalizacji w 1 roku życia z przyczyn infekcyjnych odnotowano wśród pacjentów grupy B, przy czym wartości te wahały się od 0 do 6 incydentów szpitalnego leczenia zakażeń w okresie niemowlęcym, a mediana wyniosła 2,0. Mediana częstości hospitalizacji w 1 roku życia w grupie A wyniosła 1,0; a wartości te wahały się od 0 do 3 incydentów szpitalnego leczenia zakażeń w okresie niemowlęcym. Do grupy bezobjawowej zakwalifikowano dwuletniego chłopca (BM), który jako jedyny z grupy wymagał jednorazowo leczenia szpitalnego, ze względu na zakażenie dróg moczowych i współwystępowanie wrodzonej wady układu moczowo-płciowego (zwężenie cewki moczowej). Po wykonaniu zabiegu korygującego wrodzony defekt cewki moczowej nie obserwowano u chłopca kolejnych zakażeń dróg moczowych.



Rycina 3. Długość okresu zdrowia pomiędzy infekcjami w grupach A, B, C z uwzględnieniem wartości maksymalnych, minimalnych oraz mediany.

Analiza długości trwania okresu zdrowia pomiędzy infekcjami (liczony w tygodniach) w poszczególnych grupach wykazała podobną wartość mediany (2,0) dla grup A i B, aczkolwiek wartości maksymalne znamienne się różniły: w grupie A najdłuższy okres zdrowia wyniósł 6 tygodni i odpowiednio w grupie B - 3 tygodnie.

V.1.1. Wywiad ciążyowo-porodowy

Analizując dane z wywiadu dotyczącego okresu ciążyowo-porodowego skupiono się na odchyleniach od normy, mogących mieć wpływ na układ immunologiczny noworodka. Tak więc analizie poddano dane dotyczące terminu ukończenia ciąży (Hbd), masy urodzeniowej dzieci oraz zaburzeń adaptacyjnych (liczba punktów w skali Apgar poniżej 5). Ocena tych parametrów nie ujawniła udokumentowanych statystycznie różnic pomiędzy grupami: p dla tygodnia terminacji ciąży wyniosło 0,47, p dla urodzeniowej masy ciała wyniosło 0,23, natomiast wartość p dla liczby punktów Apgar wyliczono na 0,74. Szczegółowe wyniki analizy statystycznej danych dotyczących obciążenia ciążyowo-porodowego przedstawiono w tabeli numer V.1.

grupa	średnia	mediana	minimum	maksimum	odchylenie standardowe
Hbd					
A	37,7	38,0	28,0	41,0	2,91
B	38,4	39,0	30,0	42,0	2,48
C	39,0	40,0	36,0	41,0	1,76
masa urodzeniowa [g]					
A	2948,3	3010,0	1445,0	4200,0	645,71
B	2988,8	3025,0	1560,0	3900,0	549,89
C	3366,0	3375,0	2620,0	4200,0	509,29
liczba punktów w skali Apgar					
A	8,25	9,0	3,0	10,0	1,99
B	8,23	8,0	3,0	10,0	1,72
C	9,0	9,0	8,0	10,0	0,94

Tabela V.1. Analiza statystyczna danych z wywiadu ciążyowo-porodowego: termin ukończenia ciąży (Hbd), masy urodzeniowa dzieci oraz liczba punktów w skali Apgar w poszczególnych grupach.

W **grupie A** 8 (25,8%) dzieci urodziło się przed terminem, w tym jedno w 28 tygodniu ciąży. Czworo dzieci urodziło się z niską masą urodzeniową, w tym najniższa odnotowana wartość masy ciała przy urodzeniu w tej grupie to 1445g.

Zaburzenia adaptacyjne po porodzie obserwowano u czwórki dzieci. Natomiast w **grupie B** dzieci urodzonych przedwcześnie było troje (11,5%), w tym jedno urodzone w 30 tygodniu ciąży. Niską masę urodzeniową odnotowano w 3 przypadkach, przy czym najniższa wartość masy ciała przy urodzeniu wynosiła 1560g. Zaburzenia adaptacyjne obserwowano u dwóch noworodków.

Analiza danych z wywiadu pacjentów z **grupy C** nie ujawniła istotnych nieprawidłowości: jedno dziecko urodziło się przedwcześnie (przed 37 tygodniem ciąży), u żadnego nie stwierdzono niskiej masy urodzeniowej (poniżej 2500g), jak również nie obserwowano zaburzeń adaptacyjnych w tej grupie.

Powyższe dane sprawiły, że postawiono sobie pytanie czy obciążony wywiad ciąży-porodowy (wcześnieactwo, niska masa urodzeniowa, zaburzenia adaptacyjne) stanowi czynnik predysponujący do nawracających infekcji u dzieci z ZD? Wyniki analiz statystycznych wykazały brak zależności pomiędzy danymi z obciążonego wywiadu ciąży-porodowego a częstością infekcji w badanej grupie (p dla powyższych parametrów było większe od 0,05).

V.1.2. Wywiad rodzinny

V.1.2.1. Choroby matczyne

Jako istotne obciążenie układu immunologicznego pacjentów badanej grupy uznano choroby z grupy autoagresji, choroby nowotworowe oraz zaburzenia gospodarki hormonów tarczycy, rozpoznane u matek przed zajściem w ciążę. Obciążony wywiad chorobowy wyżej wymienionymi schorzeniami stwierdzono u 9,67% matek dzieci grupy A; 11,5% matek dzieci z grupy B oraz u 20% matek dzieci z grupy C. Poniżej przedstawiono zestawienie charakteru schorzeń matczynych w poszczególnych grupach.

GRUPA	CHOROBA MATKI	LICZBA PRZYPADKÓW
A	- ziarnica złośliwa	1
	- niedoczynność tarczycy	1
B	- niedoczynność tarczycy	2
	- nadczynność tarczycy	1
C	- niedoczynność tarczycy	1
	- nadczynność tarczycy	1

Tabela V.2. Charakterystyka schorzeń matczynych w poszczególnych grupach.

Zadaliśmy sobie pytanie czy obciążony matczynej wywiad chorobowy może wpływać na rodzaj stwierdzanych zaburzeń odporności u potomstwa? **Jednakże analiza statystyczna laboratoryjnych parametrów układu immunologicznego nie wykazała istotnych różnic pomiędzy grupą dzieci, których matki chorowały, a dziećmi zdrowych matek. Ponadto nie stwierdzono zależności pomiędzy chorobami matki a częstością infekcji u potomstwa.**

Na podkreślenie zasługuje również fakt, iż analiza statystyczna nie wykazała istotnych różnic pomiędzy grupami w odniesieniu do wieku matki w chwili urodzenia dziecka z chromosomopatią. Średni wiek matki przy porodzie w badanych grupach wynosił od 30 do 32 lat.

V.1.2.2. Obciążony wywiad infekcyjny u rodzeństwa badanych dzieci.

W poszukiwaniu dalszych czynników zwiększających ryzyko występowania zaburzeń odporności analizie poddano również dane z wywiadu dotyczące predyspozycji rodzeństwa badanych dzieci do nawracających infekcji dróg oddechowych. W grupie A 26 dzieci posiadało rodzeństwo, w 12 (38,7%) przypadkach u rodzeństwa badanych dzieci obserwowano podobną tendencję do nawracających infekcji w okresie dzieciństwa. Natomiast w grupie B 21 dzieci posiadało rodzeństwo, z czego tylko u 5 (19,2%) stwierdzono obciążony wywiad infekcyjny.

Do grupy A została zakwalifikowana pięcioletnia dziewczynka (MJ), której młodszy brat pozostaje pod stałą opieką Poradni Schorzeń Immunologicznych z powodu hipogammaglobulinemii oraz wielokrotnie wymagał substytucyjnej podaży preparatów immunoglobulin. Dziewczynka choruje z częstością 6 infekcji w skali roku, infekcje najczęściej obejmują górne drogi oddechowe i charakteryzują się sezonowością. Okres zdrowia pomiędzy infekcjami w sezonie jesienno-zimowym wynosi około tygodnia. U dziewczynki nie stosowano immunoprofilaktyki (ani dodatkowych szczepień, ani preparatów immunostymulujących). Na podstawie wyników badań laboratoryjnych u pacjentki rozpoznano niedobór limfocytów B, przy prawidłowych stężeniach immunoglobulin oraz obniżone wartości stymulowanego testu NBT.

Natomiast do grupy B zakwalifikowano rodzeństwo obciążone trisomią chromosomu 21, dziewczynkę (BoJ) w wieku 15 lat oraz młodego mężczyznę (BoB) w wieku 22 lat. Na podstawie analizy wywiadu pacjenta BB stwierdzono, że do 3 roku życia chłopiec wielokrotnie chorował na zapalenie płuc, przebieg infekcji zaś wymagał każdorazowo leczenia szpitalnego. W kolejnych latach życia (aż do dnia dzisiejszego) pacjent chorował na zapalenie oskrzeli tylko w okresie jesienno-zimowym, każdorazowo konieczna była antybiotykoterapia, a infekcje wykazywały tendencję do przewlekania się. W związku z wrodzoną wadą układu moczowo-płciowego u chłopca obserwowano predyspozycję do nawracających zakażeń dróg moczowych oraz prącia. Ze względu na nawrotowy charakter schorzenia oraz problemy terapeutyczne w 20 roku życia przeprowadzono zabieg amputacji prącia, uzyskując poprawę kliniczną. Ponadto u chłopca zdiagnozowano wrodzoną wadę układu krążenia (ASD), pacjent jednak został zdyskwalifikowany z zabiegu korygującego wadę. W wynikach badań laboratoryjnych z odchyień od normy stwierdzono obniżenie odsetka limfocytów T4, CD3 oraz limfocytów B, przy prawidłowych stężeniach immunoglobulin.

U siostry omawianego pacjenta stwierdzono podobną predyspozycję do nawracających infekcji. W pierwszym roku życia dziewczynka dwukrotnie wymagała leczenia szpitalnego z powodu zapalenia płuc, w kolejnych latach życia chorowała całorocznie, najczęściej na zapalenia oskrzeli oraz górnych dróg oddechowych, okres zdrowia pomiędzy infekcjami wynosił około 3 dni. Ponadto dziewczynka jest obecnie leczona z powodu alergii wziewnej. W okresie noworodkowym pacjentka wymagała zabiegu operacyjnego ze względu na wrodzoną niedrożność przewodu pokarmowego. Na podstawie wyników badań laboratoryjnych u dziewczynki rozpoznano limfopenię (1140 G/l) oraz niedobór limfocytów B, przy prawidłowych stężeniach immunoglobulin. U obojga pacjentów jako immunoprofilaktykę stosowano coroczne szczepienia przeciwko grypie.

Zadaliśmy sobie pytanie czy obciążony wywiad infekcyjnym u rodzeństwa może wpływać na rodzaj stwierdzanych zaburzeń odporności u badanych pacjentów? Jednakże analiza statystyczna laboratoryjnych parametrów układu immunologicznego nie wykazała istotnych różnic pomiędzy grupą dzieci, których rodzeństwo prezentowało podobną tendencję do nawracających infekcji w okresie dzieciństwa, a dziećmi, których rodzeństwo nie wykazywało takich tendencji.

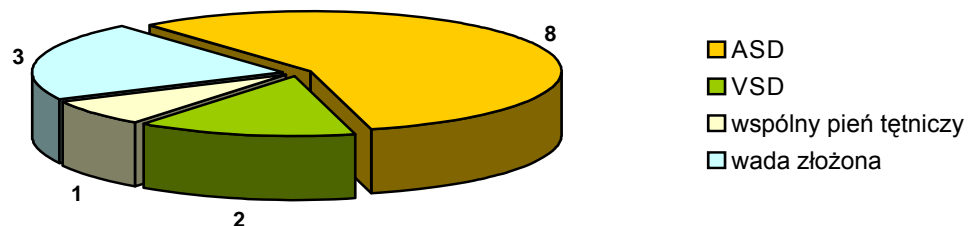
Ponadto nie stwierdzono zależności pomiędzy obciążonym wywiadem infekcyjnym u rodzeństwa a częstością infekcji u pacjentów badanych.

V.1.3. Schorzenia predysponujące do nawracających infekcji dróg oddechowych

V.1.3.1. Wrodzone wady układu krążenia

Analiza danych uzyskanych z wywiadu ujawniła, iż u 38 (56,72%) pacjentów stwierdzono współwystępowanie wrodzonych wad układu krążenia. W obrazie klinicznym dominowały wady z towarzyszącym zwiększonym przepływem płucnym, tylko w dwóch przypadkach rozpoznano wadę serca, której nie towarzyszy taka nieprawidłowość.

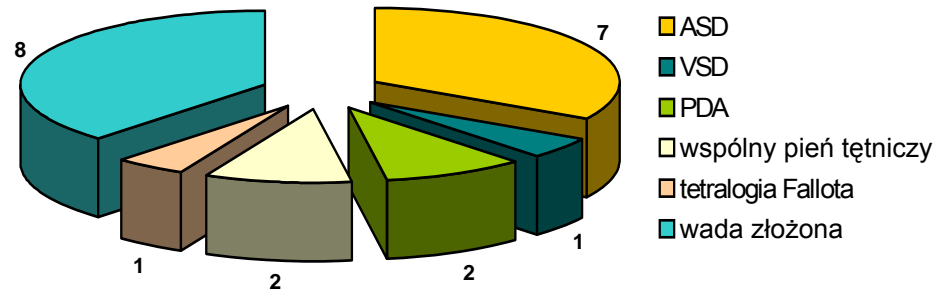
W grupie A liczącej 31 chorych wrodzoną wadę układu krążenia rozpoznano u 14 (45,2%) dzieci, z równą częstością u obu płci (7 chłopców i 7 dziewczynek). Najczęściej rozpoznawaną wadą był ubytek przegrody międzyprzedsionkowej (ASD) – 8 chorych, występujący częściej u chłopców (5 przypadków). We wszystkich przypadkach rozpoznanej wady serca stwierdzono towarzyszącą hiperperfuzję płuc. Na rycinie numer 4 przedstawiono charakterystykę stwierdzanych wrodzonych wad układu krążenia w grupie A.



Rycina 4. Rodzaj stwierdzanych wrodzonych wad układu krążenia w grupie A.

W grupie B liczącej 26 chorych wrodzoną wadę układu krążenia rozpoznano u 21 (80,7%) dzieci, z porównywalną częstością u obu płci (11 chłopców i 10 dziewczynek). Najczęściej rozpoznawano wady złożone – 8 przypadków, a następnie ASD – 7 przypadków. Tylko w dwóch przypadkach wadom układu krążenia nie towarzyszyła hiperperfuzja płuc. I tak u pacjenta (MJ)

rozpoznano tetralogię Fallota, u pacjenta (RS) – atreżję pnia płucnego z towarzyszącym ubytkiem przegrody międzyprzedsionkowej. Poniższa rycina prezentuje charakterystykę stwierdzanych wad układu krążenia w grupie B.



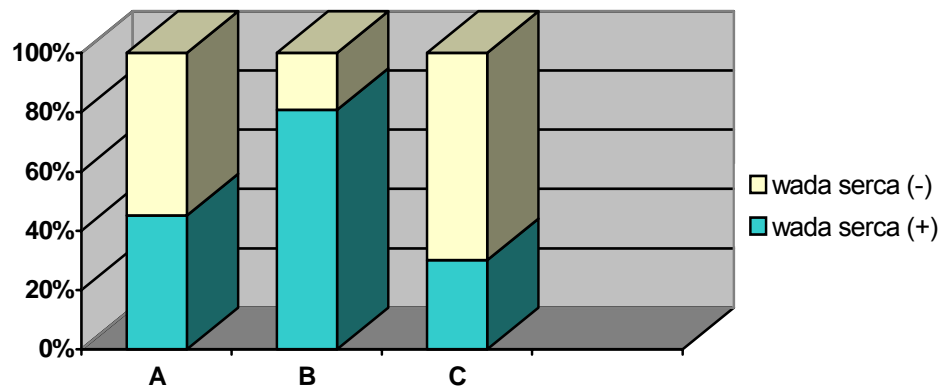
Rycina 5. Rodzaj stwierdzanych wad układu krążenia w grupie B.

W grupie porównawczej u trójki dzieci rozpoznano wrodzoną wadę układu krążenia. Rodzaj rozpoznawanych wad wskazywał na współtowarzyszenie zwiększonego przepływu płucnego, pomimo to u żadnego z tych dzieci nie stwierdzono predyspozycji do nawracających infekcji. Dzieci te nigdy nie były leczone z powodu zapalenia płuc. Poniżej w tabeli przedstawiono charakterystykę rozpoznawanych wrodzonych wad układu krążenia w grupie C.

Lp.	chory	rodzaj wady układu krążenia
5	KM	ASD, VSD
6	SH	wspólny pień tętniczy
7	TO	PDA

Tabela V.3. rodzaj rozpoznanych wrodzonych wad układu krążenia w grupie C.

Spośród 33 dzieci (z grup objawowych) z rozpoznaną wadą serca i współtowarzyszącą hiperperfuzją płuc 8 nigdy nie chorowało na zapalenie płuc. **Istotna wydaje się być ocena roli współwystępowania wrodzonej wady układu krążenia w predyspozycji pacjentów z ZD do nawracających infekcji. Analiza porównawcza wykazała, iż u pacjentów z grupy B (o najcięższym przebiegu klinicznym zakażeń) znamienne częściej współwystępowała wrodzona wada serca ($p=0,004$). Okazało się, że aż 80,7% pacjentów z grupy B ma rozpoznaną wrodzoną wadę serca, natomiast w grupie A odsetek tych pacjentów wyniósł 45,2%, w porównaniu do 30% pacjentów grupy C.**



Rycina 6. Odsetek pacjentów ze współwystępującą wrodzoną wadą układu krążenia w poszczególnych grupach klinicznych.

Wobec tej obserwacji rodzi się pytanie czy wczesna korekcja wady serca może spowodować spadek zachorowań na infekcje dróg oddechowych? Spośród 38 dzieci z rozpoznaną wrodzoną wadą układu krążenia 19 ze względu na stan kliniczny wymagało operacyjnej korekcji wady. Po przeprowadzeniu zabiegu korygującego wrodzoną wadę układu krążenia brak poprawy klinicznej stwierdzono w 2/5 przypadkach wykonanej korekcji w grupie A oraz w 6/12 przypadkach w grupie B. Charakterystykę poszczególnych grup z uwzględnieniem średniego wieku wykonania korekcji wady serca przedstawiono w tabeli V.4.

grupa	wada układu krążenia	liczba dzieci z wykonaną korekcją	średni wiek wykonania korekcji /miesiąc życia	mediana	minimum	maksimum	odchylenie standard.
A	14 (45,2%)	5	19,25	19,0	3,0	36,0	17,15
B	21 (80,7%)	12	10,41	3,0	1,0	84,0	23,28
C	3 (30,0%)	2	7,5	7,5	3,0	12,0	6,36

Tabela V.4. Liczba dzieci z wrodzoną wadą układu krążenia wymagających operacyjnej korekcji wady oraz średni wiek wykonania zabiegu korygującego.

Mediana okresu wykonania zabiegu operacyjnego korygującego wadę układu krążenia (wiek dziecka w miesiącach) była niższa w grupie B w porównaniu do grupy A i wynosiła 3 miesiące *versus* 19 miesięcy. Pomimo to odsetek pacjentów, u których obserwowano poprawę kliniczną po zabiegu był porównywalny. Ponadto

analiza danych z wywiadu nie wykazała istotnej statystycznie zależności pomiędzy wiekiem wykonania operacyjnej korekcji wrodzonej wady układu krążenia a częstością infekcji w poszczególnych grupach ($p=0,11$).

Na podkreślenie zasługuje fakt, iż u dzieci leczonych z powodu infekcji wewnątrzmacicznej zamiennie częściej współwystępowały wrodzone wady układu krążenia ($p=0,04$). Z powodu infekcji wewnątrzmacicznej w grupie A leczonych było 11 (35,5%) noworodków, przy czym w jednym przypadku rozpoznano toksoplazmozę wrodzoną. Zaś w grupie B infekcję wewnątrzmaciczną stwierdzono u 16 (61,5%) noworodków. Natomiast w grupie C infekcję wewnątrzmaciczną rozpoznano w trzech przypadkach, z czego u dwóch pacjentów stwierdzono współwystępowanie wrodzonej wady układu krążenia, a w jednym przypadku wada ta wymagała operacyjnej korekcji.

Analiza wyników badań laboratoryjnych oceniających układ immunologiczny u dzieci ze współwystępującą wrodzoną wadą serca w porównaniu do dzieci bez wady układu krążenia nie ujawniła istotnych statystycznie różnic, poza znamienne wyższym odsetkiem limfocytów T4 ($p=0,03$). Średni odsetek limfocytów T4 u dzieci z patologią układu krążenia wyniósł 38,25% *versus* 32,75% u dzieci nieobciążonych. Obie grupy różniły się między sobą pod względem wieku (średnia wieku dzieci z wadą serca wynosiła 5,51 lat *versus* 6,15 lat – dzieci bez wady układu krążenia) co sprawiło, że wyniki badań laboratoryjnych należy odnieść do norm dotyczących dwóch różnych grup wiekowych. Pomimo to obliczone średnie wartości odsetka limfocytów T4 pozostają w zakresie obu norm wiekowych.

V.1.3.2. Hipertrofia tkanki limfoidalnej pierścienia gardłowego

Na podstawie badania fizykalnego u 7 pacjentów rozpoznano przerost migdałków podniebiennych. Natomiast dane z wywiadu wskazują, iż kolejnych 12 dzieci przebyło tonsilektomię. **Ogółem przerost migdałków podniebiennych odnotowano u 23,45% badanych dzieci.** Charakterystykę poszczególnych grup (A, B, C) pod kątem przerostu tkanki limfoidalnej pierścienia gardłowego z uwzględnieniem średniej częstości infekcji dróg oddechowych przedstawiono w tabeli IV.5.

grupa	przerost migdałków podniebiennych	tosilektomia	średnia częstość infekcji dróg oddechowych	mediana	minimum	maksimum	odchylenie standard.
A	9 (29,0%)	5 (16,1%)	5,0	5,0	4,0	6,0	1,00
B	9 (34,6%)	6 (23,0%)	8,1	8,0	5,0	12,0	2,26
C	1 (10,0%)	1 (10,0%)	2,0	-	2,0	2,0	-

Tabela IV. 5. Zestawienie liczby dzieci ze stwierdzonym przerostem tkanki limfoidalnej pierścienia gardłowego, u których wykonano tonsilektomię z uwzględnieniem średniej częstości infekcji dróg oddechowych.

Analiza statystyczna danych z wywiadu nie potwierdziła istnienia zależności pomiędzy występowaniem przerostu tkanki limfoidalnej pierścienia gardłowego a częstością infekcji w badanej grupie ($p=0,14$).

V.1.3.3. Refluks żołądkowo-przelykowy

Analiza danych z wywiadu wykazała, że badania diagnostyczne w kierunku refluksu żołądkowo-przelykowego (GER) przeprowadzono u 21 dzieci z grup A i B oraz u 6 z grupy porównawczej. Rozpoznanie GER postawiono w 6/15 przypadków w grupie A oraz w 3/6 w grupie B. Natomiast w grupie C na 6 wykonanych badań cechy GER odnotowano w 3 przypadkach.

U wszystkich dzieci z grup A i B z rozpoznaniem GER odnotowano incydenty zapalenia płuc, ponadto retrospektywny wywiad chorobowy tych dzieci wskazywał na przebyte liczne zapalenia oskrzeli. W 5/9 przypadków rozpoznania GER patologiczne objawy ze strony dróg oddechowych występowały praktycznie całorocznie. Obserwacji tych nie udało się udokumentować statystycznie bowiem stwierdzone pomiędzy grupami różnice nie są istotne ($p=0,41$). W tabeli V.6. przedstawiono częstotliwość występowania infekcji dróg oddechowych w skali roku u dzieci z rozpoznaniem GER.

grupa	liczba rozpoznanych przypadków GER	średnia częstość infekcji dróg oddechowych	mediana	minimum	maksimum	odchylenie standardowe
A	6 (19,3%)	5,3	6,0	4,0	6,0	1,03
B	3 (11,5%)	7,3	8,0	6,0	8,0	1,15
C	3 (30,0%)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Tabela V.6. Częstość występowania infekcji dróg oddechowych w skali roku u dzieci z rozpoznaniem GER.

V.1.3.4. Choroby alergiczne

Poszukując czynników predysponujących pacjentów z ZD do nawracających infekcji zastanawiano się czy współwystępowanie chorób alergicznych może stanowić o takiej predyspozycji. Na podstawie danych uzyskanych w oparciu o przeprowadzoną ankietę stwierdzono, że u 24 (35,82%) badanych pacjentów stwierdzono występowanie chorób alergicznych, przy czym najczęściej były to alergie pokarmowe (28,36%). Natomiast rozpoznanie alergii wziewnej postawiono u 7 (10, 45%) pacjentów. Jednakże analiza statystyczna częstości występowania chorób alergicznych w poszczególnych grupach klinicznych nie wykazała istotnych różnic. Nie znaleziono również zależności pomiędzy chorobami alergicznymi a nieprawidłowościami wyników badań laboratoryjnych oceniających układ immunologiczny.

V.1.4. Manifestacja kliniczna zakażeń

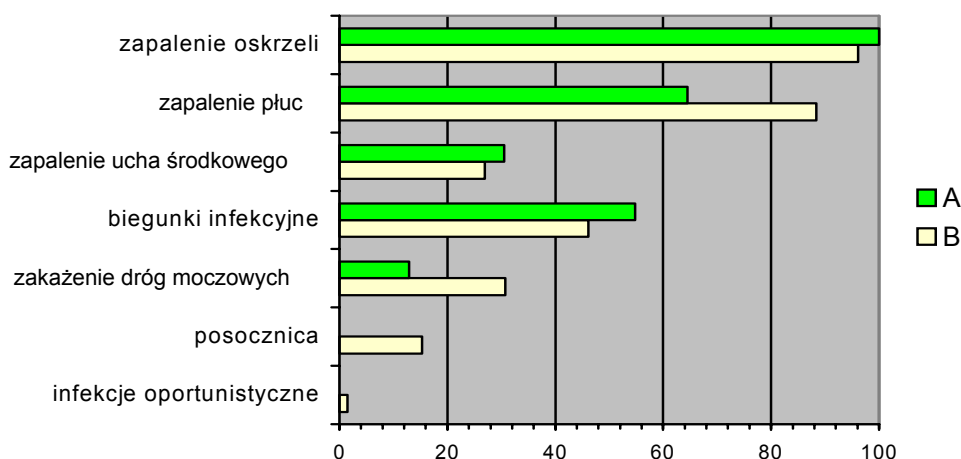
V.1.4.1. Charakterystyka manifestacji klinicznej zakażeń w poszczególnych grupach

Analiza danych z wywiadu wykazała niejednorodność poszczególnych grup pod względem częstości występowania infekcji dróg oddechowych w skali roku. **W grupie B zapadalność na infekcje była znacząco wyższa.** Charakterystykę poszczególnych grup z uwzględnieniem częstości infekcji w skali roku przedstawiono w tabeli IV.7.

grupa	średnia częstość infekcji dróg oddechowych / rok	mediana	minimum	maximum	odchylenie standardowe
A	5,06	5,0	3,0	8,0	1,26
B	7,57	8,0	5,0	12,0	2,19
C	1,4	2,0	0,0	3,0	1,26

Tabela V.7. Częstość infekcji dróg oddechowych w skali roku w poszczególnych grupach.

W obrazie klinicznym obu grup dominują przede wszystkim infekcje dróg oddechowych. Na rycinie numer 7 przedstawiono charakterystykę grupy A oraz B z uwzględnieniem odsetka pacjentów, leczonych w przeszłości z powodu wymienionych poniżej schorzeń infekcyjnych: zapalenia oskrzeli, zapalenia płuc, zapalenia ucha środkowego, biegunk infekcyjnych, zakażenia dróg moczowych, posocznicy lub infekcji oportunistycznej.



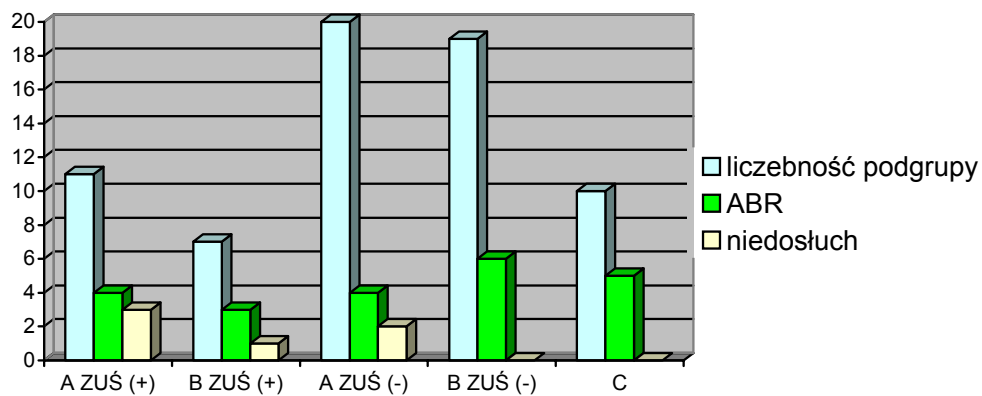
Rycina 7. Odsetek zachorowań na poszczególne jednostki chorobowe w grupie A i B.

V.1.4.3. Nawracające zapalenia uszu a niedosłuch

W grupie A 11 (35,48%) dzieci przeżyło przynajmniej jeden incydent zapalenia ucha środkowego (ZUŚ). Spośród tych dzieci profilaktyczne badanie w kierunku niedosłuchu (ABR) wykonano u 4 pacjentów, z czego u trójki rozpoznano niedosłuch. Natomiast w grupie B siedmiu (26,92%) dzieci przeżyło przynajmniej jeden incydent zapalenia ucha środkowego, a profilaktyczne badanie w kierunku niedosłuchu wykonano u 3 pacjentów, w tym u jednego rozpoznano niedosłuch.

Spośród dzieci z grupy porównawczej jedyny incydent ZUŚ odnotowano u 5-letniego chłopca (ŻK), u którego nie wykonano badania ABR. Jako profilaktykę niedosłuchu badanie ABR wykonano u 5 bezobjawowych pacjentów, we wszystkich przypadkach słuch dzieci został oceniony jako prawidłowy.

Na rycinie 8 przedstawiono graficzne zestawienie wykonanych badań ABR i rozpoznanych niedosłuchów w poszczególnych grupach, z uwzględnieniem dzieci chorujących za ZUŚ.



Rycina 8. Liczba wykonanych badań ABR i rozpoznań niedosłuchu w odniesieniu do wywiadu chorobowego obciążonego zapaleniem ucha środkowego [ZUŚ (+)], zestawienie grup A, B i C.

Analiza danych z wywiadu wykazała, iż znamienne częściej rozpoznanie niedosłuchu postawiono u dzieci, które przebyły zapalenie ucha środkowego w porównaniu do dzieci bezobjawowych ($p=0,031$). Badanie ABR zostało wykonane zaledwie w 7 na 19 przypadków występowania ZUŚ, a niedosłuch rozpoznano u 4 (57% dzieci obciążonych ZUŚ) pacjentów. Pozostałe 15 badań ABR wykonano u dzieci bezobjawowych, z czego niedosłuch rozpoznano w 2 (13% dzieci bezobjawowych) przypadkach.

V.1.4.5. Podaż preparatów immunoglobulin jako działanie wspomagające terapię zakażeń

Jednym z kryteriów oceny stopnia ciężkości zakażenia jest konieczność zastosowania preparatów immunoglobulin w terapii. Spośród 26 pacjentów zakwalifikowanych do grupy B u 5 stosowano sandoglobulinę w terapii zakażeń. Dwójka dzieci wymagała tego rodzaju terapii jednorazowo w przebiegu infekcji wewnątrzmacicznej, natomiast pozostała trójka pacjentów preparaty immunoglobulin

otrzymywała wielokrotnie. U najmłodszego z pacjentów – półrocznego chłopca (PK) rozpoznano hipogammaglobulinemię /IgG (0,19 g/l), IgA (0,09 g/l) oraz IgM (0,25 g/l)/. Początkowo chłopiec otrzymywał preparaty immunoglobulin jako terapię wspomagającą w leczeniu zakażeń. Po rozpoznaniu pierwotnego niedoboru odporności substytucja immunoglobulin była stosowana przewlekłe jako prewencja nawracających infekcji. Natomiast do grupy porównawczej został zakwalifikowany dwuletni chłopiec (KM), który jako noworodek otrzymał jednorazowo wlew z immunoglobuli w trakcie leczenia infekcji wewnątrzmacicznej. Do chwili wykonania badań diagnostycznych w kierunku nieprawidłowości układu immunologicznego chłopiec sporadycznie chorował na banalne infekcje kataralne. Na podstawie wyników badań laboratoryjnych u pacjenta rozpoznano niedobór przeciwciał klasy IgM oraz niedobór limfocytów T CD4 oraz B, ponadto wartości spontanicznego i stymulowanego testu NBT były niższe od zakresu normy.

Odnosząc uśrednione wyniki badań laboratoryjnych dzieci, u których stosowano substytucję immunoglobulin do pozostałych pacjentów stwierdzono, że średnie stężenie immunoglobulin klasy IgG w tej grupie dzieci był znacząco niższe. Szczegółowe dane zaprezentowano w tabeli V.9.

zmienna [g/l]	średnia 1	średnia 2	p	n 1	n 2	odchylenie standardowe 1	odchylenie standardowe 2
IgG	10,24	7,03	0,03	56	5	3,07	4,83

Tabela V.9. Średnie wartości stężenia IgG w grupie dzieci, które otrzymywały preparaty immunoglobulin jako terapię zakażeń (2) w porównaniu do pozostałych chorych.

Na podkreślenie zasługuje fakt, iż porównywane grupy istotnie różniły pod względem wieku. I tak dzieci, u których stosowano preparaty immunoglobulin w terapii zakażeń były zdecydowanie młodsze, średnia ich wieku wynosiła 2,25 roku. Wyniki porównania średniego wieku pacjentów z obu grup przedstawiono w tabeli V.10.

grupa	średni wiek /lata	mediana	minimum	maximum	odchylenie standardowe
I	2,25	2,25	0,5	4,0	1,12
II	6,13	5,0	0,5	22,0	4,75

Tabela V.10. Średni wiek pacjentów, którzy otrzymali preparaty immunoglobulin jako terapię zakażeń (grupa I) w porównaniu do średniego wieku pozostałych pacjentów (grupa II).

V.1.5. Stosowana profilaktyka zakażeń

V.1.5.1. Szczepienia dodatkowe

W grupie A u 9 (29%) dzieci zastosowano szczepienia dodatkowe jako prewencję zakażeń. 6 dzieci otrzymało szczepienia przeciwko *Heamophilus influenzae* typ b (Hib), 3 pacjentów zostało zaszczepionych przeciwko wirusowi grypy oraz jedna dziewczynka otrzymała oba rodzaje szczepionek. Natomiast w grupie B szczepionkami spoza podstawowego kalendarza szczepień zaszczepiono 6 (23,0%) dzieci: troje otrzymało szczepienia przeciwko Hib, a dwoje – przeciwko wirusowi grypy, tylko w jednym przypadku zastosowano szczepienie przeciwko pneumokokom. W grupie C dodatkowe szczepionki zastosowano u trójki dzieci, w każdym przypadku było to szczepienie przeciwko Hib.

Tylko jedno dziecko zaszczepione przeciwko Hib miało więcej niż 4 lata (pacjentka KK, lat 13, grupa A). Średnia wieku pacjentów, którzy otrzymali cykl szczepień przeciwko Hib wyniosła 3,29 lat. Wśród dzieci, które otrzymały szczepionki przeciwko wirusowi grypy dominowali pacjenci w wieku powyżej lat 11. Zestawienie rodzaju zastosowanych dodatkowych szczepień z uwzględnieniem wieku pacjentów przedstawia tabela numer V.11.

grupa	chory	wiek / lata	szczepienie
A	AA	11	grypa
A	DA	15	grypa
A	KJ	5	grypa
A	KK	3,5	grypa + Hib
A	MK	1	Hib
A	OM	2	Hib
A	PO	1,5	Hib
A	SK	4	Hib
A	WJ	2,5	Hib
B	BM	4	Hib
B	BB	22	grypa
B	BJ	15	grypa
B	KW	8	Pneumovax
B	NK	1	Hib
B	SŁ	2,5	Hib
C	BM	2	Hib
C	SH	4	Hib
C	TO	2	Hib

Tabela V.11. Rodzaj stosowanych szczepień dodatkowych z uwzględnieniem wieku chorych.

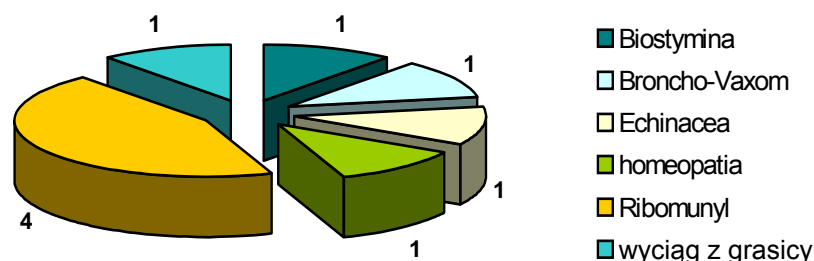
V.1.5.2. Preparaty immunostymulujące

Analiza danych uzyskanych z wywiadu wykazała, iż liczba chorych, którzy otrzymywali różnego rodzaju preparaty immunostymulujące była porównywalna do liczby chorych, którzy otrzymali szczepienia dodatkowe. Ogółem w grupie dzieci z nawracającymi infekcjami w wywiadzie (grupy A+B) preparaty tego rodzaju zastosowano u 14 pacjentów: 7 z grupy A, co stanowi 22,5% tej grupy oraz u 7 z grupy B, co stanowi 26,9% tej grupy.

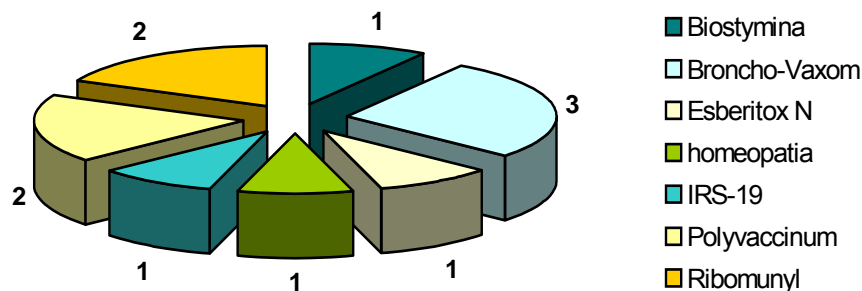
W obu grupach jako prewencję nawracających infekcji preferowano stosowanie preparatów zawierających w swoim składzie kombinacje ekstraktów różnych bakterii, takich jak: Broncho-Vaxom, IRS-19, Polyvaccinum, Ribomunyl. Preparaty te zastosowano w 71,4% przypadków; w grupie A - u 5 pacjentów, w grupie B – również u 5 pacjentów. Natomiast preparaty pochodzenia roślinnego o potencjalnym działaniu immunomodulującym, zawierające wyciągi z jeżówki lub aloesu stosowano w 1 przypadku w grupie A oraz w dwóch przypadkach w grupie B. W obu grupach odnotowano po jednym przypadku stosowania preparatów homeopatycznych. Wyciągi z grasicy cielejącej otrzymywał jeden pacjent z grupy A.

Pomimo stosowania różnego rodzaju preparatów immunomodulujących u żadnego dziecka z badanej grupy nie odnotowano poprawy klinicznej.

Więcej niż jeden preparat otrzymywało 3 pacjentów z grupy A oraz 2 z grupy B. Zestawienie stosowanych preparatów immunostymulujących w poszczególnych grupach przedstawiają ryciny 9 i 10.



Rycina 9. Liczba przypadków stosowania poszczególnych preparatów immunostymulujących w grupie A.



Rycina 10. Liczba przypadków stosowania poszczególnych preparatów immunostymulujących w grupie B.

V.2. Wyniki badań laboratoryjnych

V.2.1. Analiza wyników badań morfologii krwi obwodowej

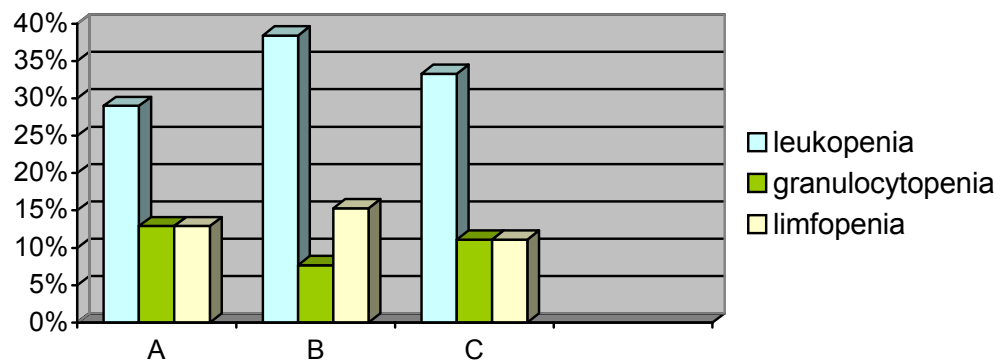
Ocena badania morfologii krwi obwodowej wraz z jej rozmazem białokrwinkowym jest pierwszym krokiem w diagnostyce zaburzeń odporności. W tabeli IV.12. zawarto średnie wartości leukocytozy, granulocytozy oraz limfocytozy stwierdzone u pacjentów z poszczególnych grup. **Zaobserwowano, że średnie wartości powyższych parametrów nie przekraczały zakresu normy. Przeprowadzona analiza porównawcza nie wykazała istotnych statystycznie różnic pomiędzy średnimi wartościami poziomu leukocytów ($p=0,93$), granulocytów ($p=0,84$) oraz poziomem limfocytów ($p=0,50$) pomiędzy grupami.**

grupa	średnia	mediana	minimum	maksimum	odchylenie standardowe
leukocytoza [G/l]					
A	6,54	6,61	3,31	10,47	1,99
B	6,41	6,43	3,25	11,99	2,27
C	5,96	5,90	2,79	10,30	2,14
granulocytoza [G/l]					
A	3,29	2,65	1,16	8,76	2,03
B	3,19	2,66	1,21	6,74	1,53
C	3,21	2,94	0,83	6,93	1,86

grupa	średnia	mediana	minimum	maksimum	odchylenie standardowe
limfocytoza [G/l]					
A	2,63	2,14	0,95	6,66	1,29
B	2,32	2,20	0,62	4,11	0,94
C	2,17	2,03	0,84	3,36	0,76

Tabela V.12. Wartości średnie leukocytozy, granulocytozy oraz limfocytozy w badanych grupach.

Ogółem stwierdzono 22 przypadki leukopenii, w tym w 6 przypadkach leukopenii towarzyszył obniżony poziom granulocytów. Ponadto rozpoznano 1 przypadek granulocytopenii z prawidłowym poziomem leukocytów. Limfopenię stwierdzono u 9 badanych dzieci. Na podkreślenie zasługuje fakt, iż nieprawidłowości te stwierdzono zarówno u pacjentów z obciążonym wywiadem infekcyjnym, jak i u pacjentów z grupy porównawczej. Szczegółowe dane dotyczące poszczególnych grup przedstawia rycina numer 11.



Rycina 11. Odsetek pacjentów z nieprawidłowościami w zakresie morfologii krwi obwodowej i rozmazu białokrwinkowego w poszczególnych grupach.

Interesujący jest fakt, iż w 6/9 przypadków limfopenii stwierdzono współwystępowanie zaburzeń w obrębie subpopulacji limfocytów. Najczęściej obserwowano obniżone wartości limfocytów CD4, CD8, CD3 oraz B – 5/9 przypadków limfopenii. Zaburzenia te występowały zarówno u pacjentów obciążonych dodatnim wywiadem chorobowym, jak również u jednego pacjenta z grupy porównawczej. Zestawienie zaburzeń w obrębie subpopulacji limfocytów w odniesieniu do limfopenii przedstawiono w tabeli IV.13.

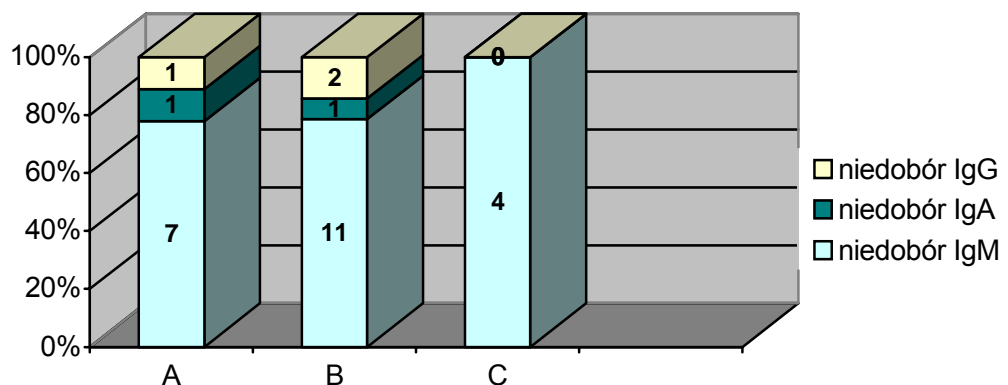
rodzaj niedoboru	grupa / liczba przypadków /		
	A	B	C
limfocyty B	1		
limfocyty CD4, CD8, CD3			1
limfocyty CD4, CD8, CD3, B	1	3	

Tabela V.13. Rodzaj zaburzeń w obrębie subpopulacji limfocytów u pacjentów ze stwierdzoną limfopenią.

Zadano więc sobie pytanie czy konsekwencją obniżonej całkowitej liczby limfocytów są niedobory poszczególnych subpopulacji limfocytów. **Analiza statystyczna danych wykazała istnienie bardzo wysokiej dodatniej korelacji pomiędzy całkowitą liczbą limfocytów a wartościami bezwzględnymi subpopulacji limfocytów CD4 ($r = 0,79$), CD8 ($r = 0,88$) oraz CD3 ($r = 0,96$). Natomiast wysoką dodatnią korelację zaobserwowano pomiędzy całkowitą liczbą limfocytów a wartościami bezwzględnymi komórek NK ($r = 0,66$) oraz przeciętną korelację z bezwzględną liczbą limfocytów B ($r = 0,36$).**

V.2.2. Analiza wyników oznaczeń stężeń immunoglobulin

Ogółem rozpoznano 23 przypadków niedoboru przeciwciał. W grupie A niedobór przeciwciał stwierdzono u 28,57% dzieci, natomiast w grupie B - u 47,82% pacjentów. Rozkład procentowy stwierdzanych niedoborów klas immunoglobulin w poszczególnych grupach ilustruje rycina numer 12.



Rycina 12. Odsetek rozpoznanych niedoborów poszczególnych klas immunoglobulin z uwzględnieniem analizowanych grup.

Analizując stężenia poszczególnych klas immunoglobulin stwierdzono, że najczęściej rozpoznawanym niedoborem był niedobór przeciwciał klasy IgM. Stężenie IgM poniżej normy wiekowej stwierdzono w 81,48 % przypadków niedoborów przeciwciał. W grupie A przypadków niedoboru IgM było 7, w grupie B – 11, natomiast w grupie C rozpoznano 4 przypadki niedoboru IgM, co stanowi 100% stwierdzanych niedoborów przeciwciał w tej grupie. Wartości minimalne stężenia immunoglobuliny IgM (0,24 g/l) były porównywalne w poszczególnych grupach. Ponadto stwierdzono tylko jeden przypadek izolowanego niedoboru IgA (pacjent z grupy A), 1 przypadek niedoboru wszystkich klas immunoglobulin (omówiony poniżej) oraz po jednym przypadku współwystępowania niedoboru IgG i IgM w grupach A i B.

Na podkreślenie zasługuje fakt, iż pacjent (PK), u którego odnotowano najcięższy niedobór przeciwciał (IgG-0,19 g/l, IgA-0,09 g/l oraz IgM-0,25 g/l), został zakwalifikowany do grupy B. Chłopiec jako noworodek przebył posocznicę, do 6 miesiąca życia był czterokrotnie hospitalizowany z powodów infekcyjnych, wielokrotnie wymagał substytucji immunoglobulin. Obecnie chłopiec ma 1,5 roku i pozostaje pod stałą opieką Poradni Schorzeń Immunologicznych.

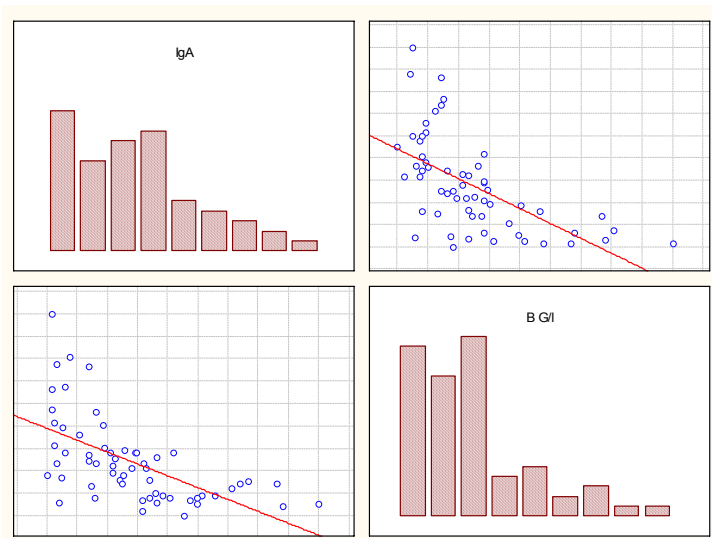
Szczegółowe dane dotyczące wartości średnich stężeń poszczególnych klas immunoglobulin w grupach A, B oraz C przedstawiono w tabeli V.14.

grupa	średnia	mediana	minimum	maksimum	odchylenie standardowe
IgM [g/l]					
A	0,70	0,68	0,24	1,24	0,27
B	0,64	0,63	0,25	1,4	0,27
C	0,66	0,51	0,29	2,17	0,54
IgA [G/l]					
A	1,42	1,30	0,26	4,01	1,02
B	1,41	1,33	0,09	3,52	0,82
C	1,23	1,08	0,39	2,58	0,72
IgG [G/l]					
A	10,03	10,12	4,6	16,18	2,73
B	10,15	11,00	0,19	15,06	3,99
C	9,46	9,28	3,87	16,6	3,41

Tabela V.14. Średnie wartości stężeń immunoglobulin w poszczególnych grupach.

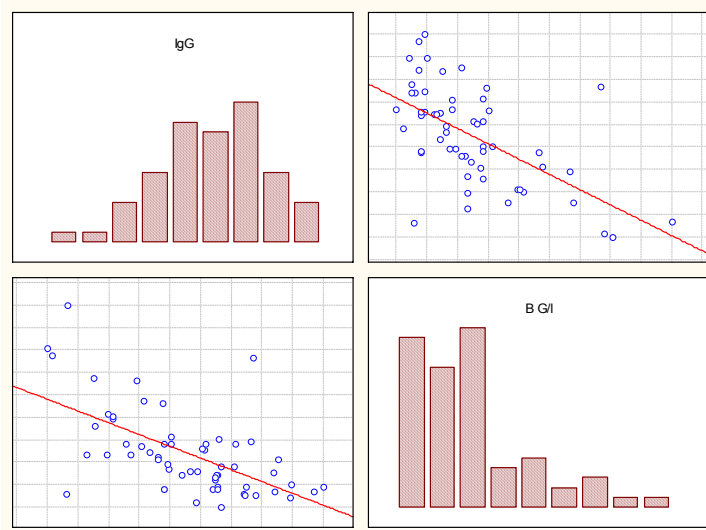
Powyższe obserwacje nasuwają pytanie czy stwierdzany niedobór przeciwciał wynika z defektu ilościowego – niedoboru limfocytów B czy też może jest związany z ich defektem funkcjonalnym. **Spośród 22 przypadków niedoboru przeciwciał klasy IgM u 11 (50%) pacjentów stwierdzono, że bezwzględna liczba limfocytów B przyjmuje wartości poniżej zakresu normy wiekowej.** Zaskakujący jest fakt, iż obniżony poziom limfocytów B stwierdzono tylko u 45,5% pacjentów z niedoborem IgM z grupy B oraz u wszystkich pacjentów z rozpoznaniem niedoborem IgM w grupie C. Obserwacja ta sugeruje brak związku pomiędzy poziomem limfocytów B a stężeniem IgM, a w efekcie pomiędzy powyższymi parametrami a manifestacją kliniczną zakażeń. Analiza statystyczna nie wykazała statystycznie istotnej zależności pomiędzy stężeniem IgM a poziomem limfocytów B.

Zależności pomiędzy stężeniem IgA oraz IgG a bezwzględną liczbą limfocytów B prezentują ryciny 13 i 14.



Rycina 13. Prosta regresji przedstawiająca korelację pomiędzy stężeniem IgA a poziomem limfocytów B w całej badanej grupie. Współczynnik korelacji $r = -0,67$.

Zaskakujący okazał się fakt, iż wyniki analiz statystycznych wartości stężeń przeciwciał klasy IgA oraz IgG wykazały wysoką ujemną korelację z poziomem limfocytów B; i tak współczynnik korelacji dla immunoglobuliny IgA wyniósł $r = -0,67$ przy $p < 0,05$, a dla immunoglobuliny IgG współczynnik korelacji wyniósł $r = -0,56$ przy $p < 0,05$.



Rycina 14. Prosta regresji przedstawiająca korelację pomiędzy stężeniem IgG a poziomem limfocytów B w całej badanej grupie. Współczynnik korelacji $r = -0,56$.

V.2.3. Ocena subpopulacji limfocytów

Na podstawie oceny wartości bezwzględnych poszczególnych subpopulacji limfocytów (w odniesieniu do norm wiekowych) zaburzenia odporności komórkowej rozpoznano w 16/65 przypadkach, w 11 przypadkach zaburzeniom odporności komórkowej towarzyszył niedobór limfocytów B. A oto jak wyglądał rozkład częstości występowania zaburzeń odporności komórkowej w poszczególnych grupach: grupa A - 3 przypadki (9,67% grupy), grupa B – 7 przypadków (28% grupy), a w grupie C zaburzenia odporności komórkowej stwierdzono aż w 6 przypadkach (66,7% grupy).

Oceniając odporność komórkową uwzględniono wartości bezwzględne subpopulacji limfocytów CD4, CD8, CD3 oraz komórek NK. Analizowane wyniki badań laboratoryjnych odniesiono do norm wiekowych. W każdym przypadku niedoboru limfocytów CD3 (11 przypadków) stwierdzono współwystępowanie niedoboru limfocytów CD4. Tylko w jednym przypadku stwierdzono izolowany niedobór odporności komórkowej – u pacjenta (DW) z grupy C stwierdzono niedobór limfocytów CD8. Jednocześnie u tego pacjenta obserwowano obniżoną aktywność stymulowanego testu NBT (25%), przy prawidłowym poziomie granulocytów. Pozostałe 15 przypadków to złożone niedobory odporności

komórkowej. U wszystkich pacjentów poziom komórek NK pozostawał w zakresie normy.

Na podkreślenie zasługuje fakt, iż w 9/16 przypadków zaburzeń odporności komórkowej stwierdzono u dzieci w wieku do 2 roku życia.

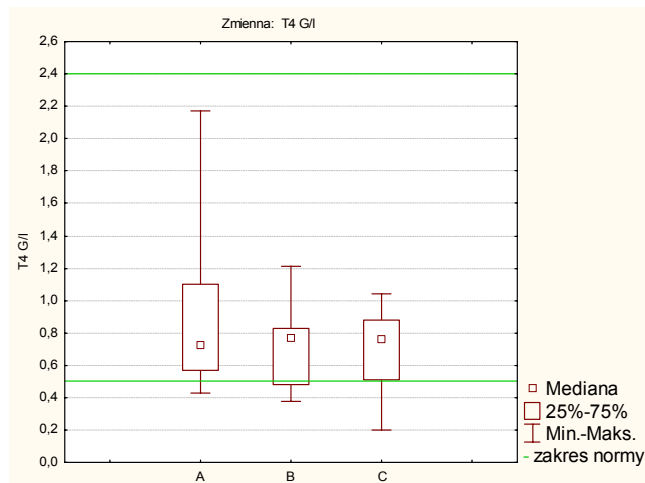
Analizując dane dotyczące bezwzględnej liczby limfocytów B stwierdzono, że jest to najczęściej występujące zaburzenie w zakresie subpopulacji limfocytów, zarówno w całej populacji badanych pacjentów, jak również w każdej z wyodrębnionych grup klinicznych. Rozpoznanie to postawiono w 32 przypadkach, przy czym izolowany niedobór limfocytów B obserwowano u 21 pacjentów. Interesujący jest fakt, iż zaledwie w 11 (34,37%) przypadkach niedoborowi limfocytów B towarzyszyła niedostateczna produkcja przeciwciał. U wszystkich tych pacjentów stwierdzono niedobór przeciwciał klasy IgM, a w jednym przypadku stwierdzono również niedobór przeciwciał klasy IgG. Zestawienie rodzaju stwierdzanych niedoborów subpopulacji limfocytów w poszczególnych grupach przedstawiono w tabeli V.15.

grupa	chory	wiek /lata	CD4	CD8	CD3	B	limfopenia
A	RD	8	+	+	+	+	+
	CA	2	+		+	+	
	KJ	3,5	+		+		
B	BD	10	+	+	+	+	+
	BG	6	+	+	+	+	+
	ZD	2	+	+	+	+	+
	SA	2	+	+	+	+	
	KK	3	+	+	+		
	NK	1	+	+	+		
	BM	4	+			+	
C	SH	4	+	+	+	+	+
	KM	2	+			+	
	TO	2	+			+	
	ZW	2	+			+	
	BM	2	+		+	+	
	DW	0,5			+		

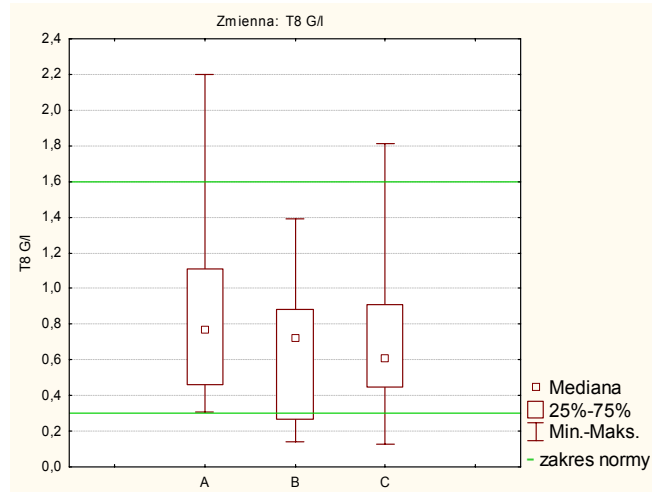
Tabela V.15. Charakterystyka badanych grup z uwzględnieniem rodzaju rozpoznanych niedoborów subpopulacji limfocytów .

Dokonując analizy porównawczej badanych grup stwierdzono, że najliczniejszą grupę pacjentów z zaburzeniami wartości bezwzględnych subpopulacji limfocytów stanowili pacjenci z grupy B.

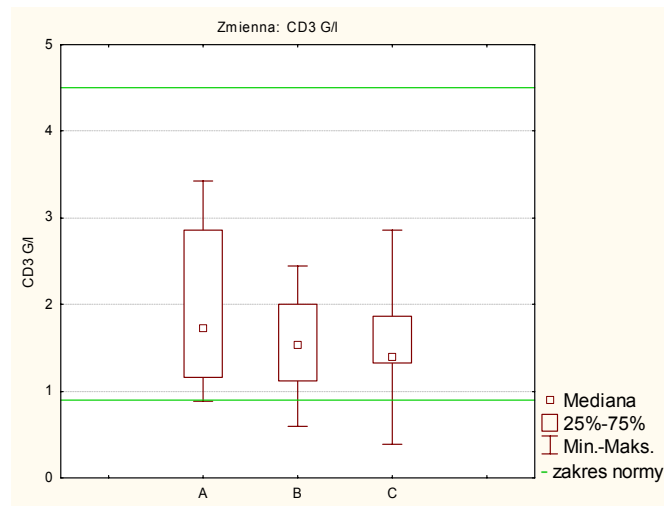
Zaskakujący jest fakt występowania zaburzeń w zakresie subpopulacji limfocytów w grupie pacjentów asymptotycznych (grupa C). Zaburzenia tego rodzaju rozpoznano u 60% pacjentów tej grupy. Obserwacje te nasuwają pytanie czy istnieje zależność pomiędzy zaburzeniami w obrębie subpopulacji limfocytów a ich manifestacją kliniczną? Nasilenie obserwowanych zaburzeń w zakresie subpopulacji limfocytów CD4, CD8, CD3 oraz B przedstawiono na rycinach 15-18. Za najlepszą ilustrację stopnia ciężkości stwierdzanych niedoborów uznano wartości mediany, wartości minimalne i maksymalne z uwzględnieniem zakresu norm wiekowych – jako przykład wybrano najliczniej reprezentowaną grupę: dzieci w wieku 2-5 lat.



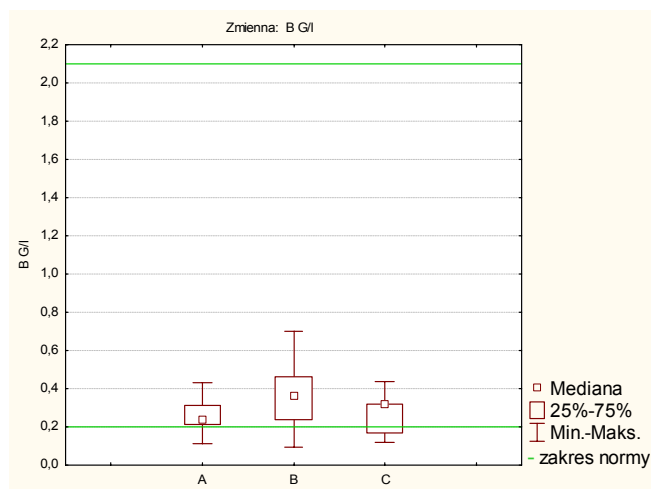
Rycina 15. Mediana, wartości minimalne i maksymalne poziomu limfocytów CD4 w grupie wiekowej 2-5 rok życia z uwzględnieniem grup klinicznych. Zakres normy: $0,5-2,4 \times 10^9/L$.



Rycina 16. Mediana, wartości minimalne i maksymalne poziomu limfocytów CD8 w grupie wiekowej 2-5 rok życia z uwzględnieniem grup klinicznych. Zakres normy: $0,3-1,6 \times 10^9/L$.



Rycina 17. Mediana, wartości minimalne i maksymalne poziomu limfocytów CD3 w grupie wiekowej 2-5 rok życia z uwzględnieniem grup klinicznych. Zakres normy: $0,9-4,5 \times 10^9/L$.



Rycina 18. Mediana, wartości minimalne i maksymalne poziomu limfocytów B w grupie wiekowej 2-5 rok życia z uwzględnieniem grup klinicznych. Zakres normy: $0,2-2,1 \times 10^9/L$.

Wprowadzie wartości median poziomów limfocytów CD4, CD8 i CD3 w poszczególnych grupach klinicznych mieściły się w granicach normy wiekowej, to mimo to wartości te lokalizowały się bliżej dolnych granic zakresu normy. Mediany tych parametrów nie różniły się istotnie pomiędzy grupami klinicznymi (A, B, C).

Natomiast mediany bezwzględnej liczby limfocytów B w grupach A, B i C nieznacznie różniły się pomiędzy sobą, jednakże wszystkie te wartości mieściły się w granicach normy wiekowej. Największą rozpiętość pomiędzy wynikami stwierdzono w grupie B, gdzie wartość minimalna mediany dla bezwzględnej liczby limfocytów B wyniosła $0,1 \times 10^9 /L$, a wartość maksymalna – $0,7 \times 10^9 /L$.

V.2.4. Ocena aktywności granulocytów – test NBT

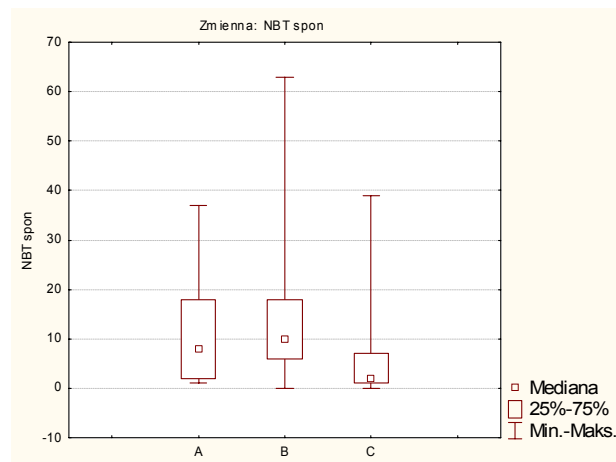
Podstawą oceny układu fagocytarnego jest ocena liczby granulocytów. Charakterystykę omawianych grup pod kątem obniżonych wartości leukocytów oraz granulocytów zaprezentowano w rozdziale IV.12.

Do oceny aktywności granulocytów posłużono się testem redukcji błękitu nitrotetrazolowego (test NBT), w dwóch wersjach: spontanicznej i stymulowanej. **Analiza porównawcza badanych grup w odniesieniu do wyników spontanicznego testu NBT nie wykazała istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami. Średnie wartości spontanicznego testu NBT w poszczególnych grupach mieściły się w granicach normy.**

Natomiast analiza wyników stymulowanego testu NBT wykazała, iż średnia wartość tego testu w grupie C była najniższa i tylko w grupie C wartość ta była poniżej zakresu normy. Obserwacja ta jest znamienna statystycznie ($p=0,04$).

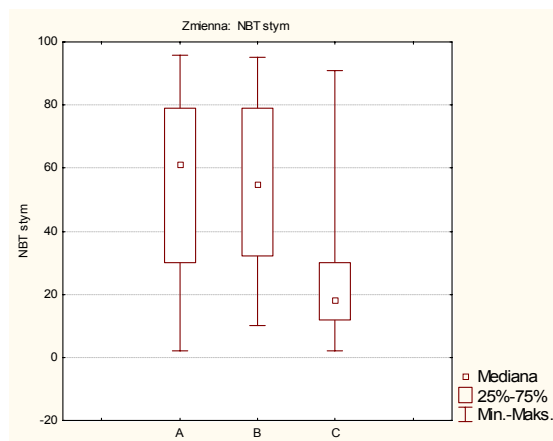
Pomimo, że średnie wartości spontanicznego testu NBT we wszystkich grupach mieściły się w zakresie normy (powyżej 2%), to rozpiętość uzyskany wyników wynosiła od 0 do 63%. Natomiast u 4 pacjentów wynik omawianego testu przekroczył zakres normy. W grupie A nieprawidłowy wynik odnotowano u 11-letniej dziewczynki (AM), w grupie B było dwoje takich pacjentów: 4-letni chłopiec (BM) oraz 6-letnia dziewczynka (GM), natomiast w grupie C nieprawidłowości stwierdzono u 17-letniej dziewczyny (CO). W każdym przypadku obniżonych

wartości spontanicznego testu NBT stwierdzono również zaniżone wartości stymulowanego testu NBT. **Na podkreślenie zasługuje fakt, iż u żadnego z pacjentów, u których stwierdzono obniżone wartości testu NBT w wywiadzie nie odnotowano występowania schorzeń, charakterystycznych dla zaburzeń fagocytozy.** Na rycinie 19 przedstawiono wartości maksymalne i minimalne oraz medianę spontanicznego testu NBT w poszczególnych grupach w odniesieniu do zakresu normy.



Rycina 19. Mediana, wartości minimalne i maksymalne spontanicznego testu NBT w poszczególnych grupach. Norma powyżej 2%.

Uzyskane wyniki stymulowanego testu NBT wahały się od wartości 2 do 96%. Nieprawidłowych wyników wersji stymulowanej testu NBT uzyskano znacznie więcej w porównaniu do wersji spontanicznej tego testu – wartości poniżej 40% odnotowano u 24 pacjentów. Rozkład częstości nieprawidłowych wyników w poszczególnych grupach klinicznych wyglądał następująco: grupa A - 8 przypadków (25,8%), grupa B – 9 przypadków (34,6%) oraz 7 przypadków w grupie C (70%). Żaden z uzyskanych wyników nie spełniał kryteriów rozpoznania przewlekłej choroby ziarniniakowej. Podobnie jak w przypadku chorych z nieprawidłowym wynikiem testu spontanicznego u żadnego z pacjentów, u których stwierdzono obniżone wartości testu NBT stymulowanego nie odnotowano w wywiadzie występowania schorzeń, charakterystycznych dla zaburzeń fagocytozy. Na rycinie 20 przedstawiono wartości maksymalne i minimalne oraz medianę spontanicznego testu NBT w poszczególnych grupach w odniesieniu do zakresu normy.



Rycina 20. Mediana, wartości minimalne i maksymalne stymulowanego testu NBT w poszczególnych grupach. Norma powyżej 40%. Szczegółowe dane dotyczące wyników spontanicznego i stymulowanego testu NBT przedstawiono w tabeli V.17.

grupa	średnia	mediana	minimum	maksimum	odchylenie standardowe
test NBT spontaniczny [%]					
A	10,48	8,00	1,00	37,00	9,70
B	14,76	10,00	0,00	63,00	14,97
C	7,55	2,00	0,00	39,00	12,47
grupa	średnia	mediana	minimum	maksimum	odchylenie standardowe
test NBT stymulowany [%]					
A	55,32	61,00	2,00	96,00	30,28
B	55,72	55,00	10,00	95,00	28,20
C	28,66	18,00	2,00	91,00	27,19

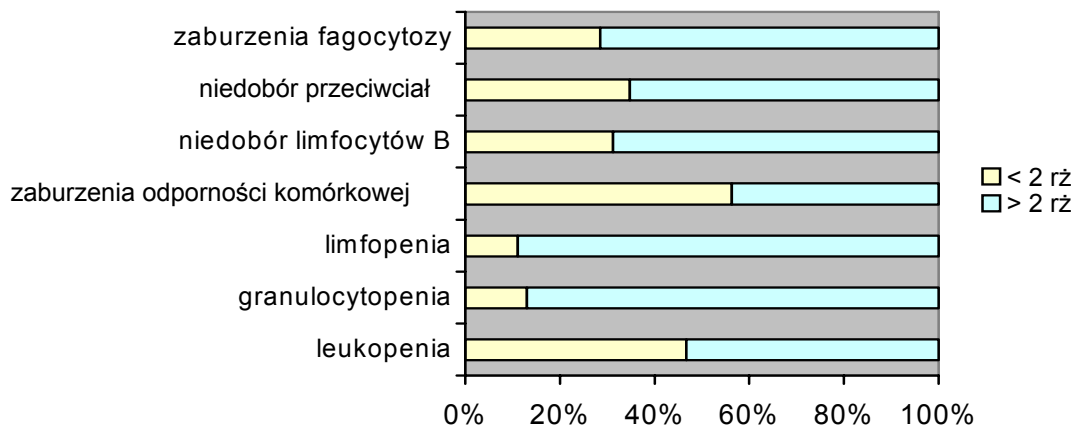
Tabela V.17. Średnie wartości spontanicznego i stymulowanego testu NBT w badanych grupach .

Zadano sobie także pytanie czy obniżonym wartościom testu NBT towarzyszył spadek poziomu granulocytów? Spośród 24 pacjentów, u których stwierdzono nieprawidłowe wyniki testu NBT poziom granulocytów poniżej 1500 G/l odnotowano tylko u dwóch pacjentów (po jednym z grup A i B – odpowiednio wartości poziomów granulocytów wynosiły 1270 G/l oraz 1410 G/l). **Natomiast analiza statystyczna poziomu granulocytów oraz wartości testów NBT nie wykazała istnienia zależności pomiędzy powyższymi parametrami ($p > 0,05$).**

V.2.5. Pierwotne zaburzenia odporności a niedojrzałość układu immunologicznego – analiza wyników badań immunologicznych u dzieci do 2 roku życia

Dzieci do 2 roku życia stanowiły 25,37% (17/67) całej grupy badanych pacjentów. W grupie A dzieci w wieku do 2 lat było siedmioro (22,58%), a po 5 pacjentów w tym wieku liczyły grupy B (19,23%) i C (50%). Jak przedstawiono w rozdziale IV.2.3. (tabela IV.15) zaburzenia odporności komórkowej znamienne częściej występowały właśnie w grupie dzieci do 2 roku życia (w porównaniu do pozostałych pacjentów). Zaburzenia te rozpoznano u 52,9% pacjentów tej grupy. **Na podstawie dalszej analizy wyników badań pacjentów z tej grupy wiekowej zaburzenia produkcji przeciwciał rozpoznano u 8 pacjentów, co stanowi 47% tej grupy wiekowej, a obniżone wartości stymulowanego testu NBT stwierdzono w 8 przypadkach – 47% grupy.**

Obserwacje te nasuwają pytanie jaki odsetek wszystkich stwierdzanych niedoborów odporności w badanej populacji dzieci z ZD stanowią zaburzenia stwierdzane w grupie dzieci do 2 roku życia? **Okazało się, iż najczęściej spotykaną nieprawidłowością układu immunologicznego u dzieci do 2 roku życia jest niedobór odporności komórkowej (52,9% dzieci z tej grupy wiekowej), a następnie - wartości leukocytozy poniżej norm wiekowych (41,2%).** Udział procentowy zaburzeń odporności stwierdzanych u dzieci do 2 roku życia w ogólnej liczbie rozpoznań patologii układu immunologicznego w badanej grupie pacjentów przedstawiono na rycinie 21.



Rycina 21. Odsetek pacjentów w wieku do 2 roku życia z rozpoznaniem zaburzenia odporności.

Stwierdzenie zaburzeń odporności komórkowej oraz leukopenii jako odchyłeń dominujących u pacjentów do 2 roku życia skłoniła nas do postawienia sobie pytania czy stwierdzane nieprawidłowości parametrów układu immunologicznego są manifestacją pierwotnych zaburzeń odporności, czy też może są obrazem dojrzewania tegoż układu. Czy u dzieci z tej grupy wiekowej znamienne częściej występują zaburzenia odporności? Tak więc całą badaną grupę dzieci podzielono tym razem nie ze względu na manifestację kliniczną zakażeń, lecz uwzględniając wiek (do 2 roku życia), jako kryterium podziału na dwie grupy. Dokonano analizy porównawczej obu grup wiekowych w odniesieniu do parametrów oceniających układ immunologiczny.

Ocena wyników morfologii krwi obwodowej uwzględniając obraz odsetkowy układu białokrwinkowego wykazała, iż u dzieci do 2 roku życia średnie wartości bezwzględne, jak i odsetkowe, limfocytów były znamienne wyższe niż u pozostałych dzieci. Natomiast średnie wartości bezwzględne i odsetkowe granulocytów były znamienne niższe. Omawiane wartości były znamienne statystycznie i przedstawiono je w tabeli numer V.18.

parametr	średnia 1	średnia 2	p	odchylenie standardowe 1	odchylenie standardowe 2
limfocyty G/l	3,02	2,26	0,01	1,49	0,88
limfocyty %	48,82	36,30	0,001	15,25	13,23
granulocyty G/l	2,50	3,50	0,04	1,33	1,88
granulocyty %	40,17	52,20	0,003	13,78	14,26

Tabela V.18. Średnie wartości bezwzględne i odsetkowe poziomu granulocytów i limfocytów, porównanie grupy dzieci do 2 roku życia (1) do dzieci starszych (2).

Ponieważ ponad 50% wszystkich rozpoznanych zaburzeń odporności komórkowej stanowiły dzieci do 2 roku życia szczegółowej analizie poddano wyniki badania subpopulacji limfocytów. Stwierdzono, że wyliczone średnie wartości bezwzględne limfocytów CD4 były znamienne wyższe. Przy czym należy zauważyć, iż średnia wartość bezwzględna CD4 była niższa niż zakres norm dla dzieci w wieku 6 i 12 miesięcy. Natomiast nie odnotowano istotnej różnicy pomiędzy wyliczonymi średnimi wartościami bezwzględnej liczby limfocytów CD8 w porównywanych grupach. **Obserwacje te nasuwają wniosek, iż wzajemny stosunek limfocytów CD4/CD8 musi być wyższy w tej grupie wiekowej i fakt ten**

został potwierdzony w testach statystycznych. Średnia wartość bezwzględna limfocytów CD3 była niższa u dzieci młodszych i w parciu o normy wiekowe była podstawą do rozpoznania niedoboru CD3 w grupie dzieci w wieku 6 i 12 miesięcy. Na podkreślenie zasługuje fakt, iż pomimo stwierdzenia znamiennej wyższej średniej wartości bezwzględnej liczby limfocytów B u dzieci do 2 roku życia (w porównaniu do dzieci starszych), wartość ta była niższa od zakresu norm wiekowych dla wszystkich dzieci w tej grupie (czyli 6, 12, 24 miesiąc życia).

Szczegółowe wyniki analizy porównawczej dzieci do 2 roku życia z uwzględnieniem poszczególnych subpopulacji limfocytów przedstawiono w tabeli numer V.19.

subpopulacja limfocytów	średnia 1	średnia 2	p	odchylenie standardowe 1	odchylenie standardowe 2
CD4 G/l	1,29	0,73	0,00006	0,72	0,33
CD8 G/l	0,68	0,75	0,58	0,32	0,46
CD4/T8	2,05	1,15	0,000005	0,89	0,51
CD3 G/l	2,15	1,62	0,03	1,12	0,73
B G/l	0,47	0,22	0,0000	0,21	0,12
NK G/l	0,38	0,36	0,74	0,41	0,23

Tabela V.19. Wyniki analizy wyników oceny subpopulacji limfocytów, porównanie grupy dzieci do 2 roku życia (1) do dzieci starszych (2).

Skoro średnia wartość bezwzględnej liczby limfocytów B u dzieci do 2 roku życia była niższa od zakresu norm wiekowych zadano sobie pytanie: jak wobec tego zachowywały się poziomy poszczególnych klas immunoglobulin u pacjentów z analizowanej grupy wiekowej? **Analiza porównawcza wykazała, iż średnie wartości stężeń wszystkich klas immunoglobulin były znamienne niższe u dzieci do 2 roku życia.** Przy czym wartości te nie przekraczały zakresu norm wiekowych, za wyjątkiem średniego stężenia IgM dla dzieci w 24 miesiącu życia – wartość poniżej normy. Wyniki istotne statystycznie przedstawiono w tabeli numer V.20.

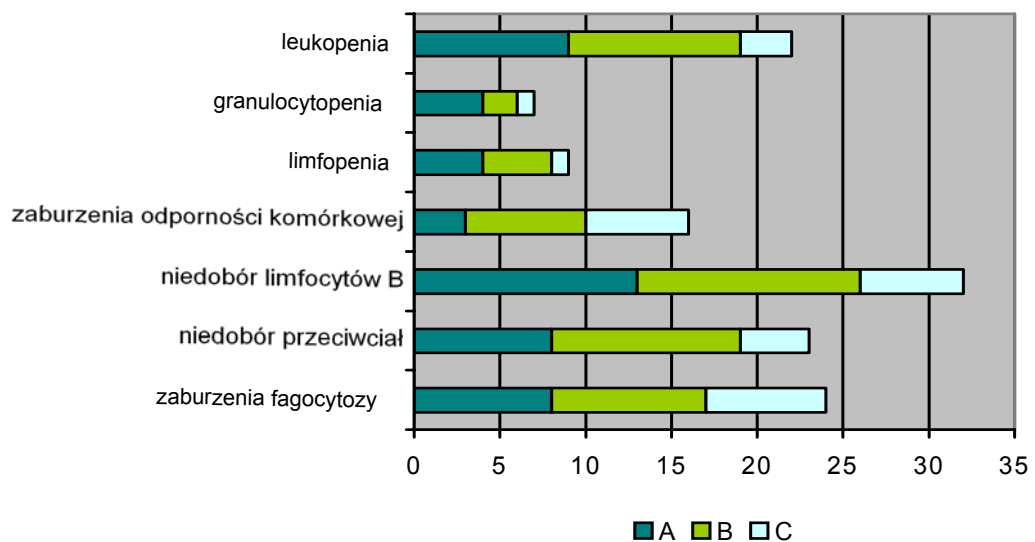
klasa immunoglobulin [g/l]	średnia 1	średnia 2	p	odchylenie standardowe 1	odchylenie standardowe 2
IgA	0,57	1,65	0,000015	0,37	0,85
IgG	6,21	11,21	0,0000	2,55	2,52
IgM	0,50	0,73	0,02	0,27	0,32

Tabela V.20. Średnie stężenia poszczególnych klas immunoglobulin, porównanie grupy dzieci do 2 roku życia (1) do dzieci starszych (2).

V.3. Podsumowanie

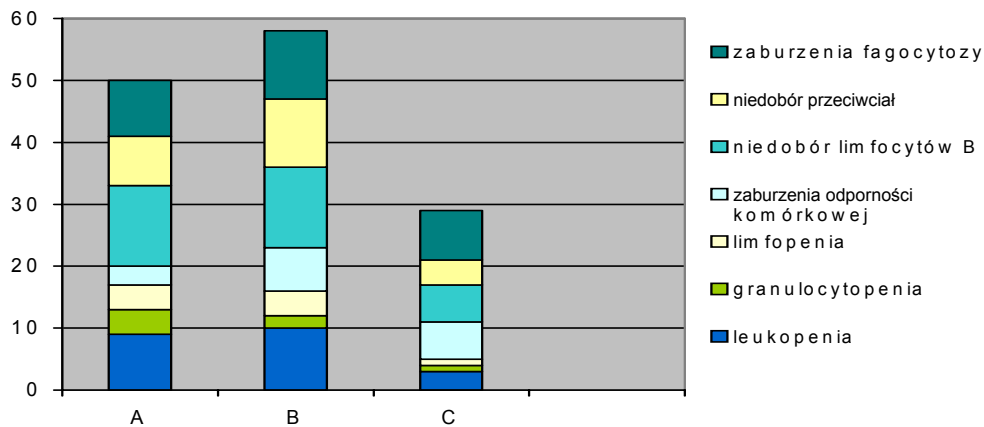
Spośród 67 przebadanych pacjentów nieprawidłowości układu immunologicznego rozpoznano u 55 (82%) chorych. Interpretując wyniki badań odniesiono się do norm wiekowych oraz norm wartości bezwzględnych subpopulacji limfocytów. Najczęściej rozpoznawano niedobór limfocytów B – 32 przypadki, nieprawidłowe wartości testu NBT (spontaniczny + stymulowany) odnotowano u 24 pacjentów, a niedobór przeciwciał – u 23 pacjentów.

Zestawienie rodzaju stwierdzanych nieprawidłowości w zakresie układu immunologicznego z uwzględnieniem liczby przypadków w poszczególnych grupach klinicznych przedstawiono na rycinie numer 22.



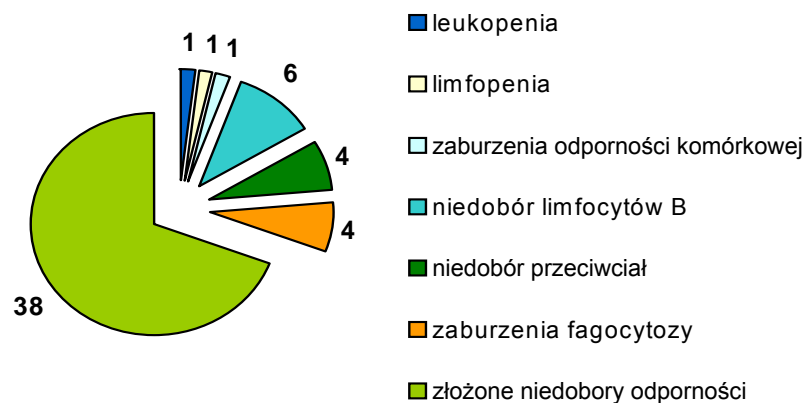
Rycina 22. Rodzaj rozpoznanych zaburzeń odporności z uwzględnieniem liczby przypadków w grupach A, B, C.

Największą liczbę rozpoznanych zaburzeń odporności postawiono w grupie B – aż w 20 przypadkach, co stanowi 76,9% tej grupy. Natomiast w grupie A nieprawidłowe wyniki badań laboratoryjnych stwierdzono u 25 (69,4% grupy) chorych. Na szczególną uwagę zasługuje fakt, iż u wszystkich pacjentów z grupy bezobjawowej stwierdzono odchylenia od prawidłowych wartości laboratoryjnych parametrów układu immunologicznego. Charakterystykę poszczególnych grup klinicznych pod względem rodzaju stwierdzanych zaburzeń odporności przedstawia rycina numer 23.



Rycina 23. Charakterystyka grup klinicznych z uwzględnieniem rodzaju rozpoznawanych zaburzeń odporności.

Ogółem wśród 55 przypadków zaburzeń układu immunologicznego rozpoznanych w grupie 67 dzieci z ZD dominowały złożone zaburzenia odporności. Częstość występowania poszczególnych pierwotnych niedoborów odporności przedstawiono na rycinie 24.



Rycina 24. Częstość występowania poszczególnych pierwotnych zaburzeń odporności w badanej grupie dzieci z ZD.

VI. Omówienie wyników i dyskusja

W piśmiennictwie istnieje zgodność co do poglądu, iż zaburzenia układu immunologicznego są integralną częścią ZD. Nieprawidłowość ta manifestuje się zwiększoną częstotliwością występowania infekcji, nowotworów hematologicznych i chorób z grupy autoagresji, co w znacznej mierze przyczynia się do wzrostu zachorowalności i śmiertelności w tej grupie [Cuadrado, 1996; Day, 2005; Douglas,

2005; Hill, 2003; de Hingh, 2005; Garrison, 2005; Nespoli, 1993; Ribeiro, 2003]. Wydłużenie życia tych pacjentów przyczyniło się do tego, iż lekarz pierwszego kontaktu staje wobec rozlicznych problemów klinicznych towarzyszących zespołowi. Stworzony przez AAP system opieki nad dzieckiem z ZD, pomimo swej wszechstronności, nie porusza problemu dziecka z obciążonym wywiadem nawracających infekcji oraz nie precyzuje wskazań do wysokospecjalistycznej diagnostyki układu immunologicznego. Przesłanki te stały się dla nas bodźcem do podjęcia badań mających na celu ocenę: skali problemu zaburzeń odporności u dzieci z ZD, rodzaju nieprawidłowości układu immunologicznego oraz związku tych zaburzeń z manifestacją kliniczną. Ponadto podjęliśmy się próby stworzenia systemu profilaktyki zakażeń dla populacji dzieci z ZD.

Niedobory odporności stanowią dużą grupę chorób uwarunkowanych genetycznie, których podłoże może stanowić defekt budowy, dojrzewania lub różnicowania się komórek układu odpornościowego. Obserwowane zaburzenia mogą mieć charakter ilościowy, jakościowy lub czynnościowy. Prawidłowa odpowiedź immunologiczna organizmu jest wynikiem kompleksowego działania czterech czynnościowych składowych układu immunologicznego człowieka: odporność typu humoralnego (zależna od limfocytów B), odporność typu komórkowego (zależna od limfocytów T), układ komórek fagocytarnych (składający się z neutrofilów, monocytów, makrofagów) oraz układ dopełniacza. Integralność i wzajemne zależności pomiędzy poszczególnymi typami odpowiedzi immunologicznej powodują, że zaburzenie funkcji jednego z typów odporności prowadzi do zaburzenia działania drugiego. Konsekwencją stwierdzanych nieprawidłowości w obrębie układu immunologicznego jest upośledzona odpowiedź organizmu na różne czynniki manifestująca się niesprawną eliminacją patogenów, zaburzoną tolerancją wobec własnych antygenów lub predyspozycją do rozwoju procesów nowotworzenia [Dizon, 1998; Stasiak-Barmuta, 2005; Zeman, 2002; 2006; Zembala, 2001].

Według danych ze światowych rejestrów szacuje się, iż częstość występowania pierwotnych niedoborów odporności dla populacji ogólnej wynosi 1/10 000 żywych urodzeń. Wartość ta jest porównywalna z częstością występowania fenyloketonurii, a większa niż dla mukowiscydozy czy niedoczynności tarczycy. Natomiast najczęściej rozpoznawanym pierwotnym niedoborem odporności w

populacji ogólnej jest izolowany niedobór IgA, występuje on z częstością 1/330 do 1/700 żywych urodzeń [Finocchi, 2002; Stasiak-Barmuta, 2005; de Vries, 2001; Zeman, 2002].

Według danych bazy Eurocat obejmujących statystyki z lat 1999-2004 częstotliwość występowania ZD w Polsce wynosi 1/823 urodzeń. Rocznie w Polsce rodzi się około 250 dzieci z ZD (w roku 2004 liczba ta wynosiła 295 nowych przypadków). Niestety ani w Polsce, ani w innym kraju nie przeprowadzono badań epidemiologicznych dotyczących częstości występowania zaburzeń odporności w populacji pacjentów z ZD. Wobec tego zadaliśmy sobie pytanie o skalę problemu zaburzeń odporności w populacji pacjentów z trisomią 21 i podjęliśmy próbę oceny typu niedomogi odpornościowej oraz częstości jej występowania w grupie dzieci z ZD. W badanym materiale własnym rozpoznanie pierwotnego niedoboru odporności postawiono w 55 przypadkach, co stanowi aż 82% przebadanych pacjentów. Gdybyśmy uzyskane wyniki spróbowali odnieść do polskiej populacji dzieci z ZD okazałoby się, iż rocznie przybywa około 200 nowych przypadków dzieci z ZD i współtowarzyszącymi zaburzeniami układu immunologicznego. Obserwacja ta pozostaje w zgodności z poglądem o nierozzerwalności związku pomiędzy chromosomopatią 21 a nieprawidłowościami układu immunologicznego oraz podkreśla wagę problemu klinicznego, jaki stanowią zaburzenia odporności u dzieci z ZD szczególnie w praktyce lekarza pierwszego kontaktu. Porównanie uzyskanych wyników dotyczących częstości występowania zaburzeń odporności u dzieci z ZD do wyników badań innych autorów jest w znacznym stopniu utrudnione. Wynika to przede wszystkim z braku publikacji dotyczących epidemiologii tego zjawiska.

Dodatkową komplikację stanowi fakt, iż u części dzieci z ZD pomimo stwierdzanych zaburzeń odporności, manifestacja kliniczna zakażeń jest uboga. Część autorów wręcz podważa fakt istnienia związku pomiędzy stwierdzanymi zaburzeniami układu immunologicznego a zwiększoną predyspozycją do infekcji w tej grupie dzieci [Cuadrado, 1996; de Hingh, 2005; Ribeiro, 2003]. Analizując dostępne piśmiennictwo nie znaleźliśmy jasnych wytycznych dotyczących immunologicznej opieki nad dzieckiem z ZD [APP, 2001; Marder, 1997; Pietrzyk, 1999; Roizen, 2003; van Cleve, cz.I i II, 2006]. Zadaliśmy sobie pytanie w jaki więc sposób spośród populacji dzieci z ZD (często skąpoobjawowych) wyodrębnić pacjentów, którzy wymagają dodatkowej, wysokospecjalistycznej opieki

immunologa klinicznego? W populacji ogólnej infekcje dróg oddechowych są najczęstszymi chorobami okresu niemowlęcego i wczesnodziecięcego. Podaje się nawet, że w grupie dzieci do 5 roku życia infekcje dróg oddechowych stanowią około 50% wszystkich schorzeń [Stasiak-Barmuta, 2005]. Część autorów uważa, że w populacji ogólnej w okresie dzieciństwa może występować 6 do 8 zakażeń dróg oddechowych w skali roku [Bernatowska, 1999; Dizon, 1998]. Natomiast de Vries precyzuje, że typowa częstość infekcji u dzieci to 6-8 epizodów w niemowlęctwie w okresie jesienno-zimowym oraz 2 do 4 incydentów u dzieci starszych [de Vries, 2001].

Podejrzenie niedoboru odporności powinny budzić przewlekłe lub nawracające zakażenia, szczególnie jeżeli stosowana (często przewlekła) antybiotykoterapia jest nieskuteczna. Niepokój budzą również zakażenia drobnoustrojami oportunistycznymi [Kowalczyk, 2000; de Vries, 2001]. W przypadku dzieci, u których nie obserwuje się podobnej manifestacji klinicznej infekcji postępowanie ułatwia opracowana lista wskazań do diagnostyki immunologicznej, przedstawiona w tabeli numer V.1.

1.	6 lub więcej zakażeń dróg oddechowych lub uszu w ciągu roku
2.	2 lub więcej zapalenia zatok w ciągu roku
3.	trwająca 2 miesiące lub dłużej antybiotykoterapia bez wyraźnej poprawy
4.	2 lub więcej zapalenia płuc w ciągu roku
5.	brak przyrostu masy ciała lub zahamowanie prawidłowego wzrostu u dziecka z nawracającymi zakażeniami
6.	powtarzające się głębokie ropnie skórne lub narządowe
7.	przewlekające się grzybice jamy ustnej lub skóry u dzieci powyżej 1 roku życia
8.	konieczność długotrwałego stosowania antybiotyków dożylnych w celu opanowania zakażenia
9.	2 lub więcej ciężkie zakażenia, takie jak: mózgu, kości, skóry, posocznica
10.	wywiad rodzinny wskazujący na występowanie pierwotnych niedoborów odporności

Tabela V.1. Zestawienie patologicznych sytuacji, które powinny być wskazaniem do diagnostyki układu immunologicznego [Zeman, 2002].

Ze względu na często skapoobjawową manifestację kliniczną zaburzeń odporności dzieci te nie spełniają powyżej przedstawionych kryteriów stosowanych

dla ogółu populacji. Fakt ten może prowadzić do zaniechania wykonania badań diagnostycznych u tych pacjentów, a co za tym idzie do pojawienia się powikłań związanych z nieskuteczną terapią infekcji. Ribeiro jako pierwsza wysunęła sugestię o konieczności zaadaptowania istniejących kryteriów kwalifikacji pacjentów do wykonania badań diagnostycznych układu immunologicznego dla potrzeb grupy pacjentów z ZD. Autorka przeprowadziła badania oceniające układ immunologiczny u 45 dzieci obciążonych ZD. Na potrzeby swej pracy Ribeiro zmodyfikowała kryteria obowiązujące dla ogółu populacji, na podstawie których kwalifikowała chorych do grupy dzieci z wywiadem nawracających infekcji. Jako kryteria nawracających infekcji autorka uznała:

- zapalenie płuc – 3 i więcej epizodów w skali roku
- zapalenie ucha środkowego - 3 i więcej epizodów w ciągu 6 miesięcy lub 4 incydenty w skali roku
- angina - 5 incydentów w skali roku
- zapalenie gardła - 12 i więcej epizodów w skali roku
- zapalenie zatok obocznych nosa - 4 i więcej epizodów w ciągu 6 miesięcy.

Spośród 45 badanych pacjentów 14 nie spełniało powyższych kryteriów, pomimo to rozpoznanie niedoboru odporności postawiono u dwójki dzieci właśnie z tej grupy. Na podstawie tych badań Ribeiro sugeruje konieczność wykonywania systematycznych badań oceniających układ odpornościowy pacjentów z ZD, kiedy wykluczenie innych chorobowych czynników nie skutkuje redukcją infekcji [Ribeiro, 2003].

Wychodząc z założenia (w oparciu o dane z piśmiennictwa), że schorzenia infekcyjne u pacjentów z ZD charakteryzują się odmiennym, najczęściej skrytym przebiegiem klinicznym dla potrzeb niniejszej pracy podjęto próbę modyfikacji obowiązujących kryteriów klinicznych, które kwalifikowałyby pacjentów do przeprowadzenia szczegółowej diagnostyki układu immunologicznego. Zestawienie zastosowanych w naszej pracy kryteriów przedstawiono poniżej:

- cztery lub więcej zakażeń dróg oddechowych lub uszu w ciągu roku
- przewlekły przebieg infekcji

- każdorazowo infekcja przebiega z gorączką oraz wymaga podaży antybiotyku
- okresy zdrowia pomiędzy infekcjami: od 1 do 2 tygodni
- dwa lub więcej zapalenia płuc w ciągu roku
- przebycie ciężkiego zakażenia o lokalizacji narządowej: OUN, kości, skóry lub posocznicy
- hospitalizacja z powodów infekcyjnych w 1 lub 2 roku życia
- zastosowanie preparatów immunoglobulin w terapii zakażeń.

W oparciu o powyższe kryteria do grupy o wysokim prawdopodobieństwie występowania zaburzeń odporności zakwalifikowano 57 dzieci z ZD. Spośród tej grupy dzieci rozpoznanie niedoboru odporności postawiono w 45 przypadkach, co stanowi ponad 80% grupy obciążonej wywiadem nawracających infekcji. Obserwacja ta mogłaby upoważnić nas do postawienia twierdzenia o zasadności zastosowanych zmodyfikowanych kryteriów. Jednakże fakt, iż u wszystkich 10 pacjentów z grupy bezobjawowej (grupy nie spełniającej zaproponowanych kryteriów) również postawiono rozpoznanie zaburzeń układu immunologicznego, podważa koncepcję o wykonywaniu diagnostycznych badań immunologicznych u dzieci spełniających zaproponowane kryteria nawracających infekcji. **Alternatywnym postępowaniem mogłaby być propozycja wykonywania specjalistycznych badań immunologicznych u wszystkich dzieci z ZD.**

Z przeglądu piśmiennictwa wynika, że u podłoża zaburzeń układu immunologicznego człowieka leży nie tylko defekt genetyczny w obrębie samych komórek układu odpornościowego (obecnie dzięki rozwojowi biologii molekularnej oraz immunodiagnostyki zidentyfikowano ponad 120 tego rodzaju defektów). Istnieją również schorzenia, którym towarzyszą zaburzenia odporności, a przyczyna genetyczna choroby znajduje się poza układem linii hematopoetycznej. Stąd wskazaniem do przeprowadzenia diagnostyki immunologicznej u dzieci może być nie tylko przebieg kliniczny zakażeń, ale również rozpoznanie choroby współistniejącej z niedoborem odporności, jak np. defekty chromosomalne:

- zespół Downa
- zespół Turnera
- delecje chromosomu 18

[Kowalczyk, 2000; Zeman, 2002; Zembala, 2001].

Tak więc wysunięta przez nas propozycja wykonywania specjalistycznych badań immunologicznych u wszystkich dzieci z ZD pozostaje w zgodzie z cytowanymi powyżej autorami.

Zasadniczym celem naszej pracy była ocena typu niedomogi odpornościowej u dzieci z ZD. W związku z czym przeprowadzono analizę piśmiennictwa poszukując wskazówek dotyczących rodzaju podstawowych badań immunologicznych, dzięki którym można wyselekcjonować grupę dzieci wymagających stałej opieki immunologa klinicznego. Zależało nam by przeprowadzone badania miały charakter przesiewowy. Przeprowadzenie całego kompleksu badań immunologicznych jest często niemożliwe, choćby z powodu znacznych obciążeń finansowych takiego projektu badawczego. Ponadto klinicysta zawsze stoi przed problemem etycznym na ile przeprowadzane badania są obciążające dla chorego oraz jakie ewidentne korzyści osiągnie się poprzez ich przeprowadzenie. W zaistniałej sytuacji trzeba dokonać wyboru. Wybór nasz opierał się o przedstawioną poniżej analizę specjalistycznego piśmiennictwa dotyczącego problemu diagnostyki zaburzeń odporności.

Wszyscy autorzy są zgodni, iż diagnostykę zaburzeń odporności należy rozpocząć od badania morfologii krwi obwodowej z oceną rozmazu białokrwinkowego [Dizon, 1998; Kowalczyk, 2000; Stasiak-Barmuta, 2005]. Natomiast dla oceny odporności humoralnej istotne znaczenia mają badania:

- oznaczenie stężenia immunoglobulin
- oznaczenie podklas IgG
- ocena syntezy swoistych przeciwciał
- oznaczenie liczby limfocytów B [Kowalczyk, 2000].

Uważa się, iż badanie odporności humoralnej należy rozpocząć od określenia stężeń immunoglobulin w surowicy. Metoda nefelometryczna umożliwi wykonanie pomiarów ilościowych stężeń IgA, IgM, IgG. Natomiast ze względu na bardzo niskie stężenia IgD oraz IgE należy oznaczać ich stężenie przy pomocy metody radioimmunologicznej lub immunoenzymatycznej. Całkowite stężenie immunoglobulin poniżej 400 mg/dl lub stężenie IgG poniżej 200 mg/dl wskazują na niedobór przeciwciał [Dizon, 1998]. W ocenie należy zwracać szczególną uwagę na stężenie IgA, którego znaczące obniżenie stwierdza się we wszelkiego rodzaju agamma- czy dysgammaglobulinemiach. Stężenie IgA poniżej 5 mg/dl przy

prawidłowych wartościach IgG i IgM sugeruje istnienie izolowanego niedoboru IgA. Stężenie IgG poniżej 300 mg/dl, IgA poniżej 5 mg/dl i IgM poniżej 50 mg/dl sugeruje pierwotną hipogammaglobulinemię lub jest jednym z objawów skojarzonych niedoborów odporności [Stasiak-Barmuta, 2005].

Natomiast testem czynnościowym dla limfocytów B jest pomiar swoistych przeciwciał po szczepieniu. Do stymulacji stosuje się swoiste antygeny białkowe (pochodzące od szczepów *tetanus* czy *diphtheria*) oraz polisacharydowe (wytwarzane przez pneumokoki, meningokoki i *Haemophilus influenzae*). U zdrowych ludzi szczyt wzrostu stężenia swoistych przeciwciał obserwuje się w 2 tygodniu po podaniu szczepionek białkowych i w 3 tygodniu po podaniu szczepionek polisacharydowych [Stasiak-Barmuta, 2005]. Natomiast ocena wytwarzania swoistych przeciwciał w odpowiedzi na antygeny polisacharydowe jest przydatna dopiero u dzieci po 5 roku życia, ponieważ odpowiedź immunologiczna na tego typu antygeny rozwija się dopiero pomiędzy 2 a 4 rokiem życia [Kowalczyk, 2000].

Kontrowersje zaś budzi zasadność oznaczania stężeń podklas IgG jako badania o charakterze przesiewowym. Stasiak-Barmuta podobnie jak Dizon uważa, iż jest to badanie specjalistyczne i powinno być zarezerwowane dla pacjentów z nawracającymi zakażeniami i nieznacznie obniżonym lub prawidłowym stężeniem immunoglobulin, których układ immunologiczny nie odpowiada na stymulacje antygenami swoistymi. Ponadto autorka ta dodaje, iż pomiar podklas IgG należy przeprowadzać u dzieci z izolowanym niedoborem IgA, gdyż u 20% pacjentów z rozpoznany izolowanym niedoborem IgA stwierdza się niedobór IgG₂ [Dizon, 1998; Stasiak-Barmuta, 2005]. Wyniki tego oznaczenia należy jednak interpretować bardzo ostrożnie, ponieważ nawet u chorych z niedoborem odporności humoralnej stężenia podklas IgG mogą przyjmować wartości prawidłowe, a u niektórych zdrowych osób stężenie pojedynczych podklas IgG (np. IgG₄) jest zmniejszone [Dizon, 1998]. Ponadto ocena podklas IgG jest pozbawiona znaczenia diagnostycznego w przypadku pacjentów poniżej 5 roku życia ze względu na fakt, iż w rozwoju filogenetycznym człowieka zdolność do produkcji IgG₂, IgG₃ i IgG₄ pojawia się dopiero około 5 roku życia [Stasiak-Barmuta, 2005]. Podobnie Davies poddaje w wątpliwość przesiewowy charakter badania oceniającego podklasy IgG, jednakże jego argumentacja jest nieco odmienna: badanie podklas IgG jest przydatne tylko w przypadku podejrzenia rzadkiej delecji w rejonie genu kodującego stałe

fragmenty immunoglobulin, a w badaniach oceniających odporność humoralną istotniejszy jest pomiar stężeń swoistych przeciwciał [Davies, 2006]. Natomiast odmienne zdanie prezentuje praca Annaren. Według tej autorki u około połowy dzieci z ZD stwierdza się niedobór IgG₄, a w odpowiedzi na zakażenie organizm pacjenta z ZD nie reaguje wzrostem poziomu IgG₂ oraz IgG₄, co sugeruje istnienie zaburzeń ich wytwarzania. Zwiększona wrażliwość dzieci z ZD na infekcje bakteryjne może więc być częściowo tłumaczona niedoborem podklas immunoglobulin IgG₂ oraz IgG₄, które są odpowiedzialne za pierwotną odpowiedź organizmu na polisacharydowe antygeny bakterii otoczkowych, takich jak: *Streptococcus pneumoniae* oraz *Haemophilus influenzae*. Stąd Annaren uważa, iż w diagnostyce niedoborów odporności u pacjentów z ZD nie należy poprzestawać na ocenie całkowitego poziomu IgG, ale koniecznym wydaje się ocena poziomu podklas IgG₂ oraz IgG₄ [Anneren, 1992].

W diagnostyce zaburzeń odporności komórkowej istotne znaczenie mają:

- oznaczenie liczby limfocytów T i ich subpopulacji
- ocena funkcji limfocytów *in vivo* testami skórnymi nadwrażliwości typu późnego
- ocena funkcji limfocytów *in vitro* po stymulacji mitogenami lub antygenem [Kowalczyk, 2000].

Preferowaną metodą ilościowego oznaczania limfocytów T jest cytometria przepływowa z zastosowaniem znakowanych fluoresceiną przeciwciał monoklonalnych. Umożliwia ona określenie całkowitej liczby limfocytów T oraz ich subpopulacji. Liczba limfocytów CD4 poniżej 500/μl i wskaźnik CD4/CD8 poniżej 0,3 świadczą o ciężkim niedoborze limfocytów T [Dizon, 1998]. Natomiast do badań przesiewowych przeprowadzanych *in vivo* w celu oceny czynności limfocytów T służą testy skórne nadwrażliwości typu późnego. Dodatni wynik takiego badania ściśle koreluje z wynikami testów *in vitro*, w tym z oceną odpowiedzi proliferacyjnej limfocytów [Dizon, 1998]. Jednakże według Kowalczyk stosowanie w diagnostyce zaburzeń odporności testów skórných u dzieci ma ograniczoną wartość. Interpretując wyniki testów skórných należy pamiętać, że brak odpowiedzi na swoisty czynnik stymulujący (antygen - PPD, kandydyna, streptokinaza, toksoid tężca i błonicy) nie jest jednoznaczny z niedoborem odporności i może świadczyć jedynie o tym, że pacjent nie zetknął się wcześniej z danym antygenem. Natomiast brak odpowiedzi na

nieswoiste czynniki stymulujące (mitogeny - fitohemaglutynina, mitogen szkarłatki, konkawalina A) jednoznacznie informuje o występowaniu zaburzeń odporności. Spośród różnych metod oceny aktywności limfocytów T najczęściej jest stosowana ocena proliferacji limfocytów *in vitro* [Bernatowska, 1999; Kowalczyk, 2000].

Ze względu na fakt, iż najmniejszą grupę spośród niedoborów odporności stanowią niedobory składowych dopełniacza uważa się, że ocenę układu dopełniacza powinno się przeprowadzić u wszystkich pacjentów, u których w wywiadzie stwierdzono choroby charakterystyczne dla tego niedoboru. I tak podejrzenie niedoboru składowych dopełniacza należy wysunąć w przypadku chorych z nawracającymi zakażeniami bakteryjnymi, nawracającymi zapaleniami opon mózgowo-rdzeniowych, nawracającymi zakażeniami *Neisseria meningitidis*, z podejrzeniem chorób autoimmunizacyjnych czy poinfekcyjnym kłębkowym zapaleniem nerek. [Stasiak-Barmuta, 2005]. Zaburzenia te można wykryć testem przesiewowym, jakim jest badanie aktywności hemolitycznej dopełniacza (CH50). Jednak każdą nieprawidłowość wykrytą testem przesiewowym należy potwierdzić specjalistycznymi badaniami immunologicznymi i metodami oceniającymi czynność poszczególnych składowych dopełniacza [Dizon, 1998].

Wskazaniem do przeprowadzenia specjalistycznej diagnostyki układu fagocytozy są nieprawidłowe wyniki morfologii krwi obwodowej z oceną mikroskopową rozmazu białokrwinkowego i/lub obraz kliniczny choroby nasuwający podejrzenie zaburzeń fagocytozy. Typowy wywiad charakteryzujący zaburzenia fagocytozy obejmuje: nawracające zakażenia bakteryjne, tworzenie się ziarniniaków lub ropni, upośledzone gojenie się ran oraz choroby przyzębia. Ponadto zaburzenia układu fagocytarnego należy podejrzewać u wszystkich pacjentów z zakażeniami *Serratia marcescens*, *Staphylococcus epidermidis* i *Pseudomonas aeruginosa*. Jako przesiewowy test czynnościowy granulocytów (oceniający wytwarzanie rodników tlenowych) uznano test NBT w modyfikacji Segala. Stosowany w teście błękit nitrotetrazoliowy jest dobrze fagocytowany przez pobudzone granulocyty, a następnie redukowany do formazanu w ich mitochondriach, gdzie tworzą lite złogi koloru ciemnoniebieskiego. Właściwość ta została wykorzystana do oznaczania odsetka pobudzonych granulocytów we krwi obwodowej – spontaniczny test NBT. Natomiast rozszerzona wersja badania – test stymulowany – służy do oceny sprawności funkcjonalnej (zdolności do ulegania

pobudzeniu) granulocytów. Test ten polega na inkubacji pobudzonych granulocytów z NBT w obecności bakteryjnych stymulatorów [Park, 1968; Segal, 1973; Szczylik, 1979]. Podkreśla się, że test NBT jest tylko testem przesiewowym czynności granulocytów, a stwierdzenie zmniejszonej wewnątrzkomórkowej aktywności bakteriobójczej w teście jest wskazaniem do wykonania dalszych badań specjalistycznych [Dizon, 1998; Stasiak-Barmuta, 2005].

Na podstawie dokonanego przeglądu piśmiennictwa z zakresu specyfiki przebiegu zakażeń u pacjentów z ZD oraz podstawowej diagnostyki zaburzeń odporności, jak również opierając się o dane uzyskane z analizy wywiadów chorobowych, skupiliśmy się na ocenie wybranych parametrów układu immunologicznego. **Mając na uwadze przesiewowy charakter naszych badań dokonaliśmy oznaczenia: morfologii krwi obwodowej z oceną rozmazu białokrwinkowego, stężeń immunoglobulin IgA, IgG, IgM, subpopulacji limfocytów oraz aktywności granulocytów testem NBT.** Trafność naszego wyboru potwierdza Dizon. Według tego autora podstawowe wstępne badania oceniające funkcje limfocytów T i B, układ dopełniacza oraz czynność komórek fagocytujących (przedstawione powyżej) dają możliwość wykluczenia zaburzeń odporności u 95% dzieci, u których podejrzewa się występowanie tego typu zaburzeń [Dizon, 1998].

Wybierając konkretne badania oceniające układ immunologiczny kierowaliśmy się przesłanką by badania te miały charakter przesiewowy, a wszelkie stwierdzone odchylenia miały stanowić wskazania do dalszych specjalistycznych badań diagnostycznych. **W związku z czym odstąpiono od wykonania oceny stężeń podklas IgG, biorąc pod uwagę liczne kontrowersje immunologów co do przesiewowego charakteru tego badania oraz fakt, iż dzieci w wieku do 5 roku życia stanowiły ponad 60 % całej badanej grupy.** Wykluczenie tej grupy wiekowej z badania uniemożliwiłoby przeprowadzenie miarodajnej statystycznie analizy uzyskanych wyników badań.

To samo kryterium wiekowe stało się przyczyną odstąpienia od oceny aktywności limfocytów B poprzez pomiar miana swoistych poszczepiennych przeciwciał. Ponadto badanie to budzi również etyczne dylematy związane z wielokrotnym narażeniem dziecka na stres pobrania krwi. Nie bez znaczenia oczywiście pozostaje fakt obciążenia finansowego projektu związanego nie tylko z

kosztem wykonania badań laboratoryjnych, ale również z pokryciem kosztów szczepień tak dużej grupy pacjentów. Oczywiście można by uznać tę decyzję za słaby punkt pracy, zwłaszcza jeżeli jednym z punktów profilaktyki zakażeń w tej grupie miałyby być szczepienia między innymi przeciwko bakteriom otoczkowym. Jednakże wobec doniesień w piśmiennictwie o prawidłowej odpowiedzi pacjentów z ZD na szczepienia uważamy, iż nasze postępowanie jest uzasadnione i nie zaważy na miarodajnej ocenie wyników badań [Hawkes, 1978; Nurmi, 1982; Troisi, 1985].

Wiek pacjentów był również czynnikiem ograniczającym wykorzystanie testów skórnych do oceny aktywności limfocytów T. Ponadto niejednoznaczność interpretacji wyniku ujemnego ogranicza zastosowanie tego testu jako badania przesiewowego u małych dzieci. Fakt ten ma szczególne znaczenie w naszej pracy, gdzie dzieci poniżej 5 roku życia stanowiły ponad 60% całej grupy badanej. Natomiast badanie transformacji blastycznej limfocytów T *in vitro* po stymulacji mitogenami jest wysokospecjalistycznym badaniem diagnostycznym i jako takie nie spełniało naszego założenia o przesiewowym charakterze wykonywanych badań.

W badanym materiale własnym nie dokonano oceny składowych dopełniacza ze względu na brak danych w piśmiennictwie sugerujących występowanie niedoborów układu dopełniacza u pacjentów z ZD. Ponadto analiza wywiadów chorobowych wykazała, iż u żadnego z naszych pacjentów nie występował typowy dla chorób związanych z niedoborem składowych dopełniacza wywiad chorobowy.

Kluczowym krokiem w diagnostyce dziecka podejrzanego o nieprawidłowości w zakresie układu immunologicznego jest ocena subpopulacji limfocytów przy pomocy cytometrii przepływowej. Poszczególne subpopulacje mogą się znacznie i gwałtownie zmieniać pod wpływem bakteryjnych czy wirusowych infekcji, fizycznego lub emocjonalnego stresu oraz używania czy nadużywania leków. Dlatego istotne jest by diagnostyczną ocenę subpopulacji limfocytów przy pomocy immunofenotypizacji przeprowadzać gdy stan kliniczny pacjenta jest stabilny, w badaniu fizykalnym nie stwierdza się cech infekcji, a pacjent nie przyjmuje immunosupresyjnej terapii [Bonilla, 1997; Comans-Bitter, 1997]. **W związku z powyższym, aby uzyskać wiarygodne wyniki, u wszystkich pacjentów badania laboratoryjne zostały wykonane w okresie zdrowia, a pacjenci ci nie przyjmowali leków mogących interferować z wynikami badań.**

W piśmiennictwie podkreśla się jak ogromne znaczenie dla prawidłowej interpretacji wyników immunofenotypizacji subpopulacji limfocytów ma odniesienie się do wiarygodnych wartości referencyjnych [Bonilla, 1997; Comans-Bitter, 1997; de Hingh, 2005; de Vries, 1999, 2000]. Ponieważ wiadomo, iż zarówno bezwzględna liczba limfocytów, jak i ich wzór odsetkowy różnią się w zależności od wieku. Ważne jest więc stosowanie norm uwzględniających wiek pacjenta. Istotne jest uświadomienie sobie, iż odsetek procentowy poszczególnych subpopulacji u dzieci może być niższy niż obserwowany u dorosłych, jednakże ich liczba bezwzględna jest wyższa.

Całkowita liczba limfocytów rośnie bezpośrednio po narodzinach osiągając wartości maksymalne 6 do $7 \times 10^9/L$, a następnie opada stopniowo do średniej wartości $1,8 \times 10^9/L$ u ludzi dorosłych. Ten początkowy „skok” limfocytów wiąże się z rosnącą liczbą limfocytów T (CD3+) oraz B (CD19+). Po drugim miesiącu życia subpopulacja limfocytów T zaczyna zmniejszać się. Liczba limfocytów B pozostaje relatywnie podwyższona do drugiego roku życia, a następnie populacja ta również zaczyna zmniejszać się. Poziom komórek NK w momencie narodzin jest bardzo wysoki (trzykrotnie wyższy niż u dorosłych), ale obniża się gwałtownie wkrótce potem. Natomiast poziom limfocytów CD8+ pozostaje w miarę stabilny do drugiego roku życia i następnie zaczyna się obniżać. Limfocyty CD4+ gwałtownie rosną po porodzie do wartości cztero- pięciokrotnie większych niż obserwowane u dorosłych. Stąd wzajemny stosunek obu tych subpopulacji czyli wskaźnik CD4/CD8 zmienia się wraz z wiekiem, od wartości 2-3:1 u dzieci do 2:1 u dorosłych. Wszystkie te zmiany odzwierciedlają zmiany zachodzące w dojrzewającym układzie immunologicznym dzieci [Bonilla, 1997]. Niektóre spośród tych tendencji mogą pozostać niezauważone jeżeli będziemy brać pod uwagę wartości procentowe poszczególnych subpopulacji, a nie wartości bezwzględne. I tak odsetek limfocytów T we frakcji krążących limfocytów jest dość stabilny, przyjmując średnią wartość 65% do 70% we wszystkich grupach wiekowych. Liczba komórek NK, których wartość bezwzględna pozostaje stała po 5 miesiącu życia, wyrażona w wartościach procentowych wykazuje tendencje wzrostowe od 7% do 13% u dorosłych. **Stąd od kilku lat uważa się, iż ocena bezwzględnej liczby poszczególnych subpopulacji limfocytów ma większą wartość kliniczną** [Bonilla, 1997; Comans-Bitter, 1997; de Hingh, 2005; de Vries, 1999, 2000].

W naszej pracy interpretując uzyskane wyniki cytometrii przepływowej odniesiono się do wartości referencyjnych opublikowanych przez Comans-Bitter. Wybierając zakres wartości prawidłowych kierowano się przede wszystkim liczebnością grupy odniesienia. Comans-Bitter opracowała zakres wartości normalnych badając grupę zdrowych dzieci liczącą 429 pacjentów. Ponadto autorka stworzyła zakres norm zarówno dla liczby bezwzględnej, jak i odsetkowej poszczególnych subpopulacji limfocytów w oparciu o tę samą grupę pacjentów. Oczywiście ideałem byłoby odniesienie się do zakresu norm opracowanych dla populacji dzieci polskich, jednakże do chwili obecnej opracowano tylko zakres norm dla odsetkowych wartości subpopulacji limfocytów [Zeman, 2002, tabela 35]. Wobec najnowszych doniesień o większej wartości klinicznej bezwzględnej liczby limfocytów oczywistym jest, że zrezygnowano z wykorzystania w naszej pracy wartości referencyjnych opracowanych przez Zemana. Na podkreślenie zasługuje fakt, iż w 2005 roku de Hingh opracowała zakres norm dla bezwzględnych wartości subpopulacji limfocytów dla populacji dzieci z ZD. Wyniki swoich badań de Hingh odniosła do pracy Comans-Bitter, jednakże słabym punktem tego opracowania jest mała liczebność grupy badanej – 96 dzieci z trisomią chromosomu 21 w wieku od 1 do 20 lat.

Interpretując wyniki badań morfologii krwi oraz stężeń immunoglobulin odniesiono się do wartości normalnych uwzględniających wiek pacjentów, natomiast w przypadku oceny wyników testu NBT sugerowano się zakresem norm opracowanym przez producenta.

Analizując udział procentowy przyczyn pierwotnych niedoborów odporności w populacji ogólnej uważa się, że najczęściej rozpoznawanymi pierwotnymi niedoborami odporności są zaburzenia produkcji przeciwciał, stanowią one około 50% rozpoznawanych zaburzeń. Kolejny pod względem częstości występowania jest złożony niedobór odporności komórkowej i humoralnej, stanowiący 20% wszystkich przypadków. Niedobory odporności wyłącznie typu komórkowego stwierdza się u 10%, zaburzenia fagocytozy u 20%, a niedobory układu dopełniacza u 2% pacjentów z niedoborami odporności [Dizon, 1998; Stasiak-Barmuta, 2005; Zeman, 2002].

Natomiast analiza wyników pracy własnej wykazała, iż rozkład częstości występowania poszczególnych niedoborów odporności znamienne różnił się w badanej populacji dzieci z ZD w porównaniu do populacji ogólnej. Okazało się,

iz najliczniej reprezentowana była grupa chorych z rozpoznaniem złożonych niedoborów odporności – rozpoznanie to postawiono w 69% stwierdzanych zaburzeń. Obserwacja ta ma swoje odzwierciedlenie w piśmiennictwie, w większości publikacji mówi się o współwystępowaniu nieprawidłowości zarówno w obrębie subpopulacji limfocytów T oraz B [Cuadrado, 1996; de Hingh, 2005; Nespoli, 1993]. Prawdopodobnie wynika to z fizjologicznych zależności: limfocyty B wymagają „pomocy” limfocytów T do dojrzewania i aktywacji, w związku z czym niedoborom odporności zależnym od limfocytów T towarzyszą zazwyczaj niedobory odporności humoralnej o różnym nasileniu. Analogicznie pierwotne niedobory odporności humoralnej wynikają z zaburzenia dojrzewania i różnicowania limfocytów B [Dizon, 1998]. **W badanym materiale własnym kolejnym zaburzeniem pod względem częstości występowania był obniżony poziom limfocytów B, stanowiący 11% przypadków z nieprawidłowościami układu immunologicznego. Zaburzenia produkcji przeciwciał rozpoznano w 7%, zaburzenia fagocytozy w 7% stwierdzanych zaburzeń, a częstotliwość występowania leukopenii, limfopenii oraz izolowanych zaburzeń odporności komórkowej była podobna: zaburzenia te stwierdzono u 2 % chorych.** Stwierdzenie różnic w rozkładzie częstości występowania zaburzeń poszczególnych składowych układu odpornościowego u pacjentów z ZD w porównaniu do populacji ogólnej podkreśla jak diametralnie różnią się obie grupy.

W piśmiennictwie brak jest danych dotyczących częstości występowania poszczególnych niedoborów odporności u pacjentów z ZD, co utrudnia porównanie uzyskanych przez nas wyników badań. Tylko Ribeiro w swej publikacji podaje, iż w przebadanej grupie 32 chorych z ZD, obciążonych wywiadem infekcyjnym rozpoznanie niedoboru odporności komórkowej postawiono w 5 przypadkach, co stanowi 15% badanej przez nią grupy [Ribeiro, 2003]. **W naszym materiale takie rozpoznanie postawiono w 16 przypadkach, co stanowi 24% badanych, u których wykonano ocenę subpopulacji limfocytów.**

Naszym pierwszym krokiem była ocena wyników badań morfologii krwi obwodowej wraz z jej rozmazem białokrwinkowym. **Przeprowadzając analizę międzygrupową nie znaleźliśmy istotnych zależności pomiędzy średnimi wartościami poziomu leukocytów, granulocytów oraz poziomem limfocytów a**

manifestacją kliniczną zakażeń. Ogółem rozpoznano 6 przypadków granulocytopenii (wartości granulocytów poniżej 1,5 G/l) **z towarzyszącym obniżeniem poziomu leukocytów oraz 1 przypadek granulocytopenii z prawidłową leukocytozą.** Interpretując wyniki badania morfologii krwi obwodowej dziecka z ZD lekarz pierwszego kontaktu musi mieć świadomość, iż utrzymująca się neutropenia może być wstępem do schorzenia onkohematologicznego. Spośród rozpoznanych przypadków neutropenii w badanej grupie w okresie przeprowadzonej przez nas obserwacji nie rozwinął się żaden nowotwór, a pacjenci ci pozostają nadal pod stałą opieką Poradni Przyklinicznej. Należy również pamiętać, iż wysoka leukocytoza w przypadku noworodka z ZD może sugerować rozpoznanie TAM i wskazuje na konieczność natychmiastowej konsultacji pacjenta w ośrodku specjalistycznym [Awasthi, 2005; Hasle, 2000; Girodon, 2000; Płoszyńska, 1998; Yumura-Yagi, 1992]. W badanym materiale własnym nie stwierdzono ani jednego przypadku wysokiej leukocytozy, ponadto badania nie objęły dzieci w wieku poniżej pierwszego miesiąca życia.

Według Stasiak-Barmuta postępująca neutropenia występuje w pierwotnych niedoborach fagocytozy lub może być następstwem stosowanego leczenia [Stasiak-Barmuta, 2005]. W związku z brakiem danych z wywiadu dotyczących przyjmowania przez naszych pacjentów leków wpływających na układ białokrwinkowy, skupiliśmy się na poszukiwaniu korelacji pomiędzy obniżonym poziomem granulocytów a nieprawidłową ich aktywnością.

Do oceny aktywności granulocytów posłużyliśmy się testem NBT, w dwóch wersjach: spontanicznej i stymulowanej. Costello oraz Khan podają, iż pacjenci z ZD prezentują niższe wartości testu NBT w porównaniu do ludzi zdrowych [Costello, 1976; Khan, 1975]. Przy czym należy nadmienić, iż Khan przeprowadził swoje badania na populacji dzieci z ZD, natomiast Costello badała populację pacjentów z ZD w wieku od 11 do 54 lat. Natomiast w swojej publikacji Ribeiro nie stwierdziła nieprawidłowości czynności granulocytów w badanej grupie dzieci z ZD. Autorka wyniki swojej pracy tłumaczy niskim średnim wiekiem badanych pacjentów, podczas gdy zaburzenia zabijania mikroorganizmów nasilają się wraz z wiekiem pacjentów z ZD [Ribeiro, 2003]. **W naszej pracy nieprawidłowe wyniki stymulowanego testu NBT odnotowano u 24 pacjentów. W każdym z 4 przypadków obniżonych wartości spontanicznego testu NBT stwierdzono**

również zaniżone wartości stymulowanego testu NBT. Na podkreślenie zasługuje fakt, iż u żadnego z pacjentów, u których stwierdzono obniżone wartości testu NBT w wywiadzie nie odnotowano występowania schorzeń, charakterystycznych dla zaburzeń fagocytozy. Żaden z nieprawidłowych wyników nie spełniał kryteriów rozpoznania przewlekłej choroby ziarniniakowej.

Rozpiętość wartości spontanicznego testu NBT wynosiła od 0 do 63%, natomiast wartości stymulowanego testu NBT wahały się od 2 do 96%. Natomiast w badaniach Costello wyniki spontanicznego testu NBT wahały się od 1 do 48%, a w badaniu autorstwa Khan wartości te wynosiły od 5 do 13% - są to wartości niższe niż uzyskane w naszym badaniu. Należy nadmienić, iż w obu pracach nie wykonano stymulowanego testu NBT, który uznany jest za bardziej czuły od wersji spontanicznej [Szczylik, 1979]. Co ma swoje odzwierciedlenie w wynikach naszych badań: nieprawidłowych wyników stymulowanego testu NBT uzyskano znacznie więcej w porównaniu do wersji spontanicznej tego testu – 24 nieprawidłowe wyniki testu stymulowanego *versus* 4 nieprawidłowe wyniki testu spontanicznego.

Próbowaliśmy odpowiedzieć również na pytanie czy stwierdzenie defektu redukcji testu NBT koreluje z manifestacją kliniczną w badanej populacji dzieci z ZD? **Analiza porównawcza badanych grup klinicznych w odniesieniu do wyników spontanicznego testu NBT nie wykazała istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami. Natomiast analiza wyników stymulowanego testu NBT wykazała, iż średnia wartość tego testu w grupie bezobjawowej była znamienna najniższa ($p=0,04$) i tylko w tej grupie wartość ta była niższa niż zakresu normy. Stwierdzenie defektu zabijania mikroorganizmów przez granulocyty u 7/10 pacjentów z grupy porównawczej może stanowić potwierdzenie danych z piśmiennictwa o niższych wartościach testu NBT u pacjentów z ZD [Costello, 1976; Khan, 1975]. Na podkreślenie zasługuje również fakt, iż nawet u pacjentów z grup objawowych pomimo stwierdzenia defektu aktywności granulocytów nie obserwowano objawów klinicznych charakterystycznych dla tego rodzaju zaburzeń.**

Poszukując odpowiedzi na pytanie o korelację pomiędzy granulocytopenią a defektem aktywności granulocytów stwierdziliśmy, że spośród 24 pacjentów z nieprawidłowymi wynikami testu NBT obniżony poziom granulocytów odnotowano tylko u dwóch pacjentów. Natomiast analiza statystyczna poziomu granulocytów

oraz wartości testów NBT nie wykazała istnienia zależności pomiędzy powyższymi parametrami.

Utrzymująca się limfopenia (wartości limfocytów poniżej 1,5 G/l) jest charakterystyczna dla wielu niedoborów odporności komórkowej, zwłaszcza poziom limfocytów mniejszy niż 1 G/l u niemowląt i małych dzieci budzi podejrzenie niedoboru odporności [Dizon, 1998; Kowalczyk, 2000; Stasiak-Barmuta, 2005]. Jednakże należy pamiętać, iż obniżony poziom limfocytów może być również efektem nawracających zakażeń wirusowych, wyniszczenia organizmu, wynikiem ich utraty, chorób autoimmunizacyjnych i aplazji szpiku związanej z chorobami rozrostowymi komórek hematopoetycznych [Bernatowska, 1999; Stasiak-Barmuta, 2005]. **W materiale własnym limfopenię stwierdzono u 9 badanych dzieci. Interesujący jest fakt, iż 6/9 przypadków obniżonego poziomu limfocytów stwierdzono współwystępowanie zaburzeń w obrębie subpopulacji limfocytów. Najczęściej obserwowano obniżone wartości limfocytów CD4, CD8, CD3 oraz B – 5/9 przypadków limfopenii.** Zaburzenia te występowały zarówno u pacjentów objawowych, jak również u jednego pacjenta z grupy porównawczej. W wykonanych przez nas analizach statystycznych potwierdzono istnienie silnej zależności pomiędzy całkowitą liczbą limfocytów a wartościami bezwzględnymi poszczególnych subpopulacji limfocytów. Pomimo to na podkreślenie zasługuje fakt, iż u 3 pacjentów z rozpoznaną limfopenią nie obserwowano nieprawidłowości w zakresie subpopulacji limfocytów.

W przypadku dzieci z ZD najbardziej uderzającą obserwacją jest brak ekspansji limfocytów w pierwszych latach życia, podobnej do tej stwierdzanej u dzieci zdrowych [Costello, 1976, de Hingh, 2005]. Na podstawie badań populacji 96 dzieci z ZD de Hingh wykazała, iż średnia całkowita liczba limfocytów w grupie dzieci od 9 do 15 miesiąca życia jest niższa od norm dla dzieci zdrowych w chwili urodzenia. [de Hingh, 2005]. **Obserwację tę potwierdzają również wyniki naszej pracy.** Wprawdzie analiza porównawcza parametrów morfologii krwi obwodowej (uwzględniająca obraz odsetkowy układu białokrwinkowego) w grupie dzieci do 2 roku życia oraz w grupie dzieci starszych wykazała, iż u dzieci do 2 roku życia średnie wartości bezwzględne, jak i odsetkowe, limfocytów były znamienne wyższe niż u pozostałych dzieci. **Jednakże dokonując analizy porównawczej wyników limfocytozy badanych dzieci z ZD w wieku do 2 roku życia w odniesieniu do**

norm dla zdrowych rówieśników okazało się, iż średnia całkowita liczba limfocytów badanych dzieci z ZD była zdecydowanie niższa (3,02 G/l dzieci z ZD versus 5,5 G/l dzieci zdrowe).

Zgodnie z obserwacjami innych autorów najczęściej obserwowanym przez nas zaburzeniem w zakresie subpopulacji limfocytów był niedobór limfocytów B [Cossarizza, 1991; Cuadrado, 1996; Douglas, 2005; de Hingh, 2005; Lockitch, 1987; Lukas, 1980, Noble, 1988]. Rozpoznanie to postawiono w 32 przypadkach, przy czym izolowany niedobór limfocytów B obserwowano aż u 21 pacjentów. Jak podkreśla de Hingh obniżenie bezwzględnej liczby limfocytów B u pacjentów z ZD utrzymuje się przez cały okres dzieciństwa. Podobnie w naszej pracy spadek limfocytów B charakteryzował wszystkie grupy wiekowe. Wartości limfocytów B poniżej 5 percentyla autorka ta obserwowała aż u 61% badanych przez siebie dzieci z ZD [de Hingh, 2005], natomiast **w materiale własnym takie obniżenie subpopulacji limfocytów B obserwowaliśmy u 47, 76% badanych.**

Wielu autorów podaje, że nasilająca się wraz z wiekiem ekspansja komórek NK jest kolejną nieprawidłowość układu immunologicznego, charakteryzującą trisomię chromosomu 21 [Cossarizza, 1991; Cuadrado, 1996; Lockitch, 1987; Maccario, 1984; Noble, 1988]. Aczkolwiek wykonana przez de Hingh ocena subpopulacji limfocytów u dzieci z ZD w oparciu o cytometrię przepływową nie potwierdziła tego spostrzeżenia. Według autorki różnica zdań wynika z zastosowania w interpretacji wyników cytometrii przepływowej norm odnoszących się do wartości odsetkowych poszczególnych subpopulacji limfocytów, co podkreślają również inni autorzy [Bonilla, 1997; Comans-Bitter, 1997; Erkeller-Yuksel, 1992; de Hingh, 2005; de Vries, 2000]. W związku z tą sugestią interpretując wyniki uzyskane w naszej pracy odnieśliśmy się norm dotyczących wartości bezwzględnych opracowanych przez Comans-Bitter, na podstawie których **w badanym materiale własnym nie odnotowaliśmy ani jednego przypadku zaburzeń w obrębie subpopulacji komórek NK,** podobnie jak de Hingh [de Hingh, 2005].

Na podkreślenie zasługuje fakt, iż spośród 23 przypadków rozpoznanego niedoboru przeciwciał aż w 22 dotyczyły niedoboru IgM. W porównaniu w populacji ogólnej najczęściej występuje niedobór IgA [Finocchi, 2002; Stasiak-Barmuta, 2005; de Vries, 2001], natomiast niedobór IgM stwierdza się

sporadycznie u pacjentów obciążonych wywiadem nawracających infekcji, atopii, asplonii czy chorób autoimmunizacyjnych [Finocchi, 2002]. Dane z piśmiennictwa dotyczące stężeń immunoglobulin IgA, IgG, IgD oraz IgE u dzieci z ZD są sprzeczne. Większość autorów podkreśla, że wartości immunoglobulin do 6 roku życia dzieci z ZD są prawidłowe, a następnie przewyższają zakres norm – opisywana hipergammaglobulinemia dotyczy zwłaszcza klas IgA oraz IgG immunoglobulin. Natomiast odmienne tendencje obserwuje się w przypadku klasy IgM, czego odzwierciedleniem są również wyniki naszych badań. Uważa się, że przejawem dojrzewania układu odpornościowego u pacjentów z ZD jest wzrost poziomu immunoglobulin wraz z wiekiem. I tak stwierdzany obniżony poziom IgM u dzieci z ZD stopniowo rośnie, jednakże nie ulega normalizacji. Natomiast poziom IgG oraz IgA jest wyższy w każdej grupie wiekowej pacjentów z ZD w porównaniu do ogółu populacji, a ich wzrost wraz z wiekiem jest bardziej gwałtowny niż u dzieci zdrowych [Levin, 1979; Lockitch, 1987; Magnusson, 1997; Nespoli, 1993]. Obrazem stopniowo dojrzewającego układu immunologicznego w badanej populacji dzieci z ZD jest stwierdzenie znamienne niższych średnich wartości stężeń wszystkich klas immunoglobulin u dzieci do 2 roku życia w porównaniu do dzieci starszych. Potwierdza to również fakt, iż średnia wieku pacjentów wymagających podaży preparatów immunoglobulin w terapii zakażeń wynosiła 2,25 roku, a średnie stężenie immunoglobuliny IgG w tej grupie dzieci było znacząco niższe niż u dzieci starszych.

W badanym materiale własnym stwierdzono 2 przypadki niedoboru IgA oraz 3 niedoboru IgG, u pozostałych pacjentów parametry te mieściły się w granicach norm wiekowych zdrowych dzieci, co pozostaje w sprzeczności z przedstawionymi danymi z piśmiennictwa. W opozycji do przedstawionych doniesień stoją również wyniki badań na innej polskiej populacji dzieci z ZD, otóż Bartelik badając 43 pacjentów z ZD wykazał, iż stężenie wszystkich klas immunoglobulin nie odbiega od zakresu norm wiekowych dzieci zdrowych [Bartelik, 1992].

Powyższe obserwacje nasuwają pytanie czy stwierdzany niedobór przeciwciał wynika z defektu ilościowego – niedoboru limfocytów B czy też może jest związany z ich defektem funkcjonalnym. Spośród 22 przypadków niedoboru przeciwciał klasy IgM u 11 pacjentów stwierdzono, że bezwzględna liczba

limfocytów B przyjmuje wartości poniżej zakresu normy wiekowej, co może sugerować brak związku pomiędzy poziomem limfocytów B a stężeniem IgM. Brak zależności pomiędzy stężeniem IgM a poziomem limfocytów B potwierdzony został również w testach statystycznych. Natomiast zaskakujący okazał się fakt, iż wartości stężeń przeciwciał klasy IgA oraz IgG wykazują wysoką ujemną korelację z poziomem limfocytów B. Obserwację tę można tłumaczyć opisywanym w piśmiennictwie obniżeniem poziomu limfocytów B, które utrzymuje się przez cały okres dzieciństwa pacjentów z ZD [de Hingh, 2005] oraz podawanym przez licznych autorów stale rosnącym stężeniem IgA oraz IgG wraz z wiekiem, począwszy od 6 roku życia [Levin, 1979; Lockitch, 1987; Magnusson, 1997; Nespoli, 1993].

Zaburzenia odporności komórkowej stwierdzono w 16 (24,6%) przypadkach. Najlicniejszą grupę dzieci z rozpoznaniem zaburzeń odporności komórkowej stanowili pacjenci z grupy B, grupy o najcięższym przebiegu infekcji. W tej grupie było aż 7 dzieci z nieprawidłowościami w zakresie subpopulacji limfocytów, przy czym we wszystkich przypadkach współwystępowały one z innymi nieprawidłowościami układu immunologicznego. Zaskakujący jest jednak fakt występowania zaburzeń w zakresie subpopulacji limfocytów w grupie pacjentów asymptomatycznych. Zaburzenia tego rodzaju rozpoznano u 6/10 pacjentów grupy C. Obserwacje te nasuwają pytanie czy istnieje zależność pomiędzy zaburzeniami w obrębie subpopulacji limfocytów a ich manifestacją kliniczną? **Na podstawie przeprowadzonej analizy międzygrupowej nie stwierdziliśmy istotnych różnic pomiędzy grupami A, B i C w odniesieniu do wartości median poziomów limfocytów CD4, CD8, CD3 oraz B.** Obserwacja ta może być tłumaczona podkreślaną przez wielu autorów skąpa manifestacją kliniczną nieprawidłowości immunologicznych u pacjentów z ZD [Cuadrado, 1996; Ribeiro, 2003]. Na podkreślenie zasługuje fakt, iż we wszystkich grupach klinicznych wartości median poziomów limfocytów CD4, CD8, CD3 oraz B lokalizowały się w zakresie dolnej granicy norm wiekowych dla populacji zdrowych dzieci.

W 1987 roku Lockitch opublikował wyniki swoich badań, w których podkreśla brak różnic w zakresie subpopulacji limfocytów u dzieci z ZD obciążonych wywiadem nawracających infekcji, a nie chorującymi dziećmi z ZD [Lockitch, 1987]. Podobnie de Hingh w swoim opracowaniu podkreśla brak znaczących zależności pomiędzy rozmiarem subpopulacji limfocytów a częstością

infekcji lub występowaniem chorób autoimmunologicznych [de Hingh, 2005]. Jednakże nam trudno się zgodzić z powyższymi tezami ze względu na fakt, iż wprawdzie w naszej pracy nieprawidłowości subpopulacji limfocytów obserwowaliśmy we wszystkich grupach klinicznych, ale największą grupę z tego rodzaju zaburzeniami stanowili pacjenci z grupy B. Obserwacja ta upoważnia nas do postawienia wniosku, iż część pacjentów z ZD, pomimo stwierdzenia obniżonych wartości poszczególnych subpopulacji limfocytów, nie prezentuje objawów klinicznych, co znajduje swoje odzwierciedlenie w piśmiennictwie [Cuadrado, 1996; de Hingh, 2005; Ribeiro, 2003]. **W związku z czym wszystkie dzieci z ZD, niezależnie od obciążonego wywiadu infekcyjnego, powinny być traktowane jak potencjalne dziecko z zaburzeniami odporności.** Prostą konsekwencją powyższego wniosku jest zalecenie objęcia systemem profilaktyki zakażeń wszystkich dzieci z ZD.

Część autorów uważa, iż wiele spośród opisywanych zaburzeń układu immunologicznego u pacjentów z trisomią chromosomu 21 można interpretować jako objaw przedwczesnego starzenia się układu odpornościowego [Barrena, 1993; Bertotto, 1994; Cossarizza, 1991; Cuadrado, 1996]. Jednakże obserwowane już w okresie noworodkowym i pierwszych latach życia u dzieci z ZD zaburzenia adaptacyjne układu immunologicznego stanowią argument negujący teorię o jego przedwczesnym starzeniu się [de Hingh, 2005; Lukas, 1980]. Ciekawy pogląd prezentuje Ugazio w swej publikacji z roku 1978 uważa on, iż obserwowane w pierwszych latach życia dzieci z ZD nieprawidłowości układu immunologicznego wynikają z zaburzeń jego dojrzewania, natomiast zmiany obserwowane u młodych dorosłych są wynikiem przedwczesnego starzenia się układu immunologicznego [Ugazio, 1978]. Wobec tak wielu wątpliwości postanowiliśmy poddać dokładnej analizie grupę dzieci do 2 roku życia. Zadaliśmy sobie pytanie czy stwierdzane nieprawidłowości parametrów układu immunologicznego są manifestacją pierwotnych zaburzeń odporności, czy też może są obrazem dojrzewania tegoż układu? W badanym materiale dzieci do 2 roku życia stanowiły ¼ całej badanej grupy. **Analiza porównawcza wykazała, iż zaburzenia odporności komórkowej znamiennie częściej występowały właśnie w grupie dzieci do 2 roku życia (w porównaniu do pozostałych pacjentów); zaburzenia te rozpoznano u 52,9% pacjentów tej grupy.** Na podstawie szczegółowej analizy wyników oceny

subpopulacji limfocytów stwierdzono, że wyliczone średnie wartości bezwzględne limfocytów T4 były znamienne wyższe w grupie dzieci najmłodszych. Przy czym należy zauważyć, iż średnia wartość bezwzględna limfocytów T4 była niższa niż zakres norm dla dzieci w wieku 6 i 12 miesięcy. Natomiast średnia wartość bezwzględna limfocytów T8 nie różniła się istotnie od wartości obliczonych dla dzieci starszych i mieściła się w zakresie norm wiekowych. **Obserwacje te nasuwają wniosek, iż wzajemny stosunek limfocytów CD4/CD8 musi być wyższy w grupie dzieci do 2 roku życia i fakt ten został potwierdzony w testach statystycznych.** Średnia wartość bezwzględna limfocytów CD3 była niższa u dzieci młodszych i w parciu o normy wiekowe była podstawą do rozpoznania niedoboru CD3 w grupie dzieci w wieku 6 i 12 miesięcy.

Przedstawiony przez nas obraz subpopulacji limfocytów T u dzieci do 2 roku życia odzwierciedla zmiany zachodzące w dojrzewającym układzie immunologicznym dzieci. I tak całkowita liczba limfocytów rośnie bezpośrednio po narodzinach osiągając wartości maksymalne 6 do 7 x 10⁹/L, a następnie opada stopniowo do średniej wartości 1,8 x 10⁹/L u ludzi dorosłych. Ten początkowy „skok” limfocytów wiąże się z rosnącą liczbą limfocytów T (CD3+) oraz B (CD19+). Limfocyty CD4+ gwałtownie rosną po porodzie do wartości czteropięciokrotnie większych niż obserwowane u dorosłych. Wzrost tej subpopulacji po pierwszym tygodniu życia jest najprawdopodobniej związany z uwalnianiem z grasicy „naiwnych” limfocytów CD45RA+. Subpopulacja tych „naiwnych” limfocytów jest stale produkowana przez pierwszy rok życia, jako rezerwuuar komórek, które po stymulacji antygenem dojrzewają funkcjonalnie i biorą udział w pierwotnej odpowiedzi immunologicznej. Natomiast poziom limfocytów CD8+ pozostaje w miarę stabilny do drugiego roku życia i następnie zaczyna się obniżać. Stąd wzajemny stosunek obu tych subpopulacji czyli wskaźnik CD4/CD8 zmienia się wraz z wiekiem, od wartości 2-3:1 u dzieci do 2:1 u dorosłych. [Bonilla, 1997; de Vries, 2000].

Na podkreślenie zasługuje fakt, iż w badanym materiale własnym pomimo stwierdzenia znamiennej wyższej średniej wartości bezwzględnej liczby limfocytów B u dzieci do 2 roku życia (w porównaniu do dzieci starszych), wartość ta była niższa od zakresu norm wiekowych dla wszystkich dzieci w tej grupie (czyli 6, 12, 24 miesiąc życia). Prawidłowo dojrzewający układ immunologiczny charakteryzuje

się podwyższoną liczbą bezwzględną limfocytów B do drugiego roku życia, a następnie populacja ta również zaczyna zmniejszać się [Bonilla, 1997; de Vries, 2000].

Na podstawie oceny subpopulacji komórek NK stwierdzono, że ich średnia wartość **odsetkowa** była niższa u dzieci młodszych i nie przekraczała zakresu norm wiekowych, co stanowi odpowiednik fizjologicznych zmian zachodzących w układzie immunologicznym człowieka. **Bezwzględna** liczba komórek NK w momencie narodzin jest bardzo wysoka (trzykrotnie wyższa niż u dorosłych), wkrótce potem obniża się gwałtownie, a po 5 miesiącu życia nie ulega zmianom. Natomiast liczba komórek NK wyrażona w wartościach procentowych wykazuje tendencje wzrostowe od 7% w 5 miesiącu życia do 13% u dorosłych [Bonilla, 1997; Comans-Bitter; 1997; Erkeller-Yuksel, 1992; de Vries, 2000].

W badanej grupie dzieci do 2 roku życia średni poziom limfocytów CD4 był wprawdzie większy w porównaniu do dzieci starszych, lecz niższy od norm dla zdrowych rówieśników. Fakt ten można prawdopodobnie tłumaczyć opisywaną przez niektórych autorów redukcją subpopulacji komórek CD45RA+ w okresie dzieciństwa u pacjentów z ZD [Barrena, 1993; Bertotto, 1994, 1987; Cuadrado, 1996]. Jednakże fenotypizacja limfocytów CD4 nie jest badaniem przesiewowym w diagnostyce zaburzeń odporności w związku z czym nie podjęliśmy się oceny tej subpopulacji limfocytów w naszej pracy.

Zaprezentowana charakterystyka zmian w obrębie subpopulacji limfocytów w grupie dzieci poniżej 2 roku życia z jednej strony odzwierciedla fizjologiczne zmiany dojrzewającego układu immunologicznego, z drugiej zaś strony odnosząc uzyskane wyniki pacjentów z ZD z omawianej grupy wiekowej do norm wiekowych stosowanych dla zdrowej populacji otrzymujemy obraz dysfunkcji układu immunologicznego. Zmiany te odpowiadają tym opisywanym przez innych autorów [Barrena, 1993; Bertotto, 1994; Cossarizza, 1991; Cuadrado, 1996; Douglas, 2005; de Hingh, 2005; Lockitch, 1987; Lukas, 1980, Noble, 1988].

Wyniki analizy materiału własnego przychylają się do poglądów de Hingh oraz Lucas. Obserwowane przez nas zmiany w zakresie subpopulacji limfocytów u dzieci z ZD przed 2 rokiem życia sugerują zaburzenia adaptacyjne dojrzewającego układu immunologicznego [de Hingh, 2005; Lukas, 1980]. Jednakże wobec licznych kontrowersji dotyczących interpretacji zmian w układzie immunologicznym dzieci z

trisomią 21 wydawałoby się, że najlepszym postępowaniem jest uznać każde dziecko z tym zespołem genetycznym jako potencjalnie obciążone zaburzeniami odporności. Tym samym gdybyśmy stwierdzoną dysfunkcję układu immunologicznego uznali tylko za efekt przedwczesnego starzenia się organizmu, narażeni jesteśmy na popełnienie błędu w ocenie klinicznej pacjenta, czego konsekwencją mogą być powikłania pod postacią uogólnienia się procesu zapalnego lub nawet zgon pacjenta.

Infekcje dróg oddechowych stanowią manifestację kliniczną różnorodnych schorzeń, dotyczących różnych układów. Natomiast diagnostyka immunologiczna nie może być postępowaniem pierwszego rzutu, ze względu na swój wysokospecjalistyczny charakter, co wiąże się z długim okresem oczekiwania na konsultację z immunologiem klinicznym, jak również z wysokimi kosztami. Zgodnie z danymi z piśmiennictwa rutynowym postępowaniem lekarza pierwszego kontaktu w przypadku dziecka obciążonego wywiadem nawracających infekcji powinno być wykluczenie schorzeń predysponujących:

- przerostu migdałków podniebiennych i gardłowego
- alergii
- refluksu żołądkowo-przelykowego
- czy rzadziej występujących jak mukowiscydoza i wrodzona dysfunkcja rzęsek [de Vries, 2001].

Charakterystyczny fenotyp trisomii chromosomu 21 tj.: hipotonia mięśniowa, malformacje twarzoczaszki z redukcją przestrzeni w obrębie jamy ustnej i gardła, otyłość, relatywna hiperplazja migdałków podniebiennych i gardłowego oraz przerost języka, stanowi predyspozycję do nawracających zakażeń dróg oddechowych. Dlatego Dahlqvist i Hotaling sugerują, że w leczeniu infekcji w obrębie dróg oddechowych u dzieci z ZD powinno się stosować intensywną antybiotykoterapię, a w leczeniu nawracających zapaleń migdałków rozważyć wskazania do tonsilektomii oraz adenotomii [Dahlqvist, 2003; Hotaling, 1999]. **W badanym materiale własnym przerost migdałków podniebiennych rozpoznano u 19 (23,45%) badanych dzieci. Zabieg tonsillektomii wykonano w 11 przypadkach dzieci objawowych.** Poszukując odpowiedzi na pytanie czy przerost tkanki limfoidalnej pierścienia gardłowego w istotny sposób przyczynia się do wzrostu zachorowań na infekcje dróg oddechowych w badanej grupie dzieci nie znaleziono istotnej statystycznie zależności pomiędzy powyższymi procesami. Pomimo to

rodzice dzieci, u których wykonano zabieg usunięcia migdałków, podawali istotną redukcję liczby infekcji u swoich dzieci. Obserwacja ta podkreśla fakt, iż nawracające infekcje dróg oddechowych u dzieci z ZD mają podłoże wieloczynnikowe.

Poszukując kolejnych czynników predysponujących pacjentów z ZD do nawracających infekcji zastanawiano się czy współwystępowanie chorób alergicznych może stanowić o takiej predyspozycji. **Wśród badanych pacjentów występowanie chorób alergicznych stwierdzono w 24 (35,82%) przypadkach, przy czym najczęściej były to alergie pokarmowe (28,36%). Natomiast rozpoznanie alergii wziewnej postawiono u 7 (10, 45%) pacjentów**, większość z nich okresowo bądź na stałe wymagała podaży leków przeciwhistaminowych. Jednakże dokonana analiza statystyczna nie potwierdziła wpływu występowania chorób alergicznych na częstości infekcji u badanych pacjentów. Nie znaleziono również zależności pomiędzy chorobami alergicznymi a nieprawidłowościami wyników badań laboratoryjnych oceniających układ immunologiczny. Mamy świadomość, iż fakt ten może wynikać z małej liczebności grupy pacjentów z ZD i współwystępującą alergią.

Refluks żołądkowo-przełykowy może także manifestować się objawami typowymi dla schorzeń układu oddechowego, jak np.: astmą, nawracającymi zapaleniami płuc, obturacyjnymi zapaleniami oskrzeli czy też napadami bezdechów z towarzyszącą bradykardią. Ponieważ badania epidemiologiczne wskazują, że u 50% dzieci z przewlekłymi chorobami dróg oddechowych w wywiadzie rozpoznaje się GER, a zastosowanie u tych pacjentów farmakologicznego bądź chirurgicznego leczenia GER prowadzi do znacznej poprawy klinicznej, podkreśla się znaczenie wczesnej diagnostyki i leczenia GER w terapii nawracających infekcji dróg oddechowych [Gęsicki, 2005; Kaliciński, 1989; Orenstein, 1988]. Tak więc mając przed sobą dziecko z zespołem Downa z nawracającymi wymiotami, nieprawidłowym przyrostem masy ciała i wzrostu czy nawracającymi objawami ze strony układu oddechowego należy wykluczyć zaburzenia gastroenterologiczne [Zarate, 1999]. Zastanawiając się nad rolą GER w patogenezie nawracających infekcji w badanej grupie przeanalizowano dane uzyskane z retrospektywnych

wywiadów chorobowych. Okazało się, że badanie diagnostyczne w kierunku GER przeprowadzono tylko u 27 (40%) pacjentów. Diagnostyka GER w naszym materiale została oparta na ultrasonograficznym badaniu pogranicza żołądkowo-przełykowego. Jest to badanie zalecane w przypadku dzieci, jako badanie czułe i jednocześnie nieobciążające dla młodego organizmu [Gomes, 2003; Koumanidou, 2004; Orenstein, 1998]. Rozpoznanie GER postawiono w 12 (18%) przypadkach, z czego 9 pacjentów należało do grupy objawowej. Należy podkreślić fakt, iż według informacji uzyskanych od rodziców po włączeniu farmakologicznego leczenia antyrefluksowego u dzieci ustąpiły objawy kaszlu nocnego oraz bezdechów sennych. Natomiast trudno jest się ustosunkować do wpływu leczenia GER na redukcję liczby infekcji dróg oddechowych ze względu na zbyt krótki okres obserwacji. Ze względu na brak w piśmiennictwie doniesień odnośnie epidemiologii GER w populacji pacjentów z ZD porównanie wyników naszych badań jest utrudnione. Choć wydaje się, że ze względu na charakterystyczną dla zespołu hipotonię mięśniową oraz zaburzenia motoryki przełyku rozpoznanie GER prawdopodobnie dotyczy większej grupy chorych [Berkov, 1995; Kava, 2004; Nelson, 1996; Roizen, 2003; Zarate, 1999]. W oparciu o retrospektywne dane uzyskane z wywiadu uważamy, że niewielka liczba rozpoznań GER w badanej grupie wynika z faktu, iż diagnostyka ultrasonograficzna pogranicza żołądkowo-przełykowego została przeprowadzona u niewielkiej liczby dzieci obciążonych objawami klinicznymi, sugerującymi istnienie tej patologii. Zamierzamy uzupełnić te badania u pacjentów z ZD pozostających pod opieką Poradni Przyklinicznej.

W obrazie klinicznym u dzieci z ZD i rozpoznaniem GER dominowały nawracające infekcje dróg oddechowych. Podkreślić należy fakt, iż wszystkie dzieci z grupy objawowej z rozpoznaniem GER przebyły przynajmniej jeden incydent zapalenia płuc. Pomimo tej obserwacji analiza statystyczna materiału badanego nie potwierdziła istnienia zależności pomiędzy występowaniem refluksu żołądkowo-przełykowego a zwiększoną częstością infekcji w badanej grupie. Ten fakt należy tłumaczyć małą liczebnością grupy pacjentów, u których wykonano badanie w kierunku GER i postawiono takie rozpoznanie, co stanowi kolejny argument na rzecz uzupełnienia badań diagnostycznych w badanej grupie chorych. Pogląd ten potwierdzają dane z piśmiennictwa, mówiące o predyspozycji dzieci z trisomią 21 do

rozwoju GER. Dlatego badania diagnostyczne w kierunku tej nieprawidłowości należałyby wykonywać u wszystkich dzieci z ZD.

W piśmiennictwie podkreśla się istnienie zależności pomiędzy predyspozycją dzieci z ZD do nawracających infekcji dróg oddechowych a współwystępującą wrodzoną wadą układu krążenia [Day, 2005; Frid, 2002; Leonard, 2000; Szydłowski, 2004; van Trotsenburg, 2006]. Analiza porównawcza badanych grup wykazała, iż statystycznie częściej wrodzona wada układu krążenia występowała u pacjentów z grupy B. Okazało się, że aż 80,7% pacjentów z tej grupy ma rozpoznaną wrodzoną wadę serca, natomiast w grupie A odsetek tych pacjentów wyniósł 45,2%. **Nie bez znaczenia na przebieg kliniczny zakażeń wśród badanej grupy pozostawał fakt, iż w 95% przypadków rozpoznanej wadzie serca towarzyszyła hiperperfuzja płuc.** Poszukując odpowiedzi na pytanie, czy wczesna interwencja kardiochirurgiczna spowoduje spadek zachorowań na infekcje dróg oddechowych stwierdzono, że choć mediana wieku, w którym dokonano zabiegu operacyjnego korygującego wadę układu była niższa w grupie B w porównaniu do grupy A (3 miesiące *versus* 19 miesięcy) to odsetek pacjentów, u których obserwowano poprawę kliniczną po zabiegu był porównywalny. Ponadto analiza statystyczna nie wykazała istotnej zależności pomiędzy wiekiem wykonania operacyjnej korekcji wrodzonej wady układu krążenia a częstością infekcji w poszczególnych grupach. Obserwacja ta może sugerować istnienie dodatkowych czynników predysponujących do nawracających infekcji. Czy czynnikiem tym mogą być nieprawidłowości układu immunologicznego? Takiego wniosku nie można wyciągnąć na podstawie obserwacji własnych, ponieważ analiza porównawcza wyników badań immunologicznych u dzieci z grupy obciążonej wadą układu krążenia oraz u dzieci bez tej wady nie wykazała istotnych statystycznie różnic. Jednocześnie zaobserwowano, że wrodzona wada układu krążenia była istotnym czynnikiem predysponującym do infekcji w pierwszych dniach życia tych dzieci, ponieważ statystycznie częściej z powodu infekcji wrodzonej były leczone właśnie dzieci z wadą serca.

Analiza danych z piśmiennictwa oraz **fakt, iż w 9 na 17 przypadków wykonania korekcji wady układu krążenia (w grupie dzieci z nawracającymi infekcjami) stwierdzono poprawę kliniczną po zabiegu, upoważnia nas do**

twierdzenia, iż intensywna opieka kardiologiczna nad dziećmi z ZD i współwystępującą wadą serca odgrywa istotną rolę w prewencji infekcji dróg oddechowych, szczególnie w pierwszych latach życia tych dzieci [Day, 2005; Leonard, 2000; Roizen, 2003].

W opracowanych przez APP wytycznych opieki nad dziećmi z ZD podkreśla się znaczenie stałej opieki otolaryngologicznej w trakcie każdej infekcji dróg oddechowych. Postępowanie to ma na celu zwiększenie wykrywalności i skuteczności leczenia zapaleń ucha środkowego (ZUS), a tym samym zapobieganie nabytemu niedosłuchowi [AAP, Committee on Infectious Diseases and Committee on Fetus and Newborn, 2003; Hotaling, 1999; van Cleve, cz.I, 2006]. Wśród badanych dzieci stwierdziliśmy istotną zależność pomiędzy przebyłym ZUS a występowaniem niedosłuchu. Natomiast zaskakujący jest fakt, iż badanie ABR zostało wykonane tylko u 7 na 19 pacjentów z przebyłym incydem ZUS. Według Hotaling infekcje obejmujące ucho środkowe dotyczą około 50-70 % dzieci z ZD. **W naszej pracy zapalenie ucha środkowego w wywiadzie odnotowano tylko u 28% badanych dzieci.** Fakt ten może wynikać z często niemego przebiegu kliniczny ZUS, co prowadzi do niedostatecznego rozpoznawania tego schorzenia. Ponadto tylko jeden pacjent (dwuletni chłopiec) nagminnie chorujący na ZUS był objęty stałą opieką laryngologiczną. Mimo to nigdy u chłopca nie wykonano profilaktycznego badania słuchu. Jeżeli uznamy, iż faktycznie pozostałych 48 pacjentów nigdy nie przebyło ZUS to zaskoczeniem jest fakt, iż tylko u 15 z nich wykonano profilaktyczne badanie ABR. Przedstawione obserwacje dają obraz niedostatecznej opieki otolaryngologicznej nad tą grupą pacjentów.

Zastanawialiśmy się czy istnieją czynniki nie związane bezpośrednio z badanymi dziećmi, a mogące stanowić o ich predyspozycji do nawracających infekcji. Poszukując odpowiedzi na to pytanie szczegółowo przeanalizowaliśmy dane uzyskane z wywiadu dotyczące: chorób matczynych, wieku matki w chwili ciąży i porodu oraz rodzinnego obciążenia predyspozycją do nawracających infekcji. Opracowanie statystyczne powyższych danych nie wykazało istnienia związku pomiędzy wyżej wymienionymi czynnikami a częstością infekcji u badanych dzieci. Ponadto u opisywanego przez nas rodzeństwa z ZD: dziewczynki (BoJ) lat 15 oraz młodego mężczyzny (BoB) lat 22 stwierdzono odmienny charakter zaburzeń

odporności. U obojga rodzeństwa odnotowano obniżony poziom limfocytów B, co stanowi odzwierciedlenie obserwacji de Hingh o utrzymywaniu się tego niedoboru przez całe życie pacjentów z ZD. Natomiast u mężczyzny dodatkowo rozpoznano zaburzenia odporności komórkowej, co pozostaje w sprzeczności z twierdzeniem o stopniowej normalizacji poziom limfocytów T wraz z wiekiem [de Hingh, 2005]. Należy również dodać, że również przebieg kliniczny infekcji u rodzeństwa był odmienny. Prawdopodobnie wpływ na ten stan rzeczy miała wrodzona wada układu krążenia oraz układu moczowego u chłopca oraz rozpoznana alergia wziewna u dziewczynki. Obserwacja ta sugeruje brak wpływu obciążeń rodzinnych, matczynek oraz ciąży-porodowych na manifestację kliniczną zakażeń u dzieci z ZD, jest to więc prawdopodobnie indywidualna predyspozycja ściśle związana z samym zespołem.

Przedstawione zagadnienia dają obraz jak skomplikowane i wieloczynnikowe jest podłoże nawracających infekcji u dzieci z ZD. Stąd tak istotne jest poszukiwanie i wyeliminowanie czynników predysponujących do tego rodzaju schorzeń. Nasze obserwacje pozostają w zgodzie z danymi z piśmiennictwa, iż koniecznym jest objęcie dzieci z ZD szczególną opieką wielospecjalistyczną, niezależnie od występowania zaburzeń odporności [Noble, 1988; Ribeiro, 2005].

Zwiększona zapadalność dzieci z ZD na infekcje, przebieg kliniczny zakażeń oraz współwystępowanie zaburzeń odporności stanowią podstawę praktycznych zaleceń: profilaktyki zakażeń poprzez szczepienia oraz wczesnego i zdecydowanego leczenia każdego zakażenia.

Przyczyną zwiększonej podatności małych pacjentów na infekcje jest anatomiczna i funkcjonalna niedojrzałość układu immunologicznego. Zmniejszona aktywność limfocytów obserwowana u noworodków i dzieci wynika z faktu, iż limfocyty te nie miały jeszcze kontaktu z antygenami, a dominującą subpopulacją są komórki „naiwne”. Jest to proces fizjologiczny i nie należy go postrzegać w kategoriach niedoborów odporności. Organizm zdrowych noworodków i dzieci jest immunokompetentny, jednakże „dziewiczy” charakter układu odpornościowego sprawia, że reaguje on inaczej oraz mniej efektywnie w odpowiedzi na patogeny. Naturalnym jest również fakt, iż wraz z wiekiem układ immunologiczny samoistnie

dojrzewa. Proces ten może przyspieszyć ekspozycja na infekcje lub szczepionki ochronne [Bernatowska, 1999; de Vries, 1999, 2000].

APP zaleca poszerzenie podstawowego kalendarza szczepień u dziecka z ZD o szczepionkę przeciwko pneumokokom, jako działanie zapobiegające zakażeniom. Dziecko z ZD powinno otrzymać tę szczepionkę już w pierwszym roku życia [APP, 2001]. Natomiast van Cleve w swym opracowaniu podaje, że niemowlę z ZD powinno otrzymać wszystkie rekomendowane szczepienia [van Cleve, cz.I, 2006]. Ze względu na znaczne różnice w programach szczepień ochronnych realizowanych w poszczególnych krajach Unii Europejskiej oraz w Stanach Zjednoczonych Ameryki uważamy, iż określenie „wszystkie rekomendowane” szczepienia jest mało precyzyjne i daje dużą dowolność w interpretacji. Nie możemy się również zgodzić z poglądem Pietrzyk, który uważa, że dzieci z ZD powinny być szczepione jak dzieci zdrowe [Pietrzyk, 1999]. Ze względu na współwystępowanie zaburzeń odporności oraz licznych towarzyszących schorzeń predysponujących do nawracających infekcji szczepienie tych dzieci zgodnie z zatwierdzonym w Polsce kalendarzem szczepień dla dzieci zdrowych jest niewystarczającym zabezpieczeniem przed chorobami zakaźnymi, czego obrazem są wyniki naszych badań. Na podkreślenie zasługuje obserwacja, iż w badanym materiale własnym jako profilaktykę nawracających infekcji dodatkowe szczepienia zastosowano tylko u 15 (26%) pacjentów z grup objawowych. Z grupy B – grupy dzieci najciężej chorujących tylko 6/31 dzieci otrzymało dodatkowe szczepienia. Dobór zastosowanych szczepionek był uzależniony od wieku pacjentów, i tak szczepienie przeciwko Hib otrzymały dzieci w wieku do 4 roku życia, natomiast dzieci starsze były szczepione przeciwko grypie. Tylko jedna dziewczynka w wieku 8 lat otrzymała szczepionkę przeciwko pneumokokom. Porównywalna liczba chorych z grup objawowych otrzymywała preparaty immunostymulujące: 7 z grupy A oraz u 7 z grupy B. W obu grupach jako prewencję nawracających infekcji preferowano stosowanie preparatów, zawierających w swoim składzie kombinacje ekstraktów różnych bakterii, takich jak: Broncho-Vaxom, IRS-19, Polyvaccinum, Ribomunyl. Pomimo stosowania różnego rodzaju preparatów immunomodulujących u żadnego dziecka z badanej grupy nie odnotowano poprawy klinicznej. Z poczynionych przez nas obserwacji wynika, że tylko u ¼ grupy dzieci z obciążonym wywiadem infekcyjnym zastosowano

profilaktykę zakażeń, przy czym w postępowaniu tym praktycznie nie uwzględniono ochrony przed inwazyjną chorobą pneumokokową.

W związku z wcześniej przedstawioną przez nas koncepcją by wszystkie dzieci z ZD, niezależnie od obciążonego wywiadu infekcyjnego, traktować jak potencjalne dziecko z zaburzeniami odporności uważamy, iż program szczepień tych dzieci powinien być zmodyfikowany, podobnie jak dla dzieci z zaburzeniami odporności. Ponieważ przebieg kliniczny zakażeń bakteryjnych i wirusowych u dzieci z niedoborami odporności może być ciężki, przewlekły, a nawet może prowadzić do zgonu, istotą postępowania z takim pacjentem jest profilaktyka zakażeń oparta przede wszystkim na szczepieniach. W piśmiennictwie istnieje zgodność co do poglądu, iż w utrzymaniu prawidłowego stanu zdrowia dzieci z pierwotnymi niedoborami odporności istotną rolę odgrywają szczepienia ochronne, oczywiście wyjątek stanowią dzieci z głębokim defektem wszystkich funkcji immunologicznych [Bernatowska, 1997,1999; Dizon, 1998; Zeman, 2002].

Według ACIP (Advisory Committee on Immunization Practices) pacjentów z zaburzeniami odporności należy zaszczyć zabiłą szczepionką przeciw grypie oraz szczepionkami skierowanymi przeciwko bakteriom otoczkowym: *Haemophilus influenzae* typ b, *Streptococcus pneumoniae* oraz *Neisseria meningitidis* [ACIP, 2006]. Zasadność takiego postępowania potwierdzają doniesienia, iż po zarejestrowaniu w USA skoniugowanej szczepionki przeciwko Hib w końcu lat 90 odnotowano 98% zmniejszenie liczby zakażeń wywołanych przez Hib w tym kraju. Ponadto wprowadzenie tej szczepionki przyczyniło się do zmniejszenia nosicielstwa Hib wśród zaszczypanych osób, tym samym dając efekt odporności zbiorowiskowej [Black, 2000]. Dzięki sprzężeniu antygenów polisacharydowych Hib z białkowym nośnikiem szczepionka ta jest skuteczna już od 2 miesiąca życia i jest rutynowo rekomendowana dla dzieci do 59 miesiąca życia. Natomiast pojedynczą dawkę tej szczepionki można również administrować starszym dzieciom z asplenią oraz młodzieży i dorosłym, którzy nie otrzymali tego rodzaju szczepienia w dzieciństwie [ACIP, 2006; Bernatowska, 1997].

W profilaktyce inwazyjnej choroby pneumokokowej mamy do dyspozycji dwa rodzaje szczepionek przeciwko pneumokokom: polisacharydowa (PPV 23-walentna) oraz skoniugowana (PCV 7-walentna). Ze względu na niedojrzałość odpowiedzi swoistej PPV nie jest skuteczna u dzieci przed 2 rokiem życia, czyli w okresie

najwyższego zachorowania na inwazyjną chorobę pneumokokową. Ponadto PPV nie niweluje nosicielstwa pneumokoków. Oczywiście należy podkreślić fakt, iż szczepionka ta jest skuteczna u dzieci starszych. Natomiast obecna od niedawna na naszym rynku PCV ze względu na sprzężenie antygenów polisacharydowych otoczki z białkiem nośnikowym wywołuje swoistą odpowiedź również u dzieci do 2 roku życia. Ponadto PCV redukuje kolonizację pneumokokową. Szczepionka ta jest zalecana u dzieci do 59 miesiąca życia [ACIP, 2000; 2006; Bernatowska, 1997; Black, 2000; Stasiak-Barmuta, 2005]. Tak więc rekomendując daną szczepionkę trzeba kierować się kryterium wieku pacjenta.

Ponieważ *Haemophilus influenzae* typ b oraz *Streptococcus pneumoniae* są najpowszechniejszymi czynnikami chorobotwórczymi zakażeń dróg oddechowych zasadnym wydaje się objęcie szczepieniami przeciwko tym patogenom wszystkich dzieci z ZD [Bernatowska, 1999; Stasiak-Barmuta, 2005]. Ponieważ pacjenci z asplenią oraz niedoborem komplementu są obciążeni podwyższonym ryzykiem zachorowania na chorobę meningokokową, ta grupa pacjentów powinna otrzymać również szczepienia skierowane przeciwko *Neisseria meningitidis* [ACIP, 2006]. Ze względu na brak danych z piśmiennictwa dotyczących związku pomiędzy niedoborami składowych komplementu a ZD, jak również nieobciążony wywiad chorobowy zapaleniem opon mózgowych w materiale własnym uznaliśmy, że decyzja o szczepieniu dzieci z ZD przeciwko *Neisseria meningitidis* powinna być podejmowana indywidualnie dla każdego pacjenta.

Konkludując wszystkie dzieci z ZD powinny przejść cykl szczepień przeciwko najpowszechniejszym patogenom bakteryjnym, jakimi są *Haemophilus influenzae* typ b oraz *Streptococcus pneumoniae*. Natomiast corocznie dzieci te powinny być szczepione zabiłą szczepionką przeciw grypie. Decyzja o szczepieniu dzieci z ZD przeciwko *Neisseria meningitidis* powinna być podejmowana indywidualnie dla każdego pacjenta.

Oczywiście wobec dysfunkcji układu immunologicznego u pacjentów z ZD rodzi się pytanie czy chorzy ci są w stanie prawidłowo odpowiedzieć na zastosowane szczepienia, a tym samym czy proponowany przez nas sposób profilaktyki zakażeń w tej grupie będzie skuteczny? W 1978 roku Hawkes podjął się próby porównania odpowiedzi immunologicznej na szczepienia pacjentów przebywających w zakładzie opieki zbiorowej. Badaniu poddano 110 dorosłych pacjentów z ZD oraz 78

nieobciążonych tym zespołem, wszystkim zaszczepiono 7 patogenami: krztusiec, błonica, wirus grypy typ A i B, odra, świnka, różyczka. Nie stwierdzono żadnej znaczącej różnicy odpowiedzi immunologicznej na szczepienie którymkolwiek z 7 antygenów w porównywanych grupach. Ponadto Hawkes zauważył, że u pacjentów z ZD i niskimi mianami przeciwciał antyHBs również nie stwierdzono występowania mniej efektywnej odpowiedzi na zastosowane szczepienia [Hawkes, 1978]. Podobne badania przeprowadziła Troisi używając do immunizacji szczepionki skierowanej przeciwko HBV. Badania, które objęły 62 pacjentów z ZD przebywających w ośrodkach opieki zbiorowej, nie wykazały żadnych różnic odpowiedzi immunologicznej na szczepienia przeciwko HBV w porównaniu do zdrowych rówieśników. Na podstawie tej obserwacji wysunięto wniosek, iż to nie defekt limfocytów B jest odpowiedzialny za nosicielstwo antygeny HBs u pacjentów z ZD. Troisi wykazała również, że miano specyficznych przeciwciał zależy od dawki, wieku pacjentów oraz ich wagi, natomiast płeć pozostaje bez wpływu na produkcję poszczepiennych przeciwciał. Charakterystyczny jest fakt, iż w grupie pacjentów z ZD w wieku poniżej 30 roku życia odpowiedź na szczepienia przeciw HBV determinuje masa ciała chorego, natomiast po 30 roku życia istotnym czynnikiem jest wiek chorego. Wynika z tego praktyczny wniosek: pacjenci z ZD powinni być szczepieni przeciw WZW typu B zgodnie z aktualnym kalendarzem szczepień, natomiast w przypadku profilaktyki poekspozycyjnej należy stosować wyższe dawki szczepionki (40 µg) [Troisi, 1985]. Również w pracy autorstwa Ferreira podkreśla się negatywny wpływ wieku w chwili szczepienia na odpowiedź immunologiczną u pacjentów z ZD. I tak u pacjentów poniżej 20 roku życia odsetek serokonwersji po zastosowaniu szczepienia przeciwko HBV wynosił około 91,6%, natomiast w grupach starszych zaledwie 33,3%. Autorka ta na podstawie swojej pracy, w której oceniała odpowiedzi immunologicznej dzieci z ZD na szczepienie przeciwko HAV zauważyła, iż pacjenci z ZD przebywający w domach ze swoimi rodzinami, stosujący się do podstawowych zasad higieny, prezentują niską zapadalność na wirusowe zapalenie wątroby typu A oraz dobrą odpowiedź na szczepienia. U tych dzieci odsetek serokonwersji po pierwszej dawce szczepienia wynosił 92%, a po drugiej 100%. Poimmunizacyjne średnie miano wytworzonych specyficznych przeciwciał było satysfakcjonujące i porównywalne do grupy dzieci zdrowych [Ferreira, 2004]. Kolejna cytowana praca dotyczy odpowiedzi na szczepienia

skierowane przeciwko pneumokokom wśród pacjentów z opóźnieniem rozwoju intelektualnego przebywających w zakładzie opieki zbiorowej. Nurmi wykazał, iż dorośli pacjenci z ZD przed szczepieniem mieli niższe stężenia specyficznych przeciwciał w porównaniu do pacjentów nieobciążonych trisomią 21. Natomiast odpowiedź na szczepienia była porównywalna do grupy kontrolnej, a poszczepienne stężenia specyficznych przeciwciał były wprawdzie niższe od stężeń stwierdzanych w grupie kontrolnej, ale różnica ta była mniej zaznaczona niż w przypadku porównywania stężeń przeciwciał przed szczepieniem. Obserwacja ta może wskazywać na konieczność reimmunizacji w okresie krótszym niż zalecane 5 lat u zdrowych dorosłych, jednakże sugestia ta wymaga jeszcze dalszych badań. [Nurmi,1982]. Podsumowując wydaje się, że pacjenci z ZD są w stanie prawidłowo odpowiedzieć na szczepienia pod warunkiem, iż cykl szczepień przeprowadzi się w okresie dzieciństwa i wyeliminuje czynnik ryzyka narażenia na liczne patogeny, jakim jest przebywanie w zakładach zbiorowej opieki.

Analiza przedstawionego piśmiennictwa daje nam prawo myśleć, iż proponowane przez nas modyfikacje programu szczepień będą skuteczne, zwłaszcza że program ten jest kierowany do dzieci z ZD, z których większość przebywa w środowisku domowym.

Van Cleve uważa, że u dzieci z trisomią chromosomu 21 zasadnym może być stosowanie w okresie całego sezonu zwiększonej wirerii wirusa RS comiesięcznych, domięśniowych iniekcji z immunoglobuliny anty-RSV /preparat Palivizumab firmy Syngis/. Jednakże ze względu na ogromne koszty tej terapii jej stosowanie jest ograniczone. Ocenia się, że koszt kuracji czyli 4 dawki preparatu Palivizumab dla pięciokilowego dziecka wynosi 2700\$ - symulacja na rok 1999. Analiza porównawcza kosztów preparatu i administracji oraz kosztów hospitalizacji z powodów zakażenia RSV wykazała, że z punktu widzenia ekonomicznego profilaktyczne podawanie preparatu Palivizumab ma swoje uzasadnienie tylko u pacjentów obciążonych przewlekłymi chorobami płuc oraz u wcześniaków z wysokim ryzykiem hospitalizacji z powodu infekcji RSV [Joffe, 1999]. Niestety przedstawiona argumentacja sprawia, że preparatu Palivizumab nie możemy zalecać jako rutynowej profilaktyki zakażeń dróg oddechowych u dzieci z ZD.

Po ustaleniu rozpoznania pierwotnego niedoboru odporności pediatra staje przed koniecznością wyboru skutecznej metody postępowania, aby zmniejszyć ryzyko wystąpienia powikłań, często zagrażających życiu chorego. Postępowanie z takim dzieckiem obejmuje omówioną już kwestię profilaktyki zakażeń poprzez szczepienia ochronne oraz terapię zakażeń. Ze względu na specyfikę obrazu klinicznego infekcji u dzieci z ZD wymagają one wzmożonej czujności ze strony lekarzy pierwszego kontaktu, niezależnie od występowania zaburzeń odporności [Garrison, 2005; Ribeiro, 2005; Noble, 1988]. Istotą opieki nad dziećmi z pierwotnymi zaburzeniami odporności jest intensywne leczenie, nawet jeżeli wymaga to hospitalizacji dziecka w celu pozajelitowej antybiotykoterapii. Każde zakażenie trzeba intensywnie leczyć odpowiednimi antybiotykami. Zasady wyboru terapii farmakologicznej nie różnią się niczym od przyjętych w leczeniu dzieci nie obciążonych zaburzeniami odporności [Dizon, 1998]. Przyjmując założenie, że każde dziecko z ZD należy traktować jako potencjalnie obciążone dysfunkcją układu immunologicznego, proponowany przez Dizon sposób postępowania możemy zalecać również wobec dzieci z trisomią 21, co wydaje się być zgodne z poglądami innych autorów [Dahlqvist, 2003; Garrison, 2005; Hotaling, 1999; Ribeiro, 2003; Noble, 1988; van Trotsenburg, 2006].

Określenie skuteczności zaproponowanego przez nas postępowania profilaktycznego u pacjentów z ZD, u których postawiono rozpoznanie zaburzeń odporności umożliwi jedynie wieloletnia obserwacja badanych przez nas chorych. Można więc przypuszczać, że część wniosków wypływających z przeprowadzonych badań będzie można wysunąć po upływie kilku lat.

VII. Wnioski

Przeprowadzone badania upoważniają nas do sprecyzowania następujących wniosków:

0. Zaburzenia odporności są integralną cechą zespołu Downa i mogą dotyczyć nawet 80% populacji dzieci z tym zespołem genetycznym.
0. W obrazie klinicznym dzieci z ZD dominują złożone zaburzenia odporności oraz obniżony poziom limfocytów B.
0. Grupę dzieci z ZD w wieku poniżej 2 roku życia charakteryzuje brak typowej dla tego wieku ekspansji limfocytów. Wzajemne stosunki poszczególnych subpopulacji limfocytów u dzieci z tej grupy wiekowej naśladują fizjologiczne zmiany związane z dojrzewaniem układu immunologicznego, jednakże ich wartości bezwzględne są niższe niż u zdrowych rówieśników.
0. Ponieważ schorzenia infekcyjne u pacjentów z ZD charakteryzują się odmiennym, najczęściej skrytym przebiegiem klinicznym i często nie spełniają kryteriów kwalifikacji do immunologicznych badań diagnostycznych stosowanych dla ogółu populacji, proponujemy by wszystkie dzieci z ZD, niezależnie od obciążonego wywiadu infekcyjnego, traktować jak potencjalne dziecko z zaburzeniami odporności.
0. Schorzenia infekcyjne dróg oddechowych u dzieci z ZD mają podłoże wieloczynnikowe, stąd koniecznym jest objęcie tej grupy dzieci szczególną opieką wielospecjalistyczną (laryngologa, gastroenterologa, alergologa, kardiologa), niezależnie od występowania zaburzeń odporności.
0. Jako profilaktykę zakażeń proponujemy aby wszystkie dzieci z ZD zostały zaszczepione przeciwko najpowszechniejszym patogenom bakteryjnym, jakimi są *Haemophilus influenzae* typ b oraz *Streptococcus pneumoniae*. Natomiast corocznie dzieci te powinny być szczepione zabitą szczepionką przeciw grypie. Decyzja o szczepieniu dzieci z ZD przeciwko *Neisseria meningitidis* powinna być podejmowana indywidualnie dla każdego pacjenta.
0. Istotą terapii zakażeń u dzieci z ZD jest ich wczesne i agresywne leczenie, nawet jeżeli wymaga to hospitalizacji dziecka w celu pozajelitowej antybiotykoterapii.

VIII. Streszczenie

W piśmiennictwie istnieje zgodność co do poglądu, iż dysfunkcja układu immunologicznego jest integralną częścią ZD. Nieprawidłowość ta manifestuje się zwiększoną częstotliwością występowania infekcji, nowotworów hematologicznych i chorób z grupy autoagresji, co w znacznej mierze przyczynia się do wzrostu zachorowalności i śmiertelności w tej grupie. Stworzony przez AAP system opieki nad dzieckiem z ZD, pomimo swej wszechstronności, nie porusza problemu dziecka z obciążonym wywiadem nawracających infekcji oraz nie precyzuje wskazań do wysokospecjalistycznej diagnostyki układu immunologicznego. Przesłanki te stały się dla nas bodźcem do podjęcia badań mających na celu ocenę: skali problemu zaburzeń odporności u dzieci z ZD, rodzaju nieprawidłowości układu immunologicznego oraz związku tych zaburzeń z manifestacją kliniczną. Ponadto podjęliśmy się próby ustalenia standardów postępowania z dzieckiem z ZD obciążonym nawracającymi infekcjami.

Cel badań realizowany był w latach 2003-2006 w Klinice Pediatrii, Hematologii, Onkologii i Endokrynologii AMG. Badaniami objęto 67 dzieci z zespołem Downa, pozostających pod opieką Poradni Genetycznej SPSK 1 ACK Akademii Medycznej w Gdańsku. Do grupy o wysokim prawdopodobieństwie występowania zaburzeń odporności zakwalifikowano 57 dzieci z ZD. Mając na uwadze przesiewowy charakter naszych badań dokonaliśmy oznaczenia: morfologii krwi obwodowej z oceną rozmazu białokrwinkowego, stężeń immunoglobulin IgA, IgG, IgM, subpopulacji limfocytów oraz aktywności granulocytów testem NBT. Oceniając subpopulacje limfocytów brano pod uwagę ich wartości bezwzględne jako bardziej wartościowe klinicznie, odnosząc uzyskane wyniki do wartości referencyjnych uwzględniających wiek pacjentów.

W badanym materiale własnym rozpoznanie pierwotnego niedoboru odporności postawiono w 55 przypadkach, co stanowi aż 82% przebadanych pacjentów. Obserwacja ta pozostaje w zgodności z poglądem o nierozzerwalności związku pomiędzy chromosomopatią 21 a nieprawidłowościami układu immunologicznego oraz podkreśla wagę problemu klinicznego, jaki stanowią zaburzenia odporności u dzieci z ZD szczególnie w praktyce lekarza pierwszego kontaktu.

Rozkład częstości występowania poszczególnych niedoborów odporności znamienne różnił się w badanej populacji dzieci z ZD w porównaniu do populacji ogólnej. Okazało się, iż najliczniej reprezentowana była grupa chorych z rozpoznaniem złożonych niedoborów odporności – rozpoznanie to postawiono w 69% stwierdzanych zaburzeń. Kolejnym zaburzeniem pod względem częstości występowania był obniżony poziom limfocytów B, stanowiący 11% przypadków z nieprawidłowościami układu immunologicznego. Zaburzenia produkcji przeciwciał rozpoznano w 7%, zaburzenia fagocytozy w 7% stwierdzanych zaburzeń, a częstotliwość występowania leukopenii, limfopenii oraz izolowanych zaburzeń odporności komórkowej była podobna, zaburzenia te stwierdzono u 2 % chorych.

Ponadto stwierdzono, że grupę dzieci z ZD w wieku poniżej 2 roku życia charakteryzuje brak typowej dla tego wieku ekspansji limfocytów. Wzajemne stosunki poszczególnych subpopulacji limfocytów u dzieci z tej grupy wiekowej naśladują fizjologiczne zmiany związane z dojrzewaniem układu immunologicznego, jednakże ich wartości bezwzględne są niższe niż u zdrowych rówieśników. Obserwowane przez nas zmiany w zakresie subpopulacji limfocytów u dzieci z ZD przed 2 rokiem życia sugerują zaburzenia adaptacyjne dojrzewającego układu immunologicznego.

Część pacjentów z ZD pomimo stwierdzenia obniżonych wartości poszczególnych subpopulacji limfocytów, nie prezentuje objawów klinicznych typowych dla ostrych bądź nawracających schorzeń infekcyjnych. W związku z czym wszystkie dzieci z ZD, niezależnie od obciążonego wywiadu infekcyjnego, powinny być traktowane jak potencjalne dziecko z zaburzeniami odporności. Proszą konsekwencją powyższego wniosku jest zalecenie objęcia systemem profilaktyki zakażeń wszystkich dzieci z ZD.

Schorzenia infekcyjne dróg oddechowych u dzieci z ZD mają podłoże wieloczynnikowe stąd koniecznym jest objęcie tej grupy dzieci szczególną opieką wielospecjalistyczną (laryngologa, gastroenterologa, alergologa, kardiologa), niezależnie od występowania zaburzeń odporności.

W oparciu o retrospektywne dane uzyskane z wywiadu stwierdzono, że diagnostykę ultrasonograficzną pogrnicza żołądkowo-przełykowego przeprowadzono u 21/57 dzieci obciążonych objawami klinicznymi, sugerującymi istnienie tej patologii. Natomiast rozpoznanie GER postawiono w 9 przypadkach. W

obrazie klinicznym u dzieci z ZD i rozpoznany GER dominowały nawracające infekcje dróg oddechowych. Pomimo tej obserwacji analiza statystyczna materiału badanego nie potwierdziła istnienia zależności pomiędzy występowaniem GER a zwiększoną częstością infekcji w badanej grupie. Ten fakt należy tłumaczyć małą liczebnością grupy pacjentów, u których wykonano badanie w kierunku GER i postawiono takie rozpoznanie, co stanowi argument na rzecz uzupełnienia badań diagnostycznych w badanej grupie chorych.

W naszej pracy zapalenie ucha środkowego w wywiadzie odnotowano tylko u 28% badanych dzieci, w porównaniu do 50-70% podawanych w piśmiennictwie. Fakt ten może wynikać z często niemego przebiegu kliniczny ZUŚ, co prowadzi do niedostatecznego rozpoznawania tego schorzenia. Jeżeli uznamy, iż faktycznie pozostałych 48 pacjentów nigdy nie przebyło ZUŚ, to zaskoczeniem jest fakt, iż tylko u 15 z nich wykonano profilaktyczne badanie ABR.

Przedstawione obserwacje dają obraz niedostatecznej opieki otolaryngologicznej oraz gastroenterologicznej nad tą grupą pacjentów, a wobec dzieci z obciążonym wywiadem infekcyjnym nie prowadzi się wielokierunkowego postępowania zapobiegającego nawracającym infekcjom. Fakt ten dotyczy nie tylko opieki specjalistycznej, ale również podstawowej profilaktyki zakażeń, jakimi są szczepienia. I tak z poczynionych przez nas obserwacji wynika, że tylko u ¼ grupy dzieci z obciążonym wywiadem infekcyjnym zastosowano profilaktykę zakażeń, przy czym w postępowaniu tym praktycznie nie uwzględniono ochrony przed inwazyjną chorobą pneumokokową. W ramach postępowania zapobiegającego infekcjom, zarówno tym o etiologii wirusowej, jaki i bakteryjnej proponujemy by wszystkie dzieci z ZD powinny otrzymać cykl szczepień przeciwko najpowszechniejszym patogenom bakteryjnym, jakimi są *Haemophilus influenzae* typ b oraz *Streptococcus pneumoniae*. Natomiast corocznie dzieci te powinny być szczepione zabitą szczepionką przeciw grypie. Decyzja o szczepieniu dzieci z ZD przeciwko *Neisseria meningitidis* powinna być podejmowana indywidualnie dla każdego pacjenta.

Ze względu na specyfikę obrazu klinicznego infekcji u dzieci z ZD, wymagają one wzmożonej czujności ze strony lekarzy pierwszego kontaktu, niezależnie od występowania zaburzeń odporności. Istotą opieki nad tą grupą dzieci powinno być intensywne leczenie zakażeń, nawet jeżeli wymaga to hospitalizacji

dziecka w celu pozajelitowej antybiotykoterapii. Zasady wyboru terapii farmakologicznej nie różnią się niczym od przyjętych w leczeniu dzieci nie obciążonych zaburzeniami odporności.

Przeprowadzone przez nas badania umożliwiły realizację postawionego celu, jednakże określenie skuteczności zaproponowanego przez nas postępowania profilaktycznego u pacjentów z ZD, u których postawiono rozpoznanie zaburzeń odporności umożliwi jedynie wieloletnia obserwacja badanych przez nas chorych. Można więc przypuszczać, że część wniosków wpływających z przeprowadzonych badań będzie można wysunąć po upływie kilku lat.

IX. Piśmiennictwo

0. Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP):
Preventing pneumococcal disease among infants and young children. */MMWR, 2000, 49 (RR-9): 1-22/*
0. Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP):
General recommendations on immunization. */MMWR, 2006, 55 (RR-15): 24-29/*
0. American Academy of Pediatrics (AAP), Committee on Genetics:
Health supervision for children with Down syndrome. */Pediatrics, 2001, 107 (2): 442-449/*
0. American Academy of Pediatrics (AAP), Committee on Infectious Diseases and Committee on Fetus and Newborn:
Revised Indications for the use of Palivizumab and respiratory syncytial virus immune globulin intravenous for the prevention of respiratory syncytial virus infections. */Pediatrics, 2003, 112 (6): 1442-1446/*
0. Anneren G, Magnusson CGM, Nordvall SL:
Increase in serum concentrations of IgG2 and IgG4 by selenium supplementation in children with Down's syndrome. */Arch Dis Child, 1990, 65:1353-55/*
0. Anneren G, Magnusson CGM, Lilja G, Nordvall SL:
Abnormal serum IgG subclass pattern in children with Down's syndrome.; */Arch Dis Child, 1992, 67: 628-631/*
0. Awasthi A, Das R, Varma N, Ahluwalia J, Gupta A, Marwaha RK, Garewal G,;
Hematological disorders in Down syndrome: ten-year experience at a tertiary center in North India. */Pediatr Hem Oncol, 2005, 2: 507-512/*
0. Barg E, Chącka D, Komar A:
Zaburzenia endokrynologiczne u dzieci z zespołem Downa. */Pediater Pol, 2006, 81 (11): 844-849/*
0. Barrena MJ, Echaniz P, Garcia-Serrano C, Zubillaga P, Cuadrado E:
Differential expression of lymphocyte function-associated antigen (LFA-1) on peripheral blood leucocytes from individuals with Down's syndrome. */Clin Exp Immunol. 1992, 88: 41-44/*
0. Barrena MJ, Echaniz P, Garcia-Serrano C, Cuadrado E:
Imbalance of the CD4+ subpopulations expressing CD45RA and CD29 antigens in the peripheral blood of adults and children with Down syndrome. */Scand J Immunol, 1993, 38:323-326/*
0. Bartelik S:
Odporność komórkowa i humoralna u dzieci z zespołem Downa. */Wiad Lek, 1992, XLV, 17-18/*
0. Bergholdt R, Nerup J, Pociot F:
Fine mapping of a region on chromosome 21q21.11-q22.3 showing linkage to type 1 diabetes. */J Med Genet, 2005, 42: 17-25/*
0. Bergholdt R, Eising S, Nerup J, Pociot F:

- Increased prevalence of Down's syndrome in individuals with type 1 diabetes in Denmark: a nationwide population-based study. */Diabetologia, 2006, 49: 1179-1182/*
0. Berkov R, Fletcher AJ:
MSD Manual – podręcznik diagnostyki i terapii. */Urban & Partner, Wrocław, 1995, 2685-2688/*
 0. Bermejo JF, Carbone J, Rodriguez JJ, Macias R, Rodriguez M, Gil J, Marin MA, Torres F, Fernandez-Cruz E:
Macroamylasaemia, IgA hypergammaglobulinaemia and autoimmunity in a patient with Down's syndrome and coeliac disease. */Scand J Gastroenterol, 2003, 4: 445-447/*
 0. Bernatowska E, Skopczyńska H, Pietrucha B, Migdał M, Kruk M:
Realizacja szczepień oraz niepożądane odczyny poszczepienne u dzieci hospitalizowanych w Klinice Immunologii Instytutu Centrum Zdrowia Dziecka w latach 1980-1996. */Ped Pol., 1997, LXXII, 7:591-97/*
 0. Bernatowska E:
Diagnostyka i leczenia pierwotnych niedoborów odporności w Klinice Immunologii Instytutu „Pomnika-Centrum Zdrowia Dziecka” w latach 1980-1998. */Medipress Ped, 1999, 5 (2):3-8/*
 0. Bertotto A, Arcangeli C, Crupi S, Marinelli I, Gerli R, Vaccaro R:
T cell response to anti-CD3 antibody in Down's syndrome. */Arch Dis Child, 1987,62: 1148-51/*
 0. Bertotto A, Gerli R, Spinozzi F, Muscat C, Fabietti M, Crupi S, Castelluci G, De Benedictis FM, De Giorgi G, Britta R, Vagliasindi C, Forenza N, Vaccaro R:
CD26 Surface Antigen Expression on Peripheral Blood T Lymphocytes from Children with Down's Syndrome (Trisomy 21). */Scand J Immunol. 1994, 39:633-36/*
 0. Black S, Shinefield H, Fireman B, Lewis E, Ray P, Hansen JR, Elvin L, Ensor KM, Hackell J, Siber G, Malinoski F, Madore D, Chang I, Kohberger R, Watson W, Austrian R, Edwards K:
Skuteczność, bezpieczeństwo i immunogenność 7-walentnej, skoniugowanej szczepionki przeciwko pneumokokom u dzieci. */Pediatr Inf Disease J, 2000, 19: 187-95/*
 0. Bonilla FA, Oettgen HC:
Normal ranges for lymphocyte subsets in children. */J Pediatr, 1997,130: 347-9/*
 0. Burgio GR, Lanzavecchia A, Maccario R, Vitiello A, Plebani A, Ugazio AG:
Immunodeficiency in Down's syndrome: T-lymphocyte subset imbalance in trisomic children. */Clin Exp Immunol, 1978, 33:298-301/*
 0. Castro M, Crino A, Papadatou B, Purpura M, Giannotti A, Ferretti F, Colistro F, Mottola L, Digilio MC, Lucidi V, Borrelli P:
Down's syndrome and coeliac disease: the prevalence of high IgA-antigliadin antibodies and HLA-DR and DQ antigens in trisomy 21. */ J Gastroenterol Nutr, 1993, 16: 265-268/*
 0. Chang AB, Glomb WB:

Diagnostyka kaszlu przewlekłego u dzieci – cz. II. / *Med. Prakt*, 2006,5: 35-52/

0. Van Cleve SN, Cohen WI:
Part I: clinical practice guidelines for children with Down's syndrome from birth to 12 years. / *J Pediatr Health Care*, 2006, 20 (1):47-54/
0. Van Cleve SN, Cannon Sh, Cohen WI:
Part II: clinical practice guidelines for adolescents and young adults with Down's syndrome: 12 to 21 years. / *J Pediatr Health Care*, 2006, 20 (3):198-205/
0. Comans-Bitter WM, de Groot R, van den Beemd R, Neijens HJ, Hop WCJ, Groeneveld K, Hooijkaas H, van Dongen JJM:
Immunophenotyping of blood lymphocytes in childhood. / *J Pediatr*, 1997, 130 (3): 388-393/
0. Cossarizza A, Ortolani C, Forti E, Montagnani G, Paganelli R, Zannotti M, Marini M, Monti D, Franceschi C:
Age-related expansion of functionally inefficient cells with markers of Natural Killer activity in Down's syndrome. / *Blood*, 1991, 77(6):1263-1270/
0. Costello Ch, Webber A:
White cell function in Down's syndrome. / *Clin Genet*, 1976, 9: 603-605/
0. Cuadrado E, Barrena MJ:
Immune dysfunction in Down's syndrome: primary immune deficiency or early senescence of the immune system? / *Clin Immunol Immunopathol*, 1996, 78 (3): 209-214/
0. Dahlqvist A, Rask E, Rosenqvist CJ, Sahlin C, Franklin KA:
Sleep apnea and Down's syndrome. / *Acta Otolaryngolog*, 2003, 123: 1094-1097/
0. Davies EG:
Niedobory odporności u dzieci. / *Med Prakt*, 2006,6: 62-78/
0. Day S, Strauss D, Shavelle R, Reynolds R:
Mortality and causes of death in persons with Down syndrome in California. / *Dev Med Child Neurol*, 2005, 47(3): 171-176/
0. Dieckmann KP, Rube Ch, Henke RP:
Association of Down's syndrome and testicular cancer. / *J Urol*, 1997, 157: 1701-1704/
0. Dizon JG, Goldberg BJ, Kaplan MS:
How to evaluate suspected immunodeficiency. / *Pediatr Ann*, 1998, 27: 743-750/
0. Douglas SD, Stokes J:
Down syndrome: immunologic and epidemiologic associations – enigmas remain. / *J Pediatr*, 2005, 147: 723-5/
0. Erkeller-Yuksel FM, Deneys V, Yuksel B, Hannet I, Hulstaert F, Hamilton C, Mackinnon H, Turner Stokes L, Munhyeshuli V, Vanlangendonck F, De Bruyere M, Bach A, Lydyard PM:
Age-related changes in human blood lymphocyte subpopulations. / *JPed*, 1992, 120 (2): 216-221/
0. Fabris N, Amadio L, Licastro F, Mocchegiani E, Zannotti M, Franceschi C:

- Thymic hormone deficiency in normal ageing and Down's syndrome: is there a primary failure of the thymus? */Lancet, 1984, 5: 983-86/*
0. Ferreira CT, Leite JC, Taniguchi A, Vieira SM, Pereira-Lima J, de Silveira TR:
Immunogenicity and safety of an inactivated hepatitis A vaccine in children with Down's syndrome. */J Pediatr Gastr Nutr, 2004, 39: 337-340/*
 0. Field D, Garland M, Williams K:
Correlates of specific childhood feeding problems. */ J Paediatr Child Health, 2003, 39:299-304/*
 0. Finocchi A, Angelini F, Chini L, Di Cesare S, Cancrini C, Rossi P, Moschese V:
Evaluation of the relevance of humoral immunodeficiencies in a pediatric population affected by recurrent infections. */Pediatr Allergy Immunol, 2002, 13: 443-447/*
 0. Formigari R, Di Donato RM, Gargiulo G, Di Carlo D, Feltri C, Picchio FM, Marino B:
Better surgical prognosis for patients with complete atrioventricular septal defect and Down's syndrome. */ Ann Thorac Surg, 2004, 78: 666-672/*
 0. Franceschi C, Licastro F, Chiricolo M, Bonetti F, Zannotti M, Fabris N, Mocchegiani E, Fantini MP, Paolucci P, Masi M:
Deficiency of autologous mixed lymphocyte reactions and serum thymic factor level in Down's syndrome. */J Immunol, 1981, 126 (6): 2161-2164/*
 0. Frid C, Anneren G, Rasmussen F, Sundelin C, Drott P:
Utilization of medical care among children with Down's syndrome. */J Intellect Dis Res, 2002, 46(4): 310-17/*
 0. Garrison MM, Jeffries H, Christakis DA:
Risk of death for children with Down syndrome and sepsis. */J Pediatr, 2005, 147: 748-52/*
 0. Gerez L, Madar L, Arad G, Sharav T, Reshef A, Ketzinel M, Sayar D, Silberberg C, Kaemfer R:
Aberrant regulation of interleukin 2 but not of IFN γ gene expression in Down's syndrome (trisomy 21). */Clin Immunol Immunopathol, 1991, 58: 251-266/*
 0. Gęsicki T, Gryczyńska D, Powajbo K:
Refluks żołądkowo-przelykowy u dzieci z nawracającymi zapaleniami krtani. */Klinika Pediatryczna, 2005, 13 (1): 78-84/*
 0. Gillespie KM, Dix RJ, Williams AJK, Newton R, Robinson ZF, Bingley PJ, Gale EAM, Shield JPH:
Islet autoimmunity in children with Down's syndrome. */Diabetes, 2006, 55: 3185-3188/*
 0. Girodon F, Favre B, Couillaud G, Carli PM, Parmeland Ch, Maynadie M:
Immunophenotype of a transient myeloproliferative disorder in a newborn with trisomy 21. */Com Clin Cyt. 2000, 42:118-122/*
 0. Goldacre MJ, Wotton CJ, Seagroatt V, Yeates D:

Cancers and immune related diseases associated with Down's syndrome: a record linkage study. */Arch Dis Child, 2004, 89:1014-1017/*

0. Gołąb J, Jakóbisiak M, Lasek M:
Immunologia */Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2002,424-446/*
0. Gomes H, Hornoy P, Liehn JC:
Ultrasonography and gastric emptying in children: validation of a sonographic method and determination of physiological and pathological patterns. */Pediatr Radiol, 2003, 33: 522-529/*
0. Halkiewicz F, Kasner J, Karczewska K, Rusek-Zychma M:
Ultrasound picture of gastroesophageal junction in children with reflux disease. */Med Sci Monit, 2000, 6(1): 96-99/*
0. Hasle H, Haunstrup Clemmensen I, Mikkelsen M:
Risks of leukaemia and solid tumors in individuals with Down's syndrome. */Lancet, 2000, 355:165-69/*
0. Hawkes RA, Boughton CR, Schroeter DR:
The antibody response of institutionalized Down's syndrome patients to seven microbial antigens. */Clin Exp Immunol, 1978, 31: 298-304/*
0. Hermon C, Alberman E, Beral V, Swerdlow AJ:
Mortality and cancer incidence in persons with Down's syndrome, their parents and siblings. */Ann Hum Genet, 2001, 65(Pt2): 167-76/*
0. De Hingh YCM, van der Vossen PW, Gemen EFA, Mulder AB, Hop WCJ, Brus F, de Vries E:
Intrinsic abnormalities of lymphocyte counts in children with Down syndrome. */J Pediatr, 2005,147: 744-747/*
0. Hill DA, Gridley G, Cnaingius S, Mellemkjaer L, Linet M, Adami HO, Olsen J, Nyren O, Fraumeni JF:
Mortality and cancer incidence among individuals with Down syndrome. */Arch Intern Med, 2003, 163: 705-711/*
0. Hotaling AJ, Stankiewicz JA:
Otolaryngologia dziecięca */ViaMedica, Gdańsk, 1999; 66-90/*
0. Kaliciński P, Bokszczanin L, Rasiński A, Maichrzyk-Ossowska T, Migdał M:
Zespół odpływu żołądkowo-przelykowego a choroby układu oddechowego u dzieci; etiopatogeneza, rozpoznanie, leczenie. */Ped Pol, 1989, 10-12: 624-629/*
0. Joffe S, Ray T, Escobar GJ, Black SB, Lieu TA:
Cost-effectiveness of respiratory syncytial virus prophylaxis among preterm infants. */Ped, 1999, 104 (3): 419-427/*
0. Kamińska H, Wierzba J, Korpala-Szczyrska M:
Problemy endokrynologiczne u dzieci z zespołem Downa. */Przeg Lek, 2005,62(1): 65-67/*
0. Karttunen R, Nurmi T, Ilonen J, Surcel HM:
Cell-mediated immunodeficiency in Down's syndrome: normal IL-2 production but inverted ratio of T cell subsets. */Clin Exp Immunol, 1984, 55:257-263/*

0. Kava MP, Tullu MS, Muranjan MN, Girishs KM:
Down syndrome: clinical profile from India. */Arch Med Res, 2004 35:31-35/*
0. Kennedy RL, Jones TH, Cuckle HS:
Down's syndrome and thyroid. */Clin Endocrin, 1992, 37: 471-1476/*
0. Khan AJ, Evans HE, Glass L, Shin YH, Almonte D:
Defective neutrophil chemotaxis in patients with Down syndrome. */J Pediatr, 1075, 87 (1): 87-89/*
0. Kojima S, Matsuyama T, sato T, Horibe K, Konishi Sh, Tsuchida M, Hayashi Y, Kigasawa H, Akiyama Y, Okamura J, Nakahata T, Bessho F, Eguchi M, Nakazawa Sh, Ueda R:
Down's syndrome and acute leukemia in children: analysis of phenotype by use of monoclonal antibodies and electron microscopic platelet peroxidase reaction. */Blood, 1990, 76(11): 2348-2353/*
0. Koumanidou C, Vakaki M, Pitsoulakis G, Anagnostara A, Mirilas P:
Sonographic measurement of the abdominal esophagus length in infancy: a diagnostic tool for gastroesophageal reflux. */Am J Radiol, 2004, 183: 801-807/*
0. Kowalczyk D:
Komentarz do publikacji Dizon – Diagnostyka niedoborów odporności. */Med. Prakt Ped, 2000, (4): 106-109/*
0. Larocca LM, Piantelli M, Valitutti S, Castellino F, Maggiano N, Musiani P:
Alterations in thymocyte subpopulations in Down's syndrome (trisomy 21). */Clin Immunol & Immunopathol, 1988, 49:175-186/*
0. Leonard S, Bower C, Petterson B, Leonard H:
Survival of infants born with Down's syndrome: 1980-96. */Ped Perinat Epid, 2000,14:163-171/*
0. Levin S, Schlesinger M, Handzel Z, Hahn T, Altman Y, Czernobilsky B, Boss J:
Thymic deficiency in Down's syndrome. */Pediatrics, 1979,63(1):80-86/*
0. Licastro F, Chiricolo M, Mocchegiani E, Fabris N, Zannoti M, Beltrandi E, Mancini R, Parente R, Arena G, Masi M:
Oral zinc supplementation in Down's syndrome subjects decreased infections and normalized some humoral and cellular immune parameters. */J Intellect Disabil Res. 1994, 38:149-62/*
0. Lin SJ, Wang JY, Klickstein LB, Chuang KP, Chen JY, Lee JF, Shieh CC:
Lack of age-associated LFA-1 up-regulation and impaired ICAM-1 binding in lymphocytes from patients with Down syndrome. */Clin Exp Immunol, 2001,126:54-63/*
0. Lockitch G, Singh VK, Puterman ML, Godolphin WJ, Sheps S, Tingle AJ, Wong F, Quigley G:
Age-related changes in humoral and cellmediated immunity in Down syndrome children living at home. */ Ped Res, 1987, 22(5): 536-40/*
0. Lukas A, Cesarz E, Lukas W, Sychłowy A, Śliwa F:
Odporność humoralna i komórkowa u dzieci z zespołem Downa. */Pediater Pol, 1980, 55(1): 33-40/*

0. Maccario R, Ugazio AG, Nespoli L, Alberini C, Montagna D, Porta F, Bonetti F, Burgio GR:
Lymphocyte subpopulations in Down's syndrome: high percentage of circulating HNK-1+, Leu2a+ cells. */Clin Exp Immunol, 1984,57:220-226/*
0. Magnusson CGM, Nordvall SL, Anneren G:
Differential effect of selenium supplementation on immunoglobulin levels in Down's syndrome. */Acta Paediatr, 1997, 86:1385-1386; correspondence section/*
0. Marder E, Dennis J:
Postępowanie medyczne u dzieci z zespołem Downa. */Aktualności Pediatriczne, 1997, T VI, No 3-4: 130-136/*
0. McGrother CW, Marshall B:
Recent trends in incidence, morbidity and survival in Down's syndrome. */J Ment Defic Res, 1990,34:49-57/*
0. Mi-Zu Jiang, Jin-Dan Yu, Jin-Gan Lou, Xue-Lian Zhou, Bi-You Ou:
Simultaneous esophageal reflux and respiratory symptoms. */World J Paediatr, 2006, 2 (2): 113-116/*
0. Murphy M, Epstein LB:
Down syndrome (trisomy 21) thymuses have a decreased proportion of cells expressing high levels of TCR $\alpha\beta$ and CD3. */Clin Immunol Immunopathol, 1990, 55: 453-467/*
0. Murphy M, Epstein LB:
Down syndrome (DS) peripheral blood contains phenotypically mature CD3+TCR $\alpha\beta$ + cells but abnormal proportions of TCR $\alpha\beta$ +, TCR δ + and CD4+CD45RA+ cells: evidence for an inefficient release of mature T cells by the DS thymus. */Clin Immunol Immunopathol, 1992, 62 (2): 245-251/*
0. Murphy M, Insoft RM, Pike-Nobile L, Derbin KS, Epstein LB:
Overexpression of LFA-1 and ICAM-1 in Down syndrome thymus. */J Immunol. 1993, 150 (12): 5696-5703/*
0. Mussa FF, Chai H, Wang X, Yao Q, Lumsden AB, Chen Ch:
Chlamydia pneumoniae and vascular disease: an update. */J Vasc Surg, 2006, 43(6): 1301-1307/*
0. Nair MPN, Schwartz SA:
Association of decreased T-cell-mediated natural cytotoxicity and interferon production in Down's syndrome. */Clin Immunol Immunopathol, 1984, 33: 412-424/*
0. NASPGAH:
Wytoczne dotyczące diagnostyki i leczenia celiakiiu dzieci - cz.II. */Med Prakt Ped, 2005,4:37-57/*
0. Nelson WE, Behrman RE, Kliegman RM, Vaughan VC, Sieniawska M:
Podręcznik pediatrii */Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 1996, 316-319/*
0. Nespoli L, Burgio GR, Ugazio AG, Maccario R:
Immunological features of Down's syndrome: a review. */J Intellect Dis Res, 1993, 37, 543-551/*
0. Niedźwiadek J, Mazur E, Wolski A, Witkowski A, Koziół-Montewka M, Michalak J:

Serological markers of chlamydia pneumoniae infection in patients with cardiovascular disease. */Acta Angiol, 2002, 8(2): 55-64/*

0. Noble RL, Warren RP:
Analysis of blood cell populations, plasma zinc and natural killer cell activity in young children with Down's syndrome. */J Ment Defic Res, 1988,32,193-201/*
0. Nurmi T, Leinonen M, Haiva VM, Tilikainen A, Kouvalainen K:
Antibody response to pneumococcal vaccine in patients with trisomy-21 (Down's syndrome). */Clin Exp Immunol, 1982, 48: 485-490/*
0. Orenstein SR, Orenstein DM:
Gastroesophageal reflux and respiratory disease in children. */J Pediatr, 1988, 112 (6): 847-856/*
0. Park BH, Fikrig SM, Smithwick EM:
Infection and nitroblue-tetrazolium reduction by neutrophils. */Lancet, 1968, Sep, 7: 532-37/*
0. Park E, Alberti J, Mehta P, Dalton A, Sersen E, Schuller-Levis G:
Partial impairment of immune functions in peripheral blood leukocytes from aged men with Down's syndrome. */Clin Immunol, 2000, 95 (1): 62-69/*
0. Philip R, Berger A, McManus N, Warner N, Peacock M, Epstein L:
Abnormalities of the in vitro cellular and humoral responses to tetanus and influenza antigens with concomitant numerical alterations in lymphocyte subsets in Down syndrome (trisomy 21). */J Immunol, 1986, 136 (5): 1661-67/*
0. Pietrzyk J:
Zespół Downa. */Med Prakt Ped, 1999,6: 80-86/*
0. Płoszyńska A, Balcerska A, Wierzba J, Brożek j, Chabior M, Bautenbach-Minkowska J, Zaborowska-Sołtys M, Niedźwiecki M, Celińska W:
Ostra białaczka u dzieci z zespołem Downa – analiza przypadków własnych. */Wiad Lek. 1998, LI, supl. 4: 276-284/*
0. Ribeiro L, Jacob C, Pstorino A, Fomin A, Castro A, Kim Ch:
Evaluation of factors associated with recurrent and/or severe infections in patients with Down's syndrome. */J Pediatr (Rio J) 2003; 79(2):141-48/*
0. Roizen N, Paterson D:
Down's syndrome. */Lancet, 2003, 361:1281-89/*
0. Roizen N:
Complementary and alternative therapies for Down syndrome. */Ment Retard Develop Dis, 2005, 11:149-155/*
0. Roper RJ, Reeves RH:
Understanding the basis for Down syndrome phenotypes. */PloS Genet, 2006, 2 (3):231-236/*
0. Ross J, Spector L, Robison L, Olshan A:
Epidemiology of leukemia in children with Down syndrome. */Ped Blood Cancer, 2005, 44: 8-12/*
0. Samikshan Dutta, Krishnnadas Nadagopadhyay, Kanchan Mukhopadhyay:
Molecular aspects of Down syndrome. */Indian Pediatrics, 2005, 42:339-344/*

0. Scotese I, Gaetaniello L, Matarese G, Lecora M, Racioppi L, Pignata C:
T cell activation deficiency associated with an aberrant pattern of protein tyrosine phosphorylation after CD3 perturbation in Down's syndrome. */Ped Res, 1998, 44(2):252-58/*
0. Segal AW, Trustey SF, Levi AJ:
Re-evaluation of nitroblue- tetrazolium test. */Lancet, 1973, 20: 879-883/*
0. Shield JPH, Wadsworth EJK, Hassold TJ, Judis LA, Jacobs PA:
Is disomic homozygosity at the APECED locus the cause of increased autoimmunity in Down's syndrome? */Arch Dis Child, 1999, 81: 147-150/*
0. Stabile A, Pesaresi MA, Stabile AM, Pastore M, Miceli Sopo S, Ricci R, Celestini E, Segni G:
Immunodeficiency and plasma zinc levels in children with Down's syndrome. A long-term follow-up of oral zinc supplementation. */Clin Immunol Immunopathol, 1991, 58 (2): 207-216/*
0. Stasiak-Barmuta A, Stankiewicz W, Zielnik-Jurkiewicz B:
Diagnostyka niedoborów odporności wieku rozwojowego. */Klin Pediatr, 2005, 13(5): 5084-5089/*
0. Szczylik C, Górnaś P, Carewicz R:
Test redukcji NBT – metodyka i praktyczne zastosowanie */Diagn Lab, 1979, 15 (1): 35-40/*
0. Szydłowski L, Marek-Szydłowska T, Pająk J, Morka J, Stołtny L:
Infekcje jako problem przedoperacyjny u pacjentów z zespołem Fallota skojarzonym z całkowitym kanałem przedsionkowo-komorowym. */Przegl Lek, 2004, 61 (6): 650-652/*
0. Tanaka S, Teraguchi M, Hasui M, Taniuchi S, Ikemoto Y, Kobayashi Y:
CD4+ T-lymphocytopenia in a boy with Down syndrome. Report of a patient and a review of the literature. */Eur J Pediatr, 2004, 163: 122-123/*
0. Taylor GM, Haigh H, Williams A, D'souza SW, Harris R:
Down's syndrome lymphoid cell lines exhibit increased adhesion due to the over-expression of lymphocyte function-associated antigen (LFA-1). */Immunol, 1988, 64: 451-156/*
0. Topór-Mądry R, Gilis-Januszewska A, Kurkiewicz J, Pająk A:
Szacowanie potrzeb zdrowotnych. */Uniwersyteckie Wydawnictwo Medyczne, „Vesalius”, Kraków, 2002, 98-100/*
0. Van Trotsenburg P, Heymans HSA, Tijssen JGP, de Vijlder JJM, Vulsma T:
Comorbidity, hospitalization and medication use and their influence on mental and motor development of young infants with Down syndrome. */Ped, 2006, 118(4): 1633-1639/*
0. Troisi CL, Heiberg DA, Hollinger FB:
Normal immune response to hepatitis B vaccine in patients with Down's syndrome. */JAMA, 1985, 254 (22): 3196-3199/*
0. Ugazio AG, Lanzavecchia A, Jayakar S, Plebani A, Duse M, Burgio GR:
Immunodeficiency in Down's syndrome: titres of natural antibodies to E.coli and rabbit erythrocytes at different ages. */Acta Pediatr Scand, 1978, 67, 705-708/*

0. Vesa J, Brown Y, Greenfield D, Korenberg JR:
Molecular and cellular characterization of the Down syndrome critical region protein 2. */Bioch Biophys Res Com, 2005, 328: 235-242/*
0. De Vries E, de Groot R, de Bruin-Versteeg S, Comans-Bitter WM, Van Dongen JJM:
Analysing the developing lymphocyte system of neonates and infants.” */Eur J Pediatr, 1999, 158: 611-617/*
0. De Vries E, de Bruin-Versteeg S, Comans-Bitter WM, de Groot R, Hop WCJ, Boerma GJM, Lotgering FK, van Dongen JJM:
Longitudinal survey of lymphocyte subpopulations in the first year of life. */Pediatr Res, 2000, 47(4): 528-537/*
0. De Vries E:
Immunological investigations in children with recurrent respiratory infections. */Paediatr Resp Rev, 2001, 2:32-36/*
0. Yumura-Yagi K, Hara J, Kurahashi H, Nishiura T, Kaneyama Y, Osugi Y, Sakata N, Inoue M, Tawa A, Okada Sh, Kawa-Ha K:
Mixed phenotype of blasts in acute megakaryocytic leukemia and transient abnormal myelopoiesis in Down’s syndrome. */Brit J Hem. 1992,81: 520-525/*
0. Webb DKH:
Optimizing therapy for myeloid disorders of Down syndrome. */Br J Haemat, 2005, 131:3-7/*
0. Zarate N, Mearin F, Gil-Vernet JM, Camarasa F, Malagelada JR:
Achalasia and Down’s syndrome: coincidental association or something else? */Am J Gastroenterol, 1999, 94(6): 1674-1677/*
0. Zarate N, Mearin F, Hidalgo A, Malagelada JR:
Prospective evaluation of esophageal motor dysfunction in Down’s syndrome. */Am J Gastroenterol, 2001,96(6): 1718-1724/*
0. Zeman K:
Zaburzenia odporności u dzieci. */Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 2002, 272-300/*
0. Zeman K, Szałowska D:
Pierwotne niedobory odporności – ważna grupa rzadkich chorób uwarunkowanych genetycznie. */Przegl Pediatr, 2006, 36: 251-257/*
0. Zembala M, Górski A:
Zarys immunologii klinicznej */Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 2001, 59-66/*
0. Zubilaga P, Victoria JC, Arrieta A, Echaniz P, Garcia-Masdevall MD:
Down’s syndrome and celiac disease. */J Gastroenterol Nutr, 1993, 16: 168-171/*

X. Spis załączników

0. Ankieta dotycząca retrospektywnego wywiadu chorobowego.
0. Wartości referencyjne stężeń immunoglobulin dla populacji polskiej
0. Zestawienie median oraz kwartyli (P25-P75) odsetka limfocytów T i B, ich subpopulacji i komórek NK w odpowiednich przedziałach wiekowych.
0. Wartości referencyjne liczby leukocytów w odpowiednich przedziałach wiekowych.
0. Zestawienie median oraz percentyli (P5-P95) bezwzględnej liczby limfocytów T i B, ich subpopulacji i komórek NK w odpowiednich przedziałach wiekowych.
0. Zestawienie median oraz percentyli (P5-P95) odsetka limfocytów T i B, ich subpopulacji i komórek NK w odpowiednich przedziałach wiekowych.
0. Wyniki badań laboratoryjnych w badanych grupach klinicznych.

ZAŁĄCZNIK NR 1. ankieta dotycząca retrospektywnego wywiadu chorobowego.

Nazwisko i imię:		Data urodzenia:			
Adres:		Telefon:			
Wywiad rodzinny					
Przebieg ciąży					
Przebieg porodu					
Infekcje wewnątrzmaciczne			TORCH		
Karmienie piersią					
Kalendarz szczepień					
Powikłania poszczepienne					
Częstość infekcji					
Hospitalizacje					
Antybiotykoterapia					
Immunoterapia					
Zapalenie oskrzeli					
Zapalenie płuc					
Zapalenie zatok					
ZUŚ					
ZUM					
Biegunki infekcyjne					
Alergie					
Robaczyce					
Niedoczynność tarczycy					
Wady rozwojowe					
Operacje korekcyjne					
Ocena rozwoju psycho-motorycznego	unoszą głowę	siada	stoi	chodzi	mówi
Warunki socjalno-bytowe					

ZAŁĄCZNIK NR 2. wartości referencyjne stężeń immunoglobulin dla populacji polskiej
(wg D.Kowalczyk, Zakład Immunologii Klinicznej Coll. Med. UJ, Kraków) [Zeman, 2002].

wiek	IgM mg/dl	IgA mg/dl	IgG mg/dl	wiek	IgM mg/dl	IgA mg/dl	IgG mg/dl
noworodki	0-25	0-6	800-1800	3 lata	58-288	32-189	600-1675
1 miesiąc	19-95	3-17	450-100	4 lata	59-288	37-231	625-1650
2 miesiące	25-128	6-44	313-825	5 lat	60-288	47-263	663-1750
3 miesiące	29-152	11-57	263-688	6 lat	60-288	53-292	688-1875
4 miesiące	31-168	10-96	244-663	7 lat	60-288	56-315	713-1900
5 miesięcy	34-176	13-71	253-713	8 lat	60-288	61-336	725-1938
6 miesięcy	36-184	14-76	281-763	9 lat	60-290	67-357	738-2000
7 miesięcy	38-192	14-84	306-813	10 lat	60-291	71-378	750-2000
8 miesięcy	39-200	15-88	325-875	11 lat	60-296	76-399	750-2000
9 miesięcy	40-208	16-97	363-950	12 lat	60-299	78-420	750-2000
10 miesięcy	41-216	17-101	388-1025	13 lat	61-304	80-441	750-2000
11 miesięcy	43-224	18-109	425-1125				
12 miesięcy	44-224	21-126	450-1188	> 13 lat M	40-240	70-370	690-1400
24 miesiące	54-264	26-147	538-1400	> 13 lat K	34-210	88-410	690-1400

ZAŁĄCZNIK NR 3. zestawienie median oraz kwartyli (P25-P75) odsetka limfocytów T i B,
ich subpopulacji i komórek NK w odpowiednich przedziałach wiekowych.
Normy dla populacji polskiej [Zeman, 2002].

Wiek w latach	CD 3 %	CD 19 %	CD 4 %	CD 8 %	CD 4:CD 8	NK %
noworodki	74 (70-81)	16 (12-19)	54 (52-59)	23,5 (20-28)	2,3 (1,9-2,8)	8,5 (7-11)
0-1	65 (56-68)	26 (21-31)	41 (38-45)	21 (19-24)	1,8 (1,6-2,3)	9 (6-12)
1-3	64 (62-69)	22 (20-25)	40 (37-44)	27 (24-30)	1,5 (1,3-1,8)	11 (8-15)
4-7	67,5 (64-69,5)	17 (13,5-21)	39,5 (35-43,5)	28,5 (24-34)	1,4 (1,1-1,4)	13 (10-17)
8-12	69 (65-74)	13 (10-17)	39 (35-43)	33 (31-36)	1,15 (1,0-1,4)	13 (10-18)
13-45	69 (65-75)	13,1 (10-16)	44 (41-49)	34 (30-37)	1,3 (1,2-1,5)	17,5 (13-21)

ZAŁĄCZNIK NR 4. wartości referencyjne liczby leukocytów w odpowiednich przedziałach wiekowych [Nelson, 1996].

Wiek	x 10 ⁹ komórek/ L
1 miesiąc	5,0-19,5
1-3 lata	6,0-17,5
4-7 lat	5,5-15,5
8-13 lat	4,5-13,5
powyżej 13 lat	4,5-11,0

ZAŁĄCZNIK NR 5. zestawienie median oraz percentyli (P5-P95) bezwzględnej liczby limfocytów T i B, ich subpopulacji i komórek NK w odpowiednich przedziałach wiekowych [Comans-Bitter, 1997].

subpopulacje limfocytów x 10 ⁹ / L	grupy wiekowe						
	5-9 miesiące	9-15 miesięcy	15-24 miesiące	2-5 lat	5-10 lat	10-16 lat	dorośli
CD 19	1,3 (0,7-2,5)	1,4 (0,6-2,7)	1,3 (0,6-3,1)	0,8 (0,2-2,1)	0,5 (0,2-1,6)	0,3 (0,2-0,6)	0,2 (0,1-0,5)
CD 3	3,8 (2,4-6,9)	3,4 (1,6-6,7)	3,5 (1,4-8,0)	2,3 (0,9-4,5)	1,9 (0,7-4,2)	1,5 (0,8-3,5)	1,2 (0,7-2,1)
CD 4	2,8 (1,4-5,1)	2,3 (1,0-4,6)	2,2 ,5)	1,3 (0,5-2,4)	1,0 (0,3-2,0)	0,8 (0,4-2,1)	0,7 (0,3-1,4)
CD 8	1,1 (0,6-2,2)	1,1 (0,4-2,1)	1,2 (0,4-2,3)	0,8 (0,3-1,6)	0,8 (0,3-1,8)	0,4 (0,2-1,2)	0,4 (0,32-0,9)
NK	0,3 (0,1-1,0)	0,4 (0,2-1,2)	0,4 (0,1-1,4)	0,4 (0,1-1,0)	0,3 (0,09-0,9)	0,3 (0,07-1,2)	0,3 (0,09-0,6)

ZAŁĄCZNIK NR 6. zestawienie median oraz percentyli (P5-P95) odsetka limfocytów T i B, ich subpopulacji i komórek NK w odpowiednich przedziałach wiekowych [Comans-Bitter, 1997].

subpopulacje limfocytów %	grupy wiekowe						
	5-9 miesiące	9-15 miesięcy	15-24 miesiące	2-5 lat	5-10 lat	10-16 lat	dorośli
CD 19	21 (13-35)	25 (15-39)	28 (17-41)	24 (14-44)	18 (10-31)	16 (8-24)	12 (6-19)
CD 3	66 (50-77)	65 (54-76)	64 (39-73)	64 (43-76)	69 (55-78)	67 (52-78)	72 (55-83)
CD 4	45 (33-58)	44 (31-54)	41 (25-50)	37 (23-48)	35 (27-53)	39 (25-48)	44 (28-57)
CD 8	18 (13-26)	18 (12-28)	20 (11-32)	24 (14-33)	28 (19-340)	23 (9-35)	24 (10-39)
NK	5 (2-13)	7 (3-17)	8 (3-16)	10 (4-23)	12 (4-26)	15 (6-27)	13 (7-31)
CD4/CD8	2,5 (1,6-3,8)	2,4 (1,3-3,9)	1,9 (0,9-3,7)	1,6 (0,9-2,9)	1,2 (0,9-2,6)	1,7 (0,9-3,4)	1,9 (1,0-3,6)

ZAŁĄCZNIK NUMER 7. wyniki badań laboratoryjnych w badanych grupach klinicznych.

Lp	grupa	wiek	pleć	leukocyty G/l	granulocyty G/l	IgA	IgG	IgM	limfocyty G/l	T4 %	T4 G/l	T8 %	T8 G/l	T4/T8	CD3 %	CD3 G/l	B %	B G/l	NK %	NK G/l	NBT spon	NBT stym
AA	A	11	K	3,71	1,89	3,44	11,6	0,65	1,32	40	0,53	28	0,37	1,4	69	0,91	14	0,18	11	0,15	1	15
AM	A	7,5	K	7,92	4,11	2,01	12,5	0,89	2,66	46	1,22	21	0,56	2,2	70	1,86	12	0,32	16	0,43		
BK	B	3	M	8,52	4,58	0,93	9,04	0,81	2,5	32	0,8	30	0,75	1,1	70	1,75	19	0,5	5	0,13	9	82
BD	B	9	M	9,64	6,54	3,03	14,3	0,75	2,7	32	0,86	29	0,78	1,1	64	1,73	7	0,19	26	0,7	12	22
BZ	A	1,5	K	6,12	2,65	0,36	9,42	0,61	3,49	50	1,75	26	0,91	1,9	81	2,83	10	0,35	8	0,28	2	4
BJ	A	16	M	7,22	4,99	2,81	11,5	0,46	1,46	41	0,6	32	0,47	1,3	76	1,11	11	0,16	11	0,16	10	96
BeD	B	10	K	4,24	2,97	1,85	13	0,45	0,62	18	0,11	19	0,12	0,9	45	0,28	21	0,13	29	0,18	51	94
BB	A	3	K	6,61	1,55	0,45	9,31	1,2	4,2	23	0,97	44	1,85	0,5	68	2,86	5	0,21	26	1,09		
BiJ	A	1	M	9,98	1,74	0,32	4,6	0,34	6,66	46	3,06	14	0,93	3,3	71	4,72	14	0,93	26	1,73	13	76
BM	C	2	M	5,9	3,5	0,51	7,33	0,34	1,8	49	0,88	25	0,45	1,96	74	1,33	18	0,32	6	0,11	13	91
BS	A	4	M	8,9	3,92	0,26	11,8	0,71	4,4	38	1,67	36	1,58	1,1	78	3,43	5	0,22	13	0,57	3	75
BIM	B	4	M	6,21	4,14	0,92	9,08	0,92	1,51	32	0,48	36	0,54	0,9	78	1,18	8	0,12	9	0,14	0	11
BA	B	2,5	M	7,34	2,73	1,59	6,44	0,72	3,05	33	1,01	29	0,88	1,1	66	2,01	9	0,27	24	0,73	29	87
BoB	B	22	M	4,56	2,51	3,52	15,1	0,63	2,76	21	0,58	32	0,88	0,7	62	1,71	3	0,08	35	0,97	13	44
BoJ	B	15	K	4,89	2,82	1,58	14,3	1,4	1,14	50	0,57	25	0,29	2	77	0,88	10	0,11	9	0,1	25	53
BG	B	6	M	4,98	3,19	1,58	10,6	0,46	1,04	14	0,15	28	0,29	0,5	57	0,59	6	0,06	32	0,33	7	32
BI	B	5	K	10,4	6,74	1,33	13,2	1,02	3,02	26	0,79	46	1,39	0,6	81	2,45	11	0,33	6	0,18	6	63
CO	C	17	K	5,27	2,94	2,58	16,6	2,17	1,87	25	0,47	30	0,56	0,8	66	1,23	7	0,13	25	0,47	0	18
CA	A	2	M	4,93	2,5	0,48	6,69	0,32	1,78	31	0,55	26	0,46	1,19	62	1,1	24	0,43	13	0,23	29	85
DW	C	0,5	M	6,8	2,41	0,39	3,87	0,29	3,22	54	1,74	16	0,52	3,4	69	2,22	22	0,71	7	0,23	7	25
DD	A	4,5	K	5,67	2,65	1,05	11,7	0,65	2,4	46	1,1	27	0,65	1,7	75	1,8	14	0,34	9	0,22	20	79
DC	A	4,5	K	3,87	1,51	0,83	8,03	0,78	1,82	41	0,75	35	0,64	1,2	75	1,37	17	0,31	6	0,11	18	69
DM	A	3	M	5,27	2,49	1,31	12,4	0,85	3,13	37	1,16	31	0,97	1,2	73	2,28	7	0,22	18	0,56	22	30
DA	A	15	M	4,01	1,69	1,75	15,1	0,97	1,7	31	0,53	28	0,48	1,1	80	1,36	8	0,14	6	0,1	15	44
FZ	B	7	K	4,49	2,02	1,26	10,7	0,48	1,82	50	0,91	22	0,4	2,3	70	1,27	11	0,2	18	0,33	8	78
GM	B	6	K	4,5	1,86	1,17	8,84	0,55	2,18	31	0,68	26	0,57	1,2	68	1,48	12	0,26	13	0,28	1	14
HM	C	4	M			1,16	10	0,47														
JD	B	7	K	9,28	4,41	1,2	11	0,65	3,62	12	0,45	39	1,41	0,32	79	2,86	8	0,29	25	0,91	22	79
KJ	A	5	K	5,99	3,15				1,9	37	0,7	23	0,44	1,6	61	1,16	6	0,11	29	0,55	2	58
KK	A	3,5	K	9,26	6,56	0,4	5,46	0,43	1,58	27	0,43	23	0,36	1,2	56	0,88	17	0,27	14	0,22	19	79
KM	C	2	M	10,3	6,93	1,13	9,43	0,35	2,46	32	0,79	37	0,91	0,86	76	1,87	13	0,32	10	0,25	1	2
KB	A	13	M	8,76	8,76	1,17	9,27	0,77	1,5	32	0,48	30	0,45	1,1	67	1,01	15	0,23	11	0,17		
KW	B	8	K	4,34	2,18	1,78	12,9	0,57	1,73	42	0,43	35	0,61	1,2	78	1,35	6	0,1	15	0,26	2	10
KA	A	11	M	6,17	2,01	1,77	10,9	0,52	2,13	36	0,77	29	0,62	1,2	67	1,43	14	0,3	17	0,36	3	87
KK	A	13	K	6,78	4,11	2,93	11,6	0,96	1,83	31	0,57	30	0,55	1	74	1,35	10	0,18	14	0,26	8	61

Ocena typu niedomogi odpornościowej u dzieci z zespołem Downa oraz próba
ustalenia standardów postępowania zapobiegającego infekcjom w tej grupie

KwK	B	3	K	6,76	3,94	0,36	6,5	0,26	1,74	22	0,38	16	0,27	1,38	41	0,71	26	0,45	32	0,56	15	90
ŁK	A	5	M	5,8	1,49	2,24	16,2	1,24	3,8	16	0,61	58	2,2	0,3	78	2,96	3	0,11	17	0,65		
MJ	A	5	K	6,71	2,92	1,47	11,1	1,2	2,92	30	0,88	38	1,11	0,8	73	2,13	11	0,32	12	0,35	2	10
MK	A	1	K	7,55	3,01	0,32	7,82	0,64	3,73	40	1,49	27	1,01	1,5	72	2,69	16	0,6	8	0,3	8	51
MA	A	8	M	10,5	8,08	2,4	11,6	0,63	2,14	40	0,86	29	0,62	1,4	77	1,65	6	0,13	17	0,36	13	67
MJ	B	6,5	M	12,1	6,42	1,63	14,5	0,56	3,64	31	1,13	38	1,38	0,8	75	2,73	7	0,25	14	0,51	8	33
NK	B	1	K	4,37	1,41				2	35	0,7	18	0,36	1,9	56	1,12	33	0,66	10	0,2	18	25
OM	A	2	K	7,23	3,15				3,68	59	2,17	19	0,7	3,1	85	3,13	6	0,22	8	0,29	37	90
PE	A	4	K	6,74	3,88	1,68	10,3	0,76	2,17	24	0,52	41	0,89	0,6	76	1,65	9	0,2	13	0,28	2	95
PK	B	0,5	M	8,17	2,36	0,09	0,19	0,25														
PA	A	6,5	M	3,5	1,4	0,94	7,54	0,53	1,69	34	0,57	27	0,46	1,3	73	1,23	16	0,27	8	0,14		
PO	A	1,5	M	6,88	2,05	0,32	8,16	1,02	5,11	30	1,53	27	1,38	1,1	72	3,68	10	0,51	14	0,72	2	2
RS	B	4	M	6,76	3,26				2,4	31	0,74	36	0,86	0,9	73	1,75	10	0,24	15	0,36	24	95
RM	A	17	M	8,65	6,23	4,01	12,9	0,4	1,71	38	0,65	33	0,56	1,2	77	1,32	5	0,09	13	0,22	2	45
RD	A	8	M	4,02	2,61	1,95	9,1	0,4	0,95	20	0,19	25	0,24	0,8	52	0,49	13	0,12	28	0,27		
SH	C	4	M	6,25	5,28	0,84	8,42	0,63	0,84	24	0,2	16	0,13	1,5	47	0,39	33	0,28	17	0,14	2	30
SK	A	4	M	9,64	6,67	1,42	8,84	0,75	2,1	29	0,61	40	0,84	0,7	74	1,55	12	0,25	8	0,17	18	39
SŁ	B	2,5	M	7,21	4,31				2,2	26	0,57	32	0,7	0,8	60	1,32	21	0,46	15	0,33	10	76
SzA	B	2	K	5,1	2,61	0,71	5,85	1,11	1,72	48	0,83	14	0,24	3,4	65	1,12	23	0,4	11	0,19	13	55
SzW	A	6	K	5,37	2,05	1,3	9,92	0,91	2,6	43	1,12	29	0,75	1,5	75	1,95	7	0,18	12	0,31	2	18
TG	B	0,5	M	8,1	2,25	0,57	3,63	0,34	4,11	50	2,06	22	0,9	2,3	72	2,96	18	0,74	8	0,33	63	32
TK	B	8	K	3,59	1,21	1,68	11,4	0,67	2,16	43	0,93	25	0,54	1,7	77	1,66	5	0,12	16	0,35	5	54
TO	C	2	M	4,85	2,13	1,03	6,68	0,63	2,1	36	0,76	25	0,53	1,4	67	1,41	21	0,44	9	0,19	3	17
WP	B	6	M	4,73	2,16	2,33	13,4	0,81	2,37	59	1,4	20	0,47	2,9	86	2,04	4	0,09	7	0,17	2	32
WF	B	4	M	6,75	2,11	0,84	13,3	0,64	3,66	33	1,21	28	1,02	1,2	65	2,38	19	0,7	13	0,48	7	78
WJ	A	2,5	M	3,31	1,16				1,4	41	0,57	22	0,31	1,9	66	0,92	17	0,27	14	0,2	7	83
WŁ	B	10	M	6,66	2,56	2,15	11,8	0,45	3,5	38	1,33	44	1,54	0,9	85	2,98	1	0,04	12	0,42	14	71
ZK	C	5	M	7,38	3,13	0,87	11,5	0,49	3,36	31	1,04	54	1,81	0,6	85	2,86	5	0,17	8	0,27	1	12
ZD	B	2	M	3,25	1,76	0,42	4,54	0,4	0,88	46	0,4	16	0,14	2,87	67	0,59	11	0,1	15	0,13	5	83
ZW	C	2	K	2,79	0,83	1,49	9,13	0,76	1,86	40	0,74	33	0,61	1,2	75	1,4	17	0,32	6	0,11	39	51
ZM	A	1	M	5,94	1,27	0,51	5,82	0,24	3,8	35	1,33	23	0,87	1,5	62	2,36	16	0,61	24	0,91	4	25
ŽK	C	5	M	4,16	1,81	2,33	11,7	0,53	2,03	25	0,51	32	0,65	0,8	68	1,38	6	0,12	23	0,47	2	12

