Repopulace B lymfocytů po anti-CD20 léčbě

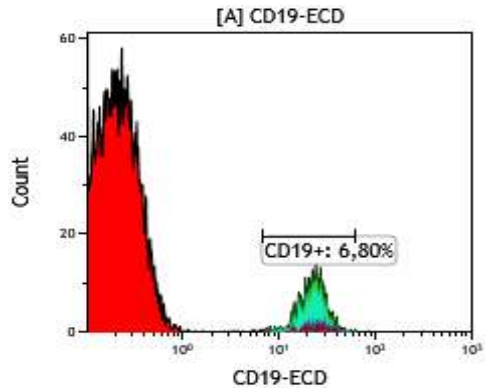
Helena Posová a Helena Kopřivová

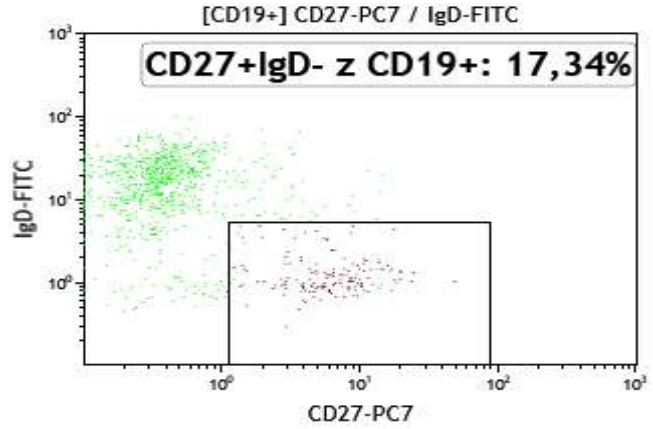
Laboratoř KIA ÚLBLD 1.LF UK a VFN Praha

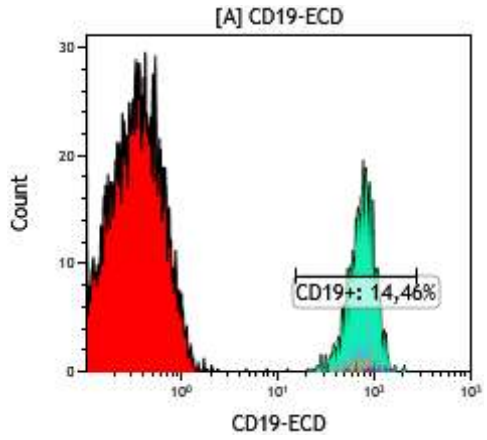
Běžná variabilní imunodeficience – CVID

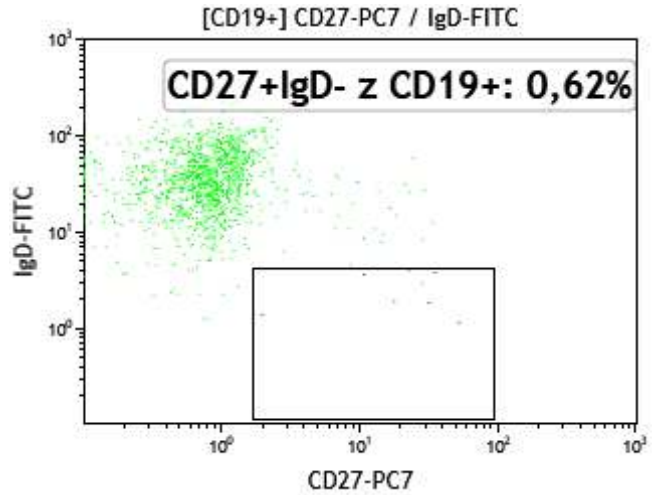
hladina imunoglobulinů, postvakcinační odpověď, genetika

dg. CD19+CD27+IgD- méně než 70% normy (8,3-27,8%)
cca 5,8%







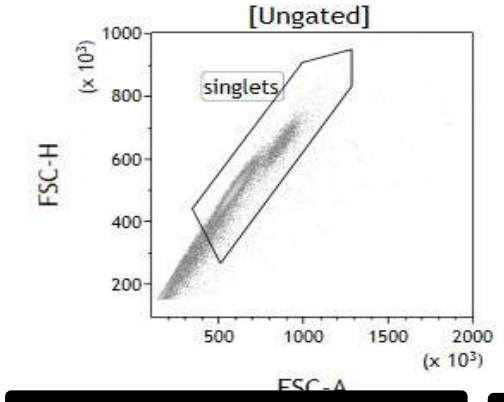


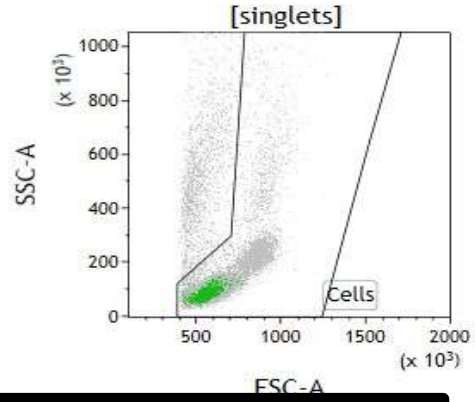
DURAClone IM B Cell

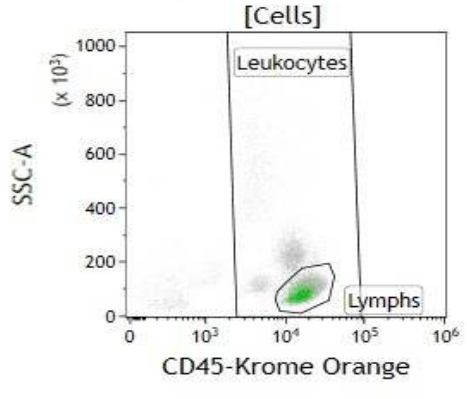
DETAILS OF REAGENT QUALITY CONTROL TESTING	Component	Clone [HLDA workshop reference]
	IgD-FITC	IA6-2
	CD21-PE	BL13 [III]
	CD19-ECD	J3-119 [IV]
	CD27-PC7	1A4CD27 [V]
	CD24-APC	ALB9 [VI]
	CD38-APC-A750	LS198-4-3 [V]
	IgM-PB	SA-DA4
	CD45-KRO	J33 [III]

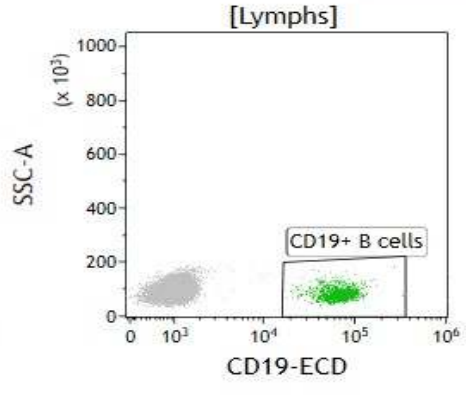


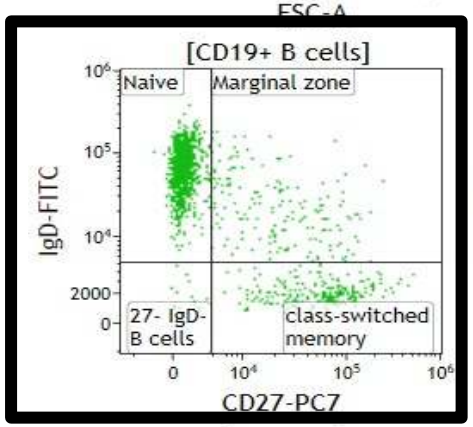


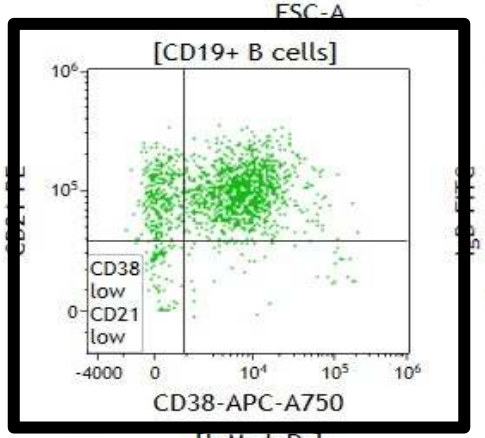


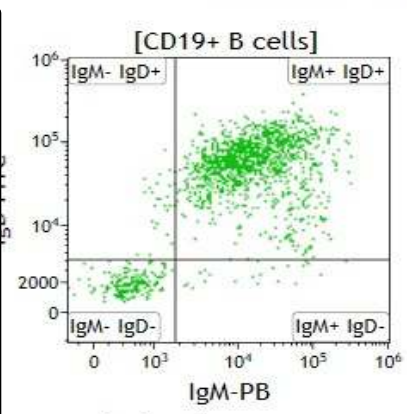


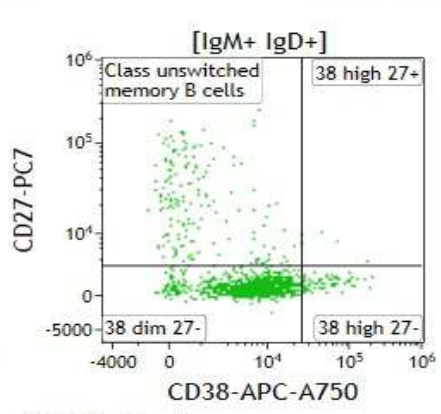


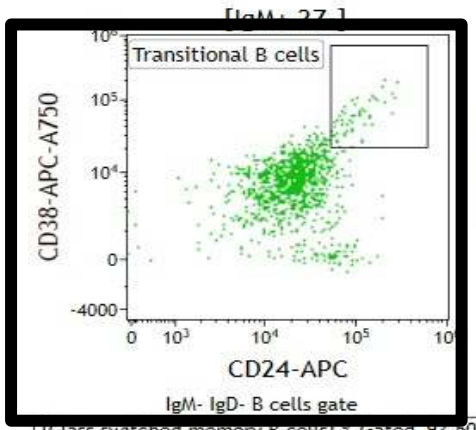


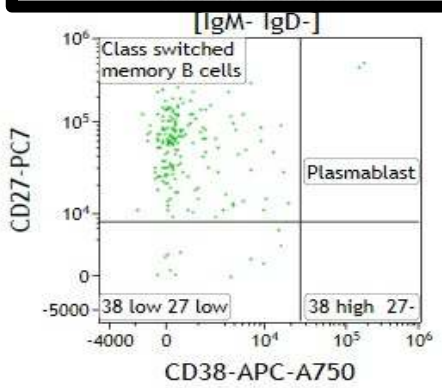












Lymphs gate

[CD19+ B cells] % Gated	7,10

CD19+ B cells gate

[Naive] % Gated	73,97
[Marginal zone] % Gated	11,05
[27- IgD- B cells] % Gated	0,85
[class-switched memory] % Gated	14,13
[CD21 high 38-] % Gated	19,56
[CD21 high 38+] % Gated	73,19
[CD38 low CD21 low] % Gated	4,51
[CD21- 38+] % Gated	2,75
[IgM- IgD+] % Gated	1,64
[IgM+ IgD+] % Gated	83,71
[IgM- IgD-] % Gated	13,08
[IgM+ IgD-] % Gated	1,57

IgM- IgD- B cells gate

[Class switched memory B cells] % Gated	93,50
[Plasmablast] % Gated	1,00
[38 low 27 low] % Gated	5,50
[38 high 27-] % Gated	0,00

IgM+ IgD+ B cells gate

[Class unswitched memory B cells] % Gated	13,52
[38 high 27+] % Gated	0,31
[38 dim 27-] % Gated	80,70
[38 high 27-] % Gated	5,47

IgM+ 27- B cells gate

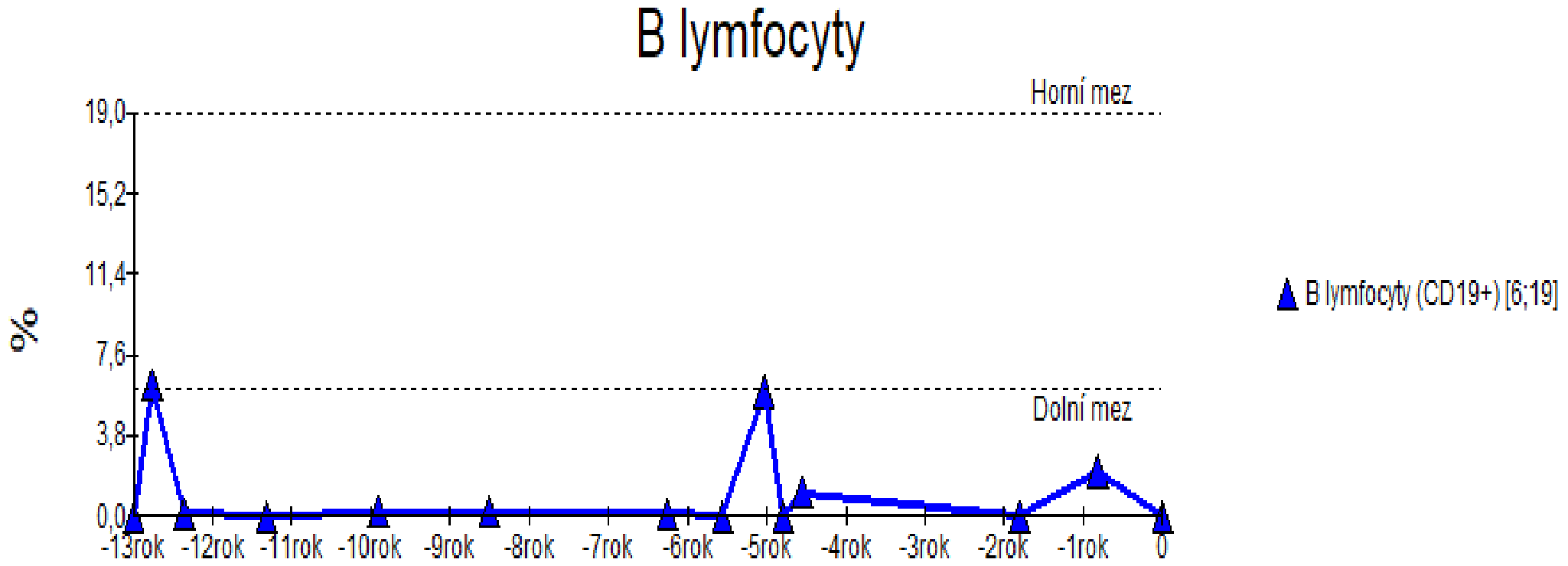
[Transitional B cells] % Gated	4,90

Nytrová Petra: *Immunity following SARS-CoV-2 vaccination in autoimmune neurological disorders treated with rituximab or ocrelizumab* Front Immunol 2023

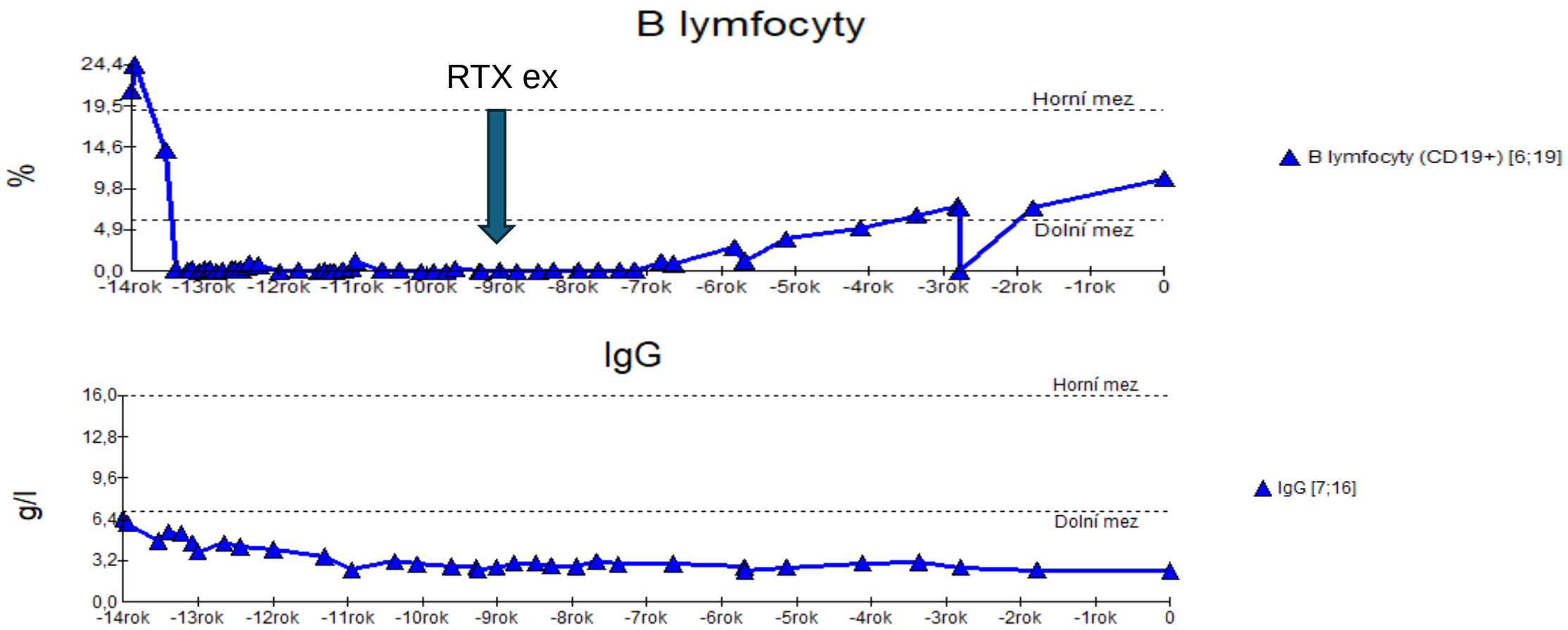
Only 34.09% of the patients, without a COVID-19 history and undergoing anti-CD20 treatment (via RTX or OCR), seroconverted. *OCR=ocrelizumab*

SARS-CoV-2 specific T cell response measured by released interferon γ was detected in 94.39% of the patients, independently of a humoral immune response.

Žena, 35 let


B lymfocyty
Horní mez
19,0
15,2
11,4
7,6
3,8
0,0
%
Dolní mez
-13rok
-12rok
-11rok
-10rok
-9rok
-8rok
-7rok
-6rok
-5rok
-4rok
-3rok
-2rok
-1rok
0
B lymfocyty (CD19+) [6;19]

Žena, 49 let


B lymfocyty
RTX ex
%
24,4
19,5
14,6
9,8
4,9
0,0
Horní mez
Dolní mez
-14rok -13rok -12rok -11rok -10rok -9rok -8rok -7rok -6rok -5rok -4rok -3rok -2rok -1rok 0
B lymfocyty (CD19+) [6;19]
IgG
g/l
16,0
12,8
9,6
6,4
3,2
0,0
Horní mez
Dolní mez
-14rok -13rok -12rok -11rok -10rok -9rok -8rok -7rok -6rok -5rok -4rok -3rok -2rok -1rok 0
IgG [7;16]

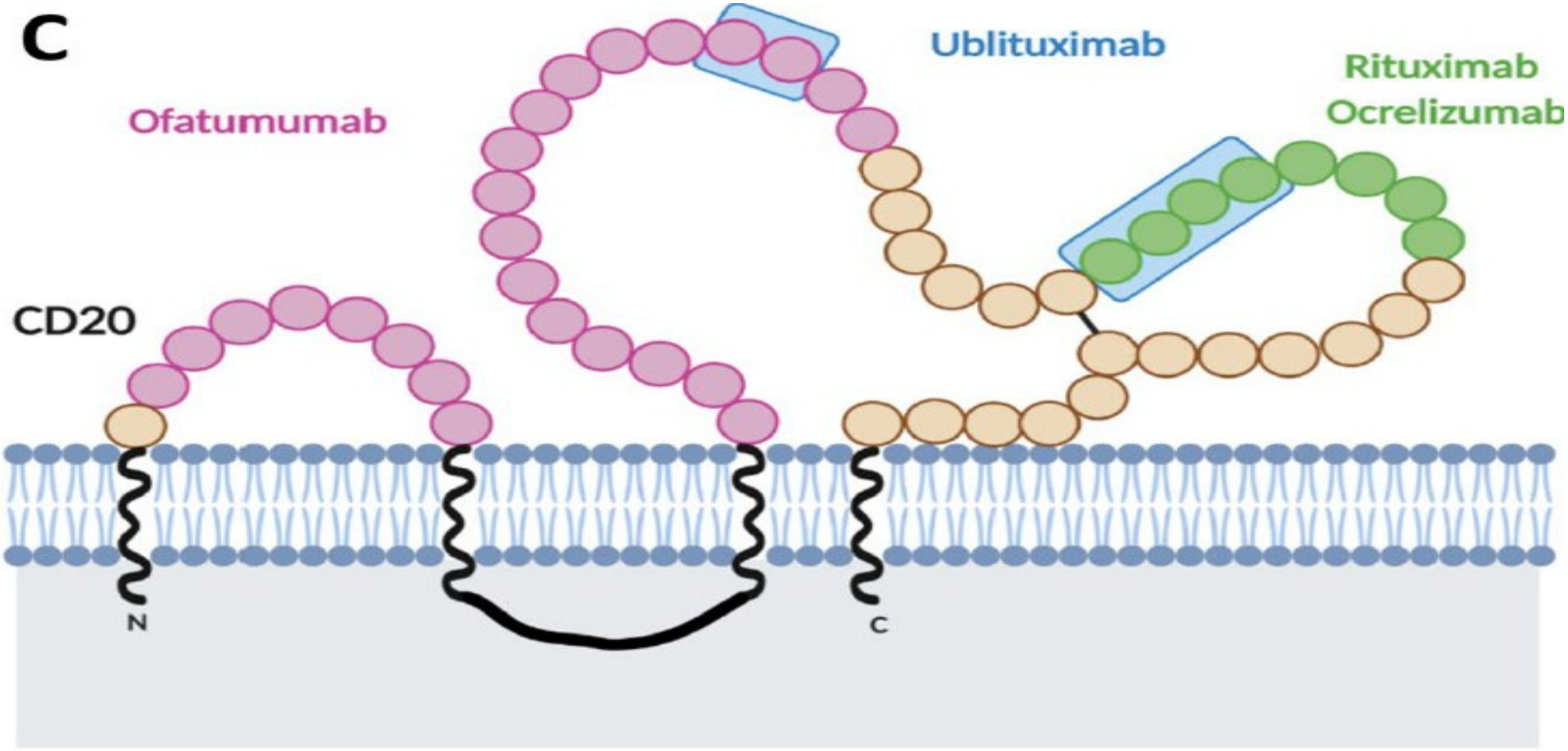
Depleční monoklonální protilátky

=

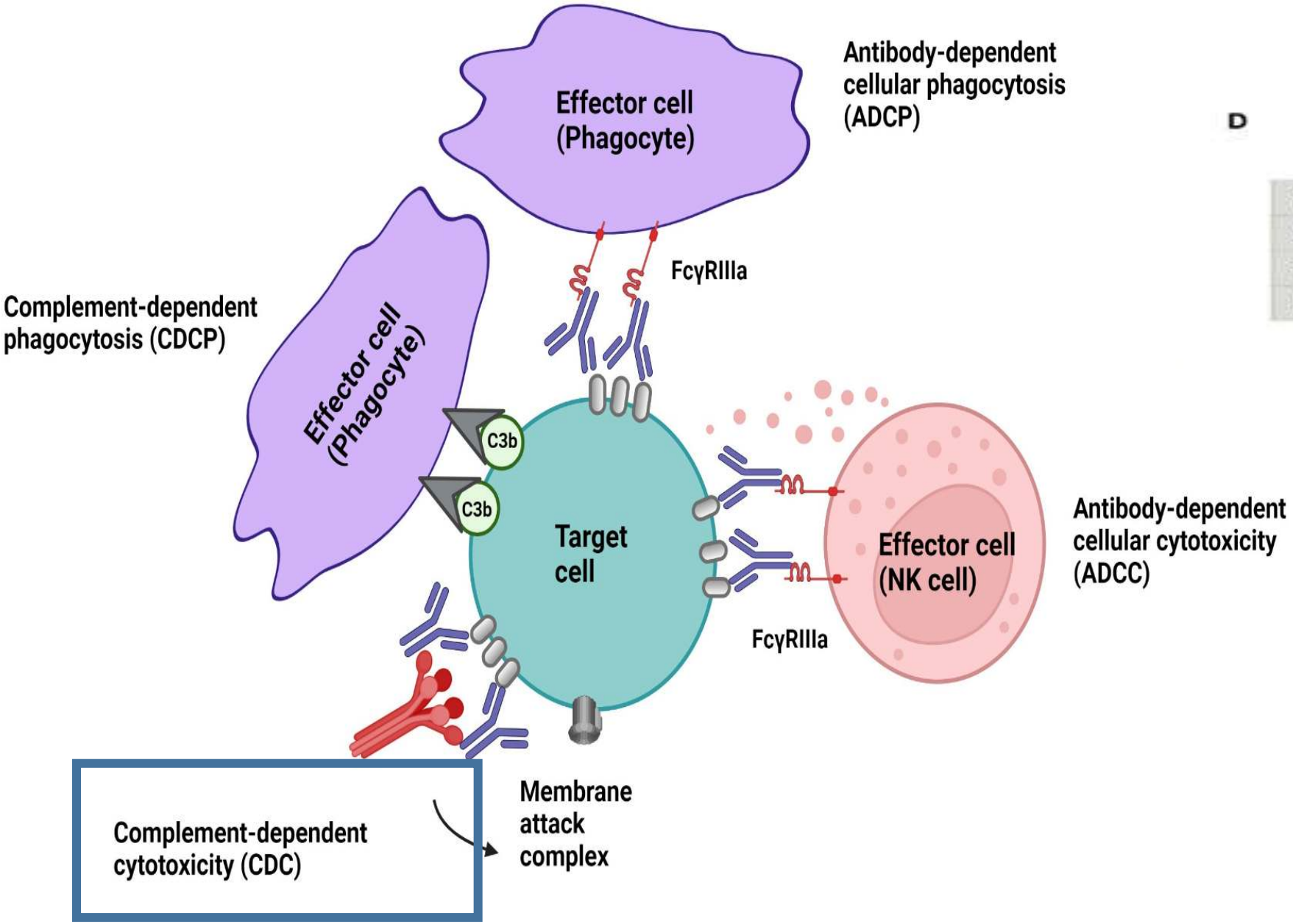
Imunopatologická reakce II. typu +
reakce přes terčovou molekulu

Využití mechanismů se liší

Deplece B lymfocytů



Margoni M. Anti-CD20 therapies for multiple sclerosis: current status and future perspectives (2022) Mar;269(3):1316-1334. doi: 10.1007/s00415-021-10744-x.



D

	CDC	ADCC	
RTX	✣✣	✣✣	CDC > ADCC
OCR	✣	✣✣✣	ADCC > CDC
OFA	✣✣✣	✣✣	CDC > ADCC
UTX	✣	✣✣✣✣	ADCC > CDC

https://images-provider.frontiersin.org/api/ipx/w=290&f=webp/https://www.frontiersin.org/files/Articles/953649/fimmu-13-953649-HTML/image_m/fimmu-13-953649-g001.jpg

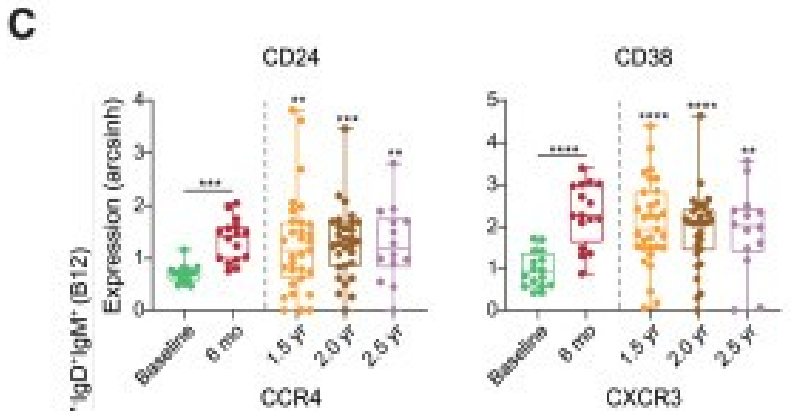
Disanto G.: Effect of Cumulative Exposure to Ocrelizumab on Memory B-Cell Repopulation Dynamics in Multiple Sclerosis ANN NEUROL 2025;98:603–61

- Memory B-cell (CD27+) repopulation becomes slower with increasing cumulative OCR dose – možná spíše předchozí léčba
- There was an inverse association between age and CD19+ B-cell repopulation; that is, this being slower among older patients (with a graphical cutoff at approximately 40 years) – RS u CP

Wang M.: Comprehensive analysis of B cell repopulation in ocrelizumab-treated patients with multiple sclerosis by mass cytometry and proteomics. 2025

About 50% of patients showed naive B cell repopulation after 6 months mainly with a transitional phenotype, whereas CD27⁺ memory B cells only rarely repopulated.

In line with previous studies, the repopulated CD20⁺IgD⁺IgM⁺ mature naive B cells (B12) showed a shift toward transitional phenotypes, with increased expression of CD24 and CD38 at 6 months to 2.5 years as compared with baseline, as well as an increased expression of CXCR3 and CCR4



Jak probíhá repopulace B lymfocytů?

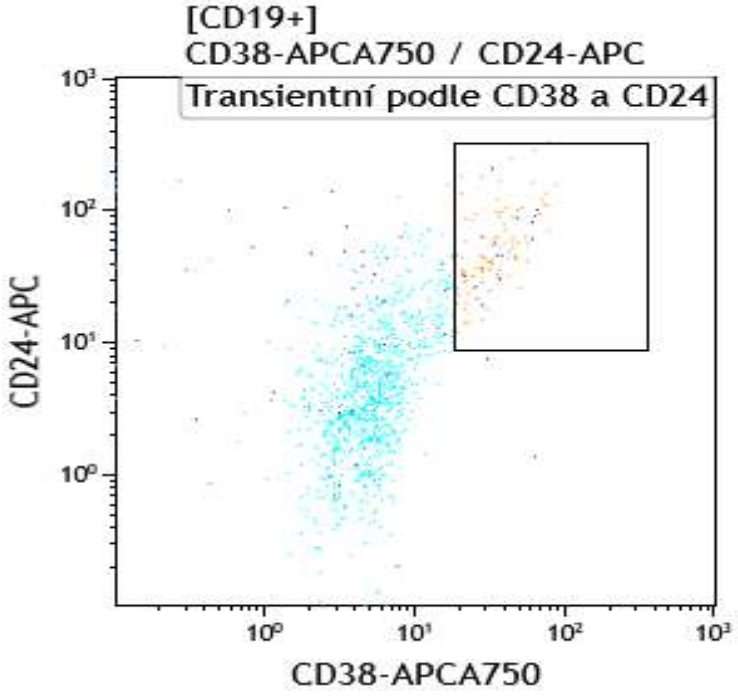
- **Po anti-CD20 léčbě jsou CD20+ B lymfocyty téměř kompletně vyčerpány**, zatímco plazmatické buňky (CD20−) zůstávají zachovány.
- **První známky repopulace se obvykle objevují za 6–12 měsíců**, ale u některých pacientů až po 18–24 měsících.
- **Nejdříve se obnovují přechodné (transitional) a naivní B lymfocyty.**
- Transientní B lymfocyty teprve putují z kostní dřeně do sleziny
- **Paměťové B lymfocyty (CD27+) se obnovují mnohem pomaleji**, často až po několika dalších měsících nebo letech.
- Tento opožděný návrat paměťových B buněk pravděpodobně přispívá k přetrvávajícímu terapeutickému účinku i po návratu celkového počtu CD19+ buněk a *taky pomalé, možná žádné obnově produkce imunoglobulinů*

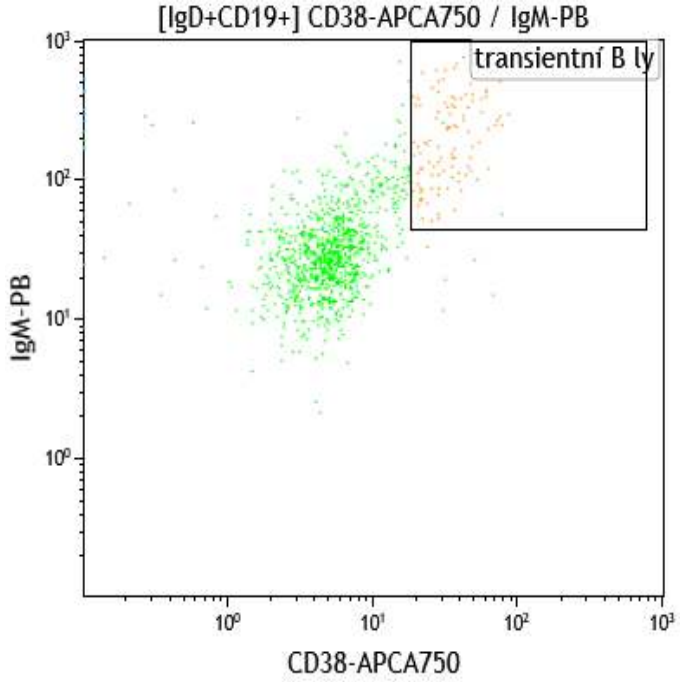
Gating transientních B lymfocytů

- **Kombinace CD24 a CD38 (Nejčastější přístup):**
  V dot-plotu **CD24 vs. CD38** svítí transientní B-buňky nejvíce. Označují se jako **CD24 high CD38 high** Jsou lokalizovány v pravém horním kvadrantu grafu, jasně oddělené od zralých naivních buněk a paměťových buněk.
- **Využití CD27 a IgM/IgD k potvrzení naivity:**
  Transientní buňky teprve opustily kostní dřeň, jsou proto striktně **CD27-** (nemají paměťový marker). Na svém povrchu nesou vysoké množství **IgM high**

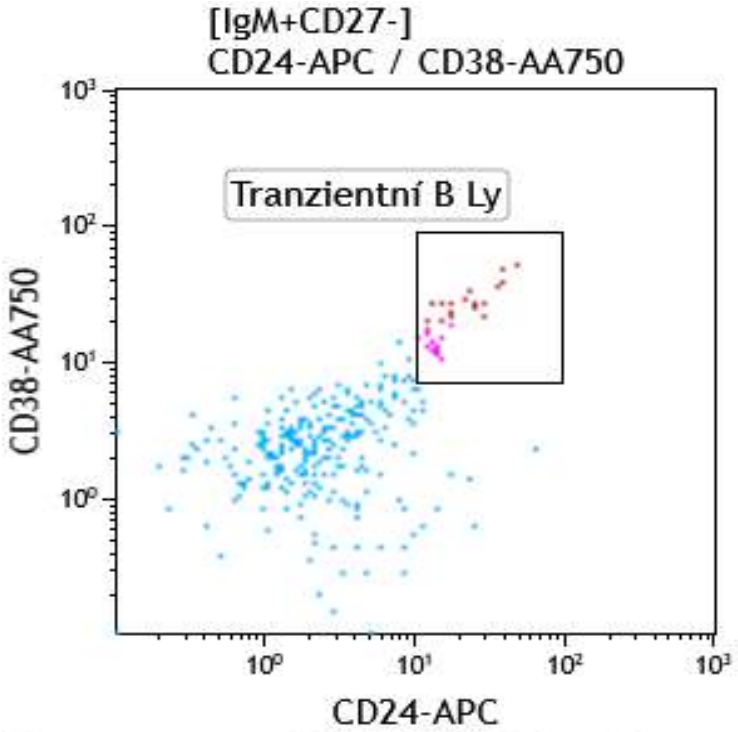
Transientní buňky

CD24++++ (vysoká exprese)
CD38++++ (vysoká exprese)
CD10+ (znak nezralosti, u zralých naivních buněk mizí)
CD27- (naivní stav, chybí paměťový marker)
IgM++++ (vysoká exprese



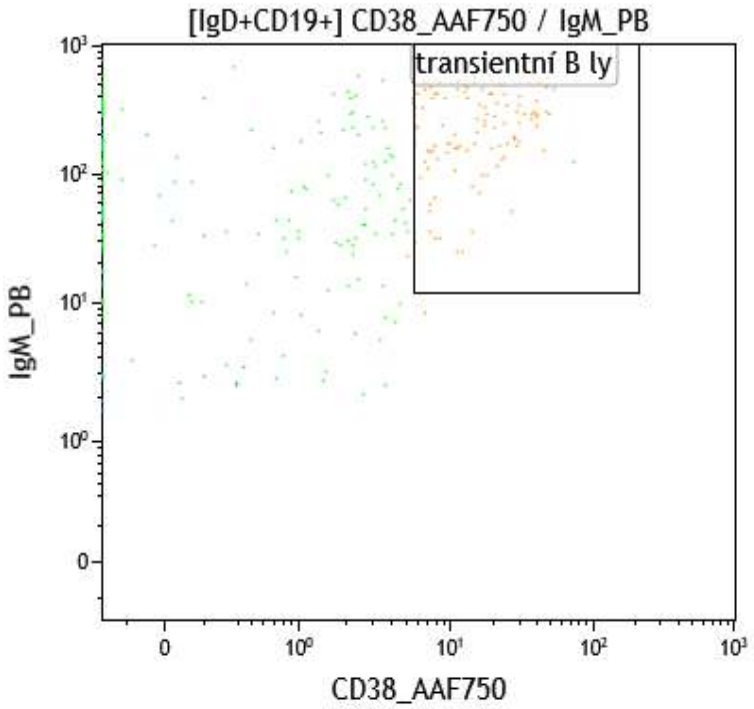


Gate	%Gated	%GP Gated
transientní B ly	10,40	10,25



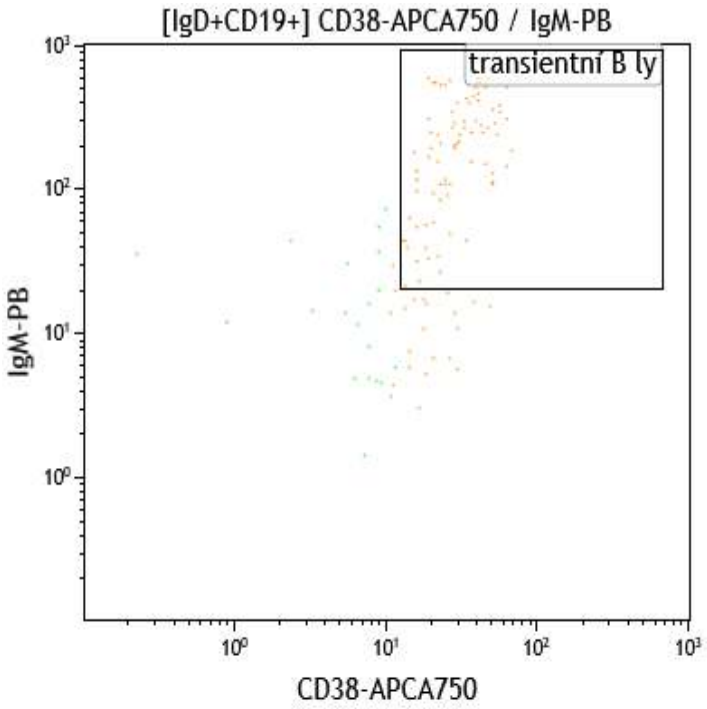
Gate	%Gated	%GP Gated
Tranzientní B Ly	10,53	9,77

Ocrelizumab 2011-2024 B ly 2,4%



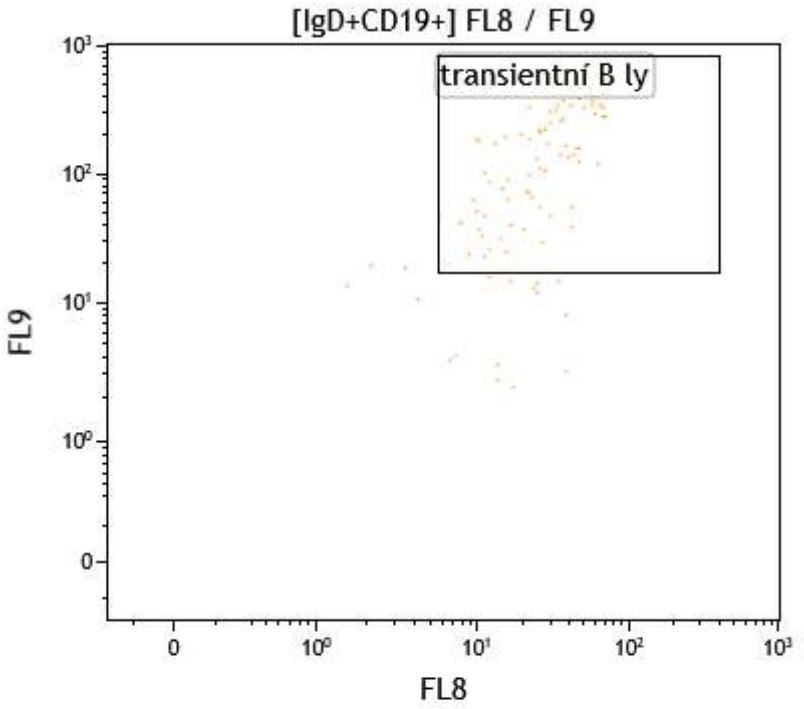
Gate	%Gated	%GP Gated
transientní B ly	35,58	34,58

RTX 2018-2023, Kesimpta 03/2025 – 11/2025, nález z 04/2026 B ly 1,9%



Gate	%Gated	%GP Gated
transientní B ly	66,12	66,12

RTX 11/2024 – 11/2025
B ly 1,34



Gate	%Gated	%GP Gated
transientní B ly	81,25	78,00

Pacienti po anti CD20 terapii (n=17)

- Paměťové bb. přesmyknuté – nejvyšší hodnota 6,67 – 1x non CVID (5,8%) - 16 pacientů jako CVID, 11 x pod 2 %
- Hodnota transientních bb – 2 pacienti 8-9%, 15 pacientů 12-78%
- SmB-CD21+low norm Transientní high (více než 9%) (EURO class) u 11 pacientů

Muž s RS – aneb štěstí

- Na léčbě natalizumabem - B ly 21.4 %

- Bly ms - 9,13 % (non CVID)
- Transientní - 4,18%

- Léčba ocrelizumabem 3 roky – při prodloužení B ly 3,9%

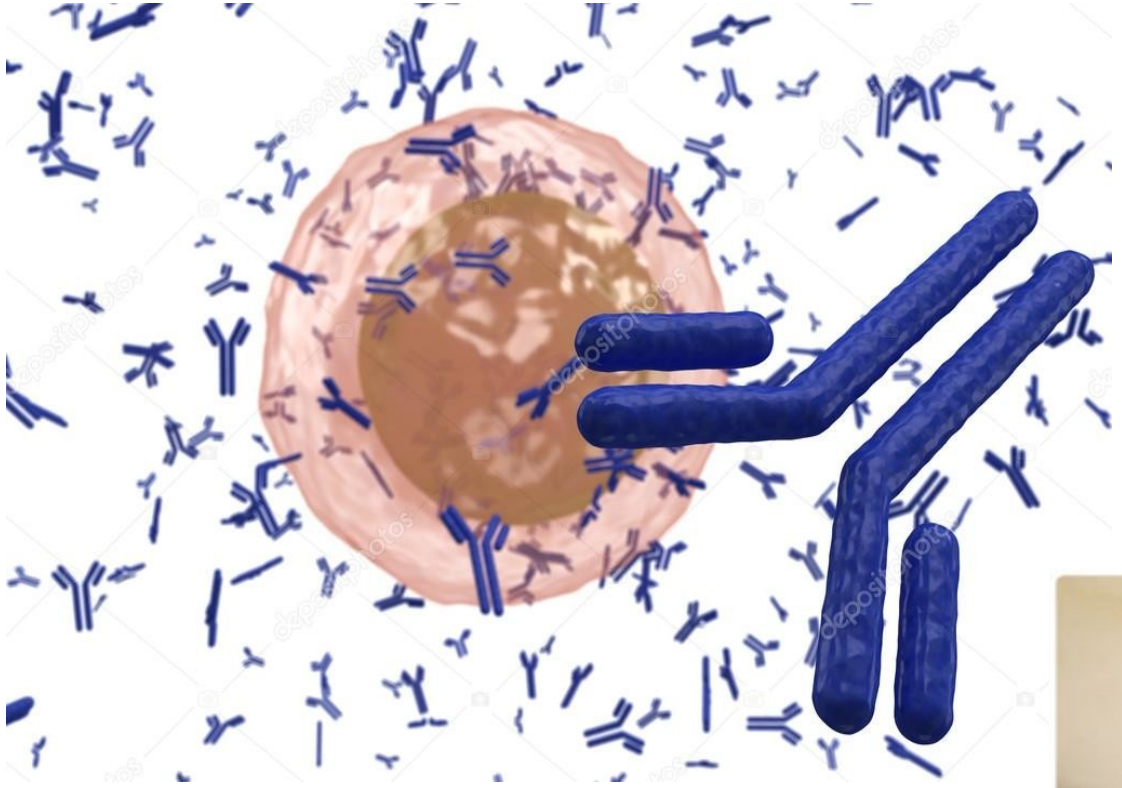
- Bly ms – 1,2 % (CVID)
- Transientní – 37%

Závěr aneb na co bychom se mohli vymluvit

- Různá anti CD20 léčba
- Různá délka léčby
- Různý odstup od ukončení léčby
- Různá IS terapie před anti CD20 th

Ale ono to vychází dost přesvědčivě

Otázkou zůstává, za jak dlouho, či vůbec, dojde k plnohodnotné obnově



Děkuji za pozornost

IVD R

