

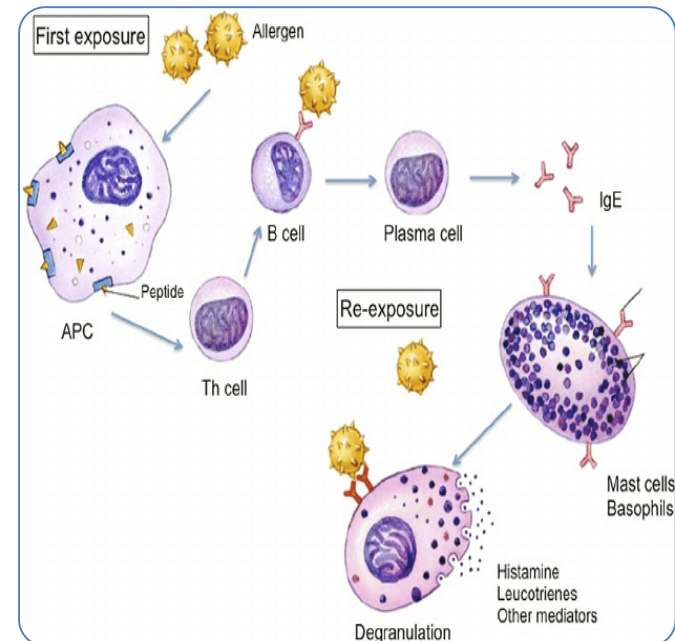
Astma Bronchiale

Adamová Sabina

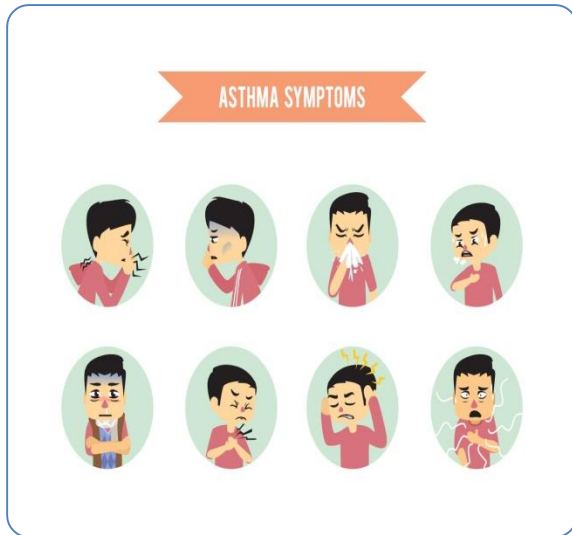


Příčina onemocnění

- Neadekvátní reakce na neškodné vnější antigeny
→ reverzibilní obstrukce dýchacích cest, zánět
- Alergeny: pyl, prach, zvířecí srst, potraviny
- Immunopatologická reakce I. typu
 - Senzibilizace: APC indukují proliferaci T_H2 lymfocytů
 - IL-4: stimulace B- lymfocytů k produkci IgE
 - IL- 4 + IL-13: produkce hlenu, stimulace zánětu
 - IL-5: aktivace eozinofilů, produkce ECP –eozinofilní kationický protein
 - Opakované setkání s multivalentním alergenem: přemostění IgE → degranulace žírných buněk (histamin, heparin, prostaglandin)



Klinické projevy



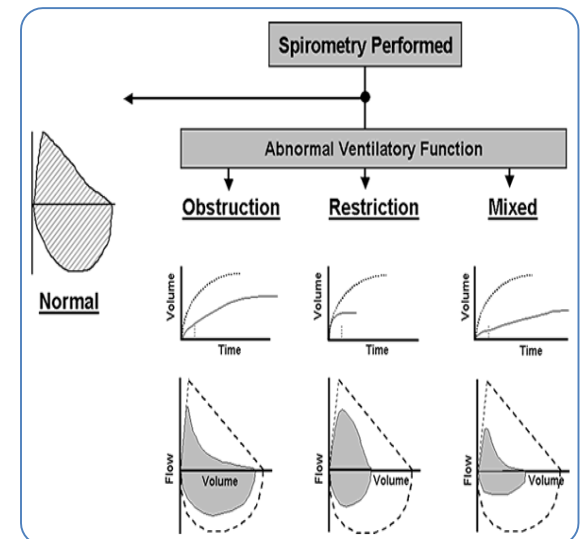
- Ztížené dýchání
- Dušnost
- Sípání při výdechu
- Tlak na hrudi
- Suchý kašel

Diagnostika

- ECP (eozinofilní kationický protein)
 - Produkt aktivovaných eozinofilů
 - Využití: diagnostika a monitorování léčby astmatu; marker probíhajícího alergického (eozinofilního) zánětu
 - Metoda: enzymatická imunoanalýza s chemiluminiscenční detekcí
 - Sražená krev → centrifugace → inkubace s králičí protilátkou proti ECP konjugovanou s alkalickou fosfatázou → promytí → inkubace s chemiluminiscenčním substrátem

Laboratorní nálezy

- ↑ Celkové IgE:
 - Detekce: nefelometrie
 - Jamky mikrotitrační destičky potažené protilátkou proti lidskému IgE → inkubace s naředěným sérem → komplex [α-IgE.IgE]
- ↑ Eosinofily:
 - Diferenciální rozpočet leukocytů (norma 0-5 %)
- ↑ CRP
 - Detekce: turbidimetrie
 - Reakce CRP s protilátkou proti CRP navázanou na latexových částicích



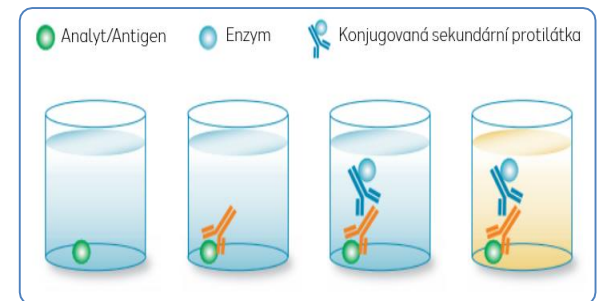
Léčba

- Agonisté β_2 -adernoreceptorů (SABA):
Salbutamol
- Anticholonergrní léky
- Inhalační kortikosteroidy
- Dlouhodobě působící agonisté β_2 -
adernoreceptorů (LABA)
- Biologická léčba (pro pacienty s těžkým
astmatem): anti-IgE, anti-IL-5 terapie



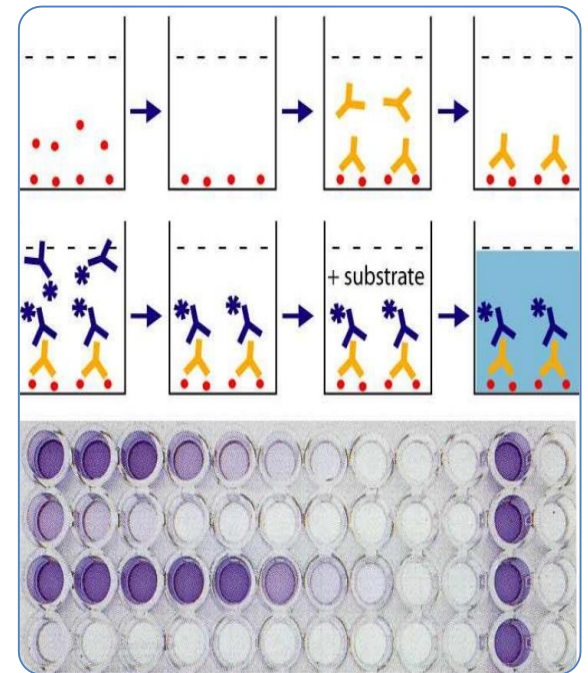
Stanovení specifických IgE protilátek pomocí ImmunoCAP 250

- Fluorescenční metoda
- EDTA sérum/plazma z kapilární či venózní krve
- Alergeny navázány na pevné fázi
→ reakce s IgE ze vzorku →
promytí → enzymaticky (alkalická fosfatáza) značená protilátka proti IgE → promytí → inkubace s luminogenním substrátem



Stanovení specifických IgE protilátek pomocí Immulite 2000

- Dvoukroková chemiluminiscenční imunoassay
- EDTA sérum/plazma z kapilární či venózní krve
- Pevná fáze (kuličky) pokrytá alergenem → reakce s IgE ze vzorku → centrifugace, promytí → monoklonální protilátka proti lidské IgE konjugovaná s enzymem → centrifugace, promytí → inkubace s chemiluminiscenčním substrátem



Celiakie

Veronika Bieliková

ZDRL

Celiakie

- = abnormální imunitní odpověď na lepek (gluten)
 - lepek – skupina glykoproteinů (prolaminů) vyskytujících se v obilninách
 - pšenice – gliadiny a gluteniny
 - ječmen – hordeiny
 - žito – sekaliny
 - oves – aveniny
- orgánově specifické chronické autoimunitní onemocnění provázené zánětlivými změnami na sliznici tenkého střeva
- může mít i mimostřevní příznaky – Dühringova nemoc („kožní celiakie“)

Formy celiakie

- klasická – přítomnost protilátek proti endomysiu a tkáňové transglutamináze, pozitivní biopsie, klasické klinické obtíže
- atypická – přítomnost protilátek proti endomysiu a tkáňové transglutamináze, pozitivní biopsie, projevy převážně mimo GIT
- tichá – přítomnost protilátek proti endomysiu a gliadinu, pozitivní biopsie, bez klinických příznaků
- latentní – přítomnost protilátek proti endomysiu a tkáňové transglutamináze, normální biopsie, bez klinických příznaků
- potenciální – přítomnost protilátek proti endomysiu, normální biopsie, bez klinických příznaků

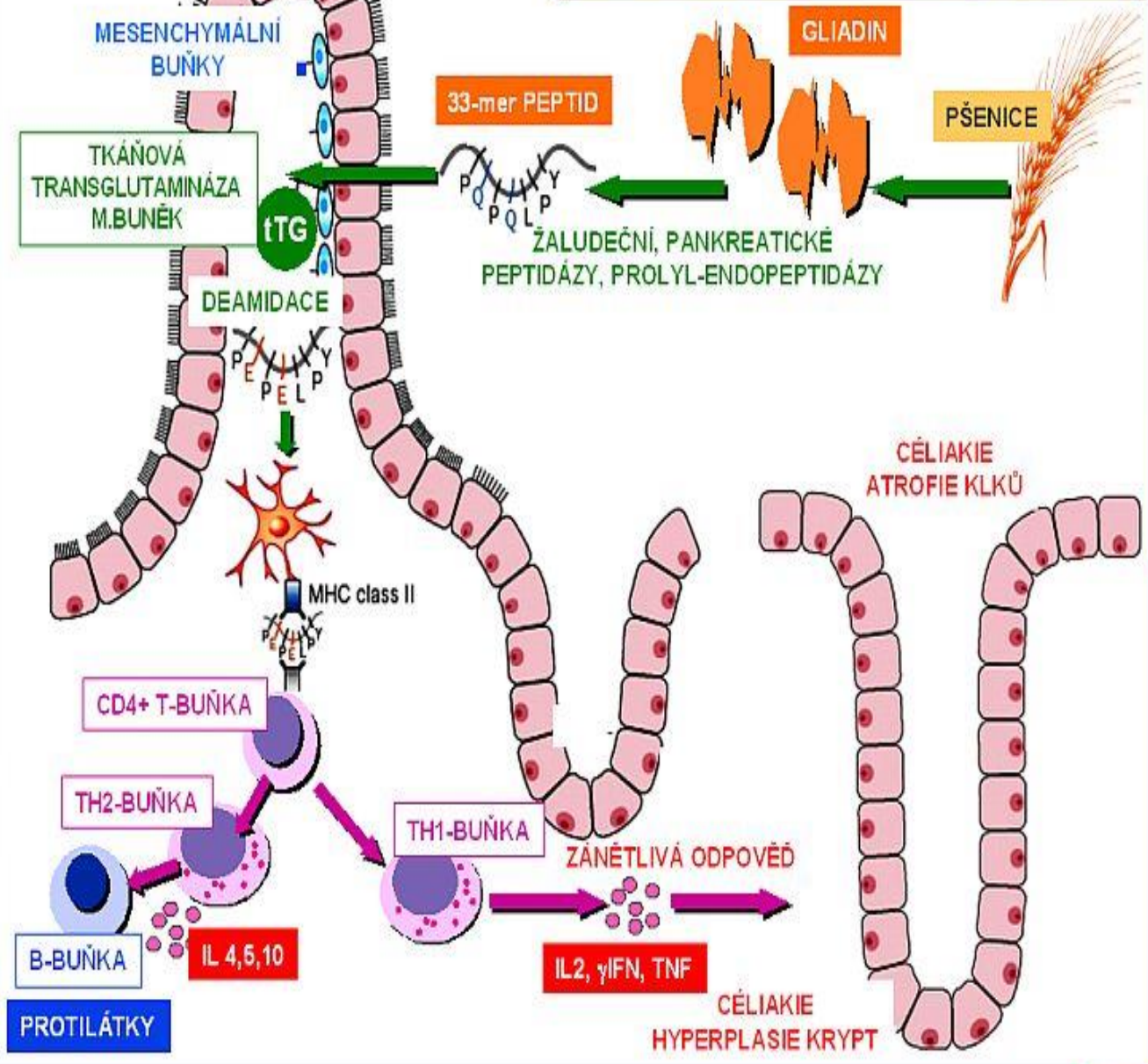
Příčina onemocnění

- přesná příčina vzniku není známa
- pro manifestaci onemocnění je nutná genetická predispozice a zároveň vnější podněty
 - genetické predispozice – HLA molekuly II. třídy – HLA-DQ2 a HLA-DQ8
 - vnější podněty – vysoký příjem lepku, infekce, stres
- ani u člověka s genetickou predispozicí se nemoc nemusí projevit, není-li spuštěna vnějšími faktory
- ke vzniku nemoci jsou náchylnější pacienti trpící Downovým, Turnerovým nebo Williamsovým syndromem

Podstata onemocnění

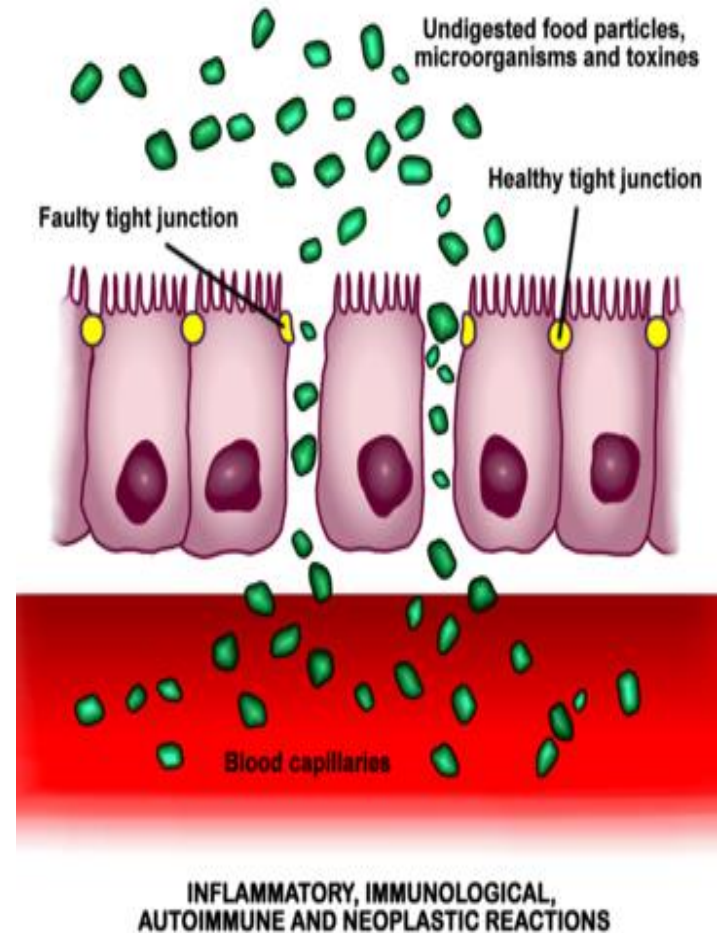
- gluten je deaminován v lamina propria tkáňovou transglutaminázou
- deaminované glutenové peptidy se vážou na molekuly HLA-DQ2 nebo HLA-DQ8
- prezentace CD4+ T-lymfocytům, které je pomocí T-buněčných receptorů rozpoznají a začnou produkovat prozánětlivé cytokiny IFN- γ a IL-21 – rozvoj Th1 typu imunitní odpovědi
- dochází ke stimulaci cytotoxické imunity, pro kterou jsou typické CD8+ T-lymfocyty
- pomocné T-lymfocyty navíc podporují izotypový přesmyk B-lymfocytů, které začnou produkovat protilátky proti gliadinu (glutenové peptidy), tkáňové transglutamináze a endomysiu (vazivová vrstva ve svalovině)

podle: Mowat AT, Lancet 2003, 361: 1290



Podstata onemocnění

- společným působením těchto složek dochází k poškození střeva, čímž se zvyšuje propustnost střevní bariéry
- dochází k porušení těsných mezibuněčných spojů (tight junction) – průchod gliadinů z lumen střeva do lamina propria mucosae, kde indukují vznik zánětu



Klinické projevy

- střevní projevy
 - bolesti břicha, průjmy, nadýmání, zvracení
- mimostřevní projevy – důsledek špatného vstřebávání živin a rozšířené imunitní odpovědi ze střeva do dalších tkání a orgánů
 - špatný růst dětí, opožděný nástup puberty, nechutenství, únava, anémie, ztráta hmotnosti, kožní, neurologické a psychiatrické poruchy, osteoporóza
- častá asociace s dalšími autoimunitními onemocněními např. diabetes mellitus 1. typu nebo autoimunitní zánět štítné žlázy
- celiakie může být i asymptomatická
- u neléčené celiakie je vyšší riziko zhoubného nádorového bujení (non-hodgkinské lymfomy, karcinomy tenkého střeva, jícnu a hltanu)

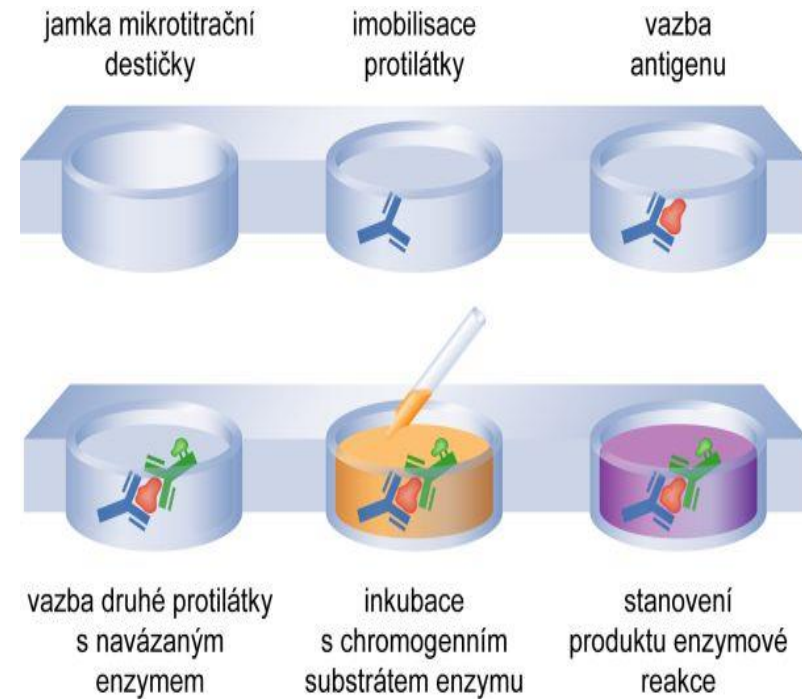
Laboratorní vyšetření

- všechna vyšetření se musí dělat před zavedením bezlepkové diety, jinak dochází ke zkreslení výsledků
- screening – průkaz protilátek v séru proti:
 - tkáňové transglutamináze třídy IgA a IgG – nejspolehlivější
 - endomysiu třídy IgA
 - gliadinu třídy IgA a IgG, deaminovanému gliadinu
 - retikulinu
 - stanovení celkového IgA
- potvrzení diagnózy – biopsie sliznice tenkého střeva
- v případě nejasných nebo protichůdných výsledků serologických testů a biopsie se provádí stanovení haplotypu HLA molekul

Metody stanovení – protilátky proti tkáňové transglutamináze

- ELISA

- tvorba komplexu antigen–protilátka
 - antigen – ze vzorku
 - protilátka – rekombinantní tkáňová transglutamináza na dně jamky mikrotitrační destičky
- přidavek sekundární protilátky značené peroxidázou
- přidavek substrátu (TMB – 3,3',5,5'-tetramethylbenzidin)
- zastavení stop roztokem (0,16M H_2SO_4)
- měření při 450 nm

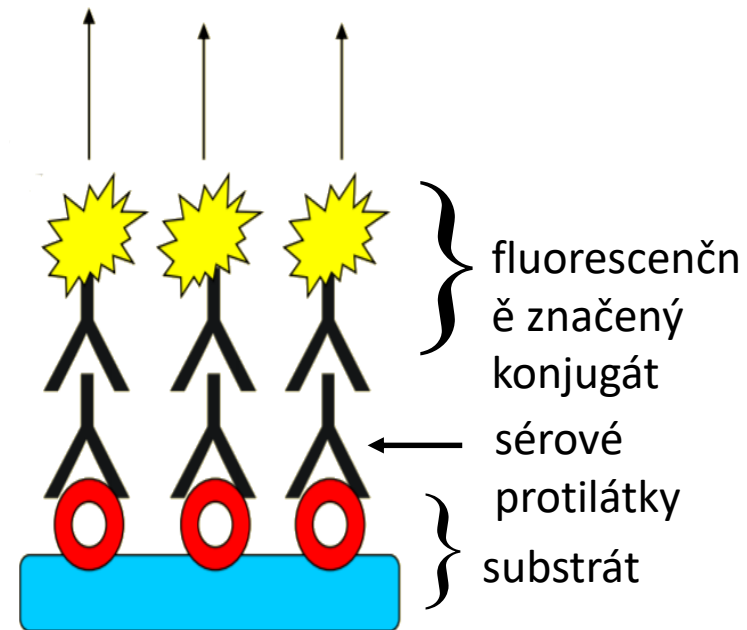


Metody stanovení – protilátky proti gliadinu a deaminovanému gliadinu

- ELISA
 - protilátky proti gliadinu – jako antigen na dně titračních jamek je použit antigen získaný extrakcí z nativního gliadinu
 - protilátky proti deaminovanému gliadinu – jako antigen na dně titračních jamek jsou použity syntetické deamidované gliadinové peptidy

Metody stanovení – protilátky proti endomysiu, retikulinu

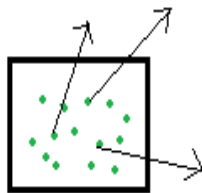
- nepřímá imunofluorescence
 - navázání sérových protilátek na substrát
 - endomysium – substrátem byl původně svalovina jícnu opic, nyní např. svalovina lidského pupečníku
 - retikulin – substrátem jsou nefixované kryostatové řezy krysích jater, ledvin a žaludku
 - na protilátky se váže konjugát (značený fluorescenčním barvivem), který je specifický k lidským imunoglobulinům ve třídách IgG/IgM/IgA
 - hodnocení probíhá pomocí imunofluorescenčního mikroskopu



Metody stanovení – celkový IgA

- Imunoturbidimetrie nebo nefelometrie
 - vznik precipitátu sérového IgA s králičím antisérem
 - turbidimetrické měření při 340 nm

Obecný princip

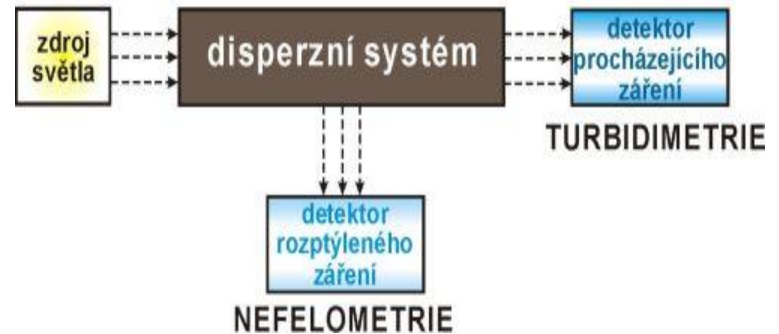


zdroj světla

kyveta s měřeným roztokem

detektor

Turbidimetrie a nefelometrie



Laboratorní nálezy - imunologie

| Protilátky proti | Negativní nález [U/ml] | Hraniční hodnoty [U/ml] | Pozitivní nález [U/ml] |
|----------------------------|---------------------------|-------------------------------|---------------------------|
| transglutamin áze | < 10 | – | ≥ 10 |
| gliadinu | < 11 | 11 – 14 | > 14 |
| deaminované mu gliadinu | < 13 | 13 – 15 | > 15 |

- pro celiakii je typický pozitivní nález protilátek proti endomysiu, diagnózu je však nutno vždy potvrdit bioptickým vyšetřením

Laboratorní nálezy - histologie

- atrofie až vymizení klků
- tvarové změny klků
 - absence vysokých prstovitých klků s normálními enterocyty
 - malé množství pohárkových buněk
- vyhlazená střevní sliznice
- Lieberkühnovy krypty jsou hyperplastické a hluboké
- zvýšená epiteliální apoptóza
- zvýšená permeabilita sliznice

Metody léčby

- jedinou léčbou je celoživotní bezlepková dieta, čímž dojde ke zhojení střevní sliznice
- léky mají jen podpůrný a dočasný charakter – v začátcích lze podávat vitaminy (A,D) či minerály (vápník, železo)

Revmatoidní artritida

Vypracovala: Boušková Nella

Popis onemocnění

- Revmatoidní artritida (polyarthritidis progressiva primaria chronica) je chronický zánět charakterizovaný synoviální hypertrofií s infiltrací zánětlivými buňkami (hlavně T-lymfocyty), destrukcí kloubní chrupavky a dekalifikací kosti.
- řadí se mezi orgánově-nespecifická (systémová) autoimunitní onemocnění
- prevalence v populaci 0,5 - 1%, 2-3x častější u žen (35-50 let), existuje i juvenilní forma RA postihující děti a dospívající

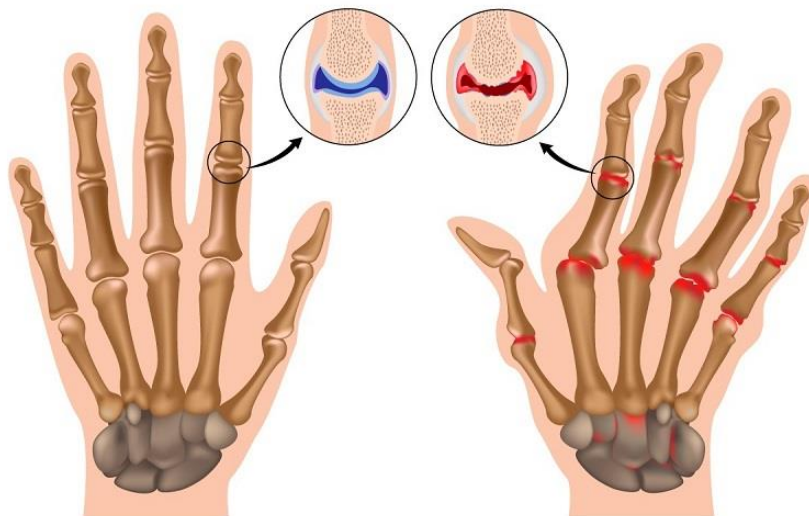
Příčina RA

- původní příčina rozvoji nemoci je **neznáma** (možná bakterie *Porphyromonas gingivalis* způsobující paradontózu)
- není známo proti kterému antigenu je autoimunitní reakce přesně zaměřena (patrně proti *kolagenu typu II* nebo proti *chrupavkovému glykoproteinu 39*)
- rizikové faktory:
 - genetické – přes 100 lokusů (př. alely MHC II: HLA-DR1 a HLA-DR4)
 - enviromentální – kouření tabáku, nízký socioekonomický status, zvýšený index tělesné hmotnosti, vystavení oxidu křemičitému (stavby)

Klinické projevy

- bolesti a ranní ztuhlost kloubů, deformity kloubů (zpočátku drobné klouby), omezení pohyblivosti (pracovní neschopnost)
- zpočátku subfebrilie, únava, hubnutí, dále s rozvojem nemoci oční příznaky (zánět skléry), nervové poškození a anémie

Revmatoidní artritida prstních kloubů



Normální kloub s neporušenou chrupavkou a kloubní štěrbinou

Nemocný kloub s porušenou chrupavkou, erodovanou kostí a mizející kloubní štěrbinou

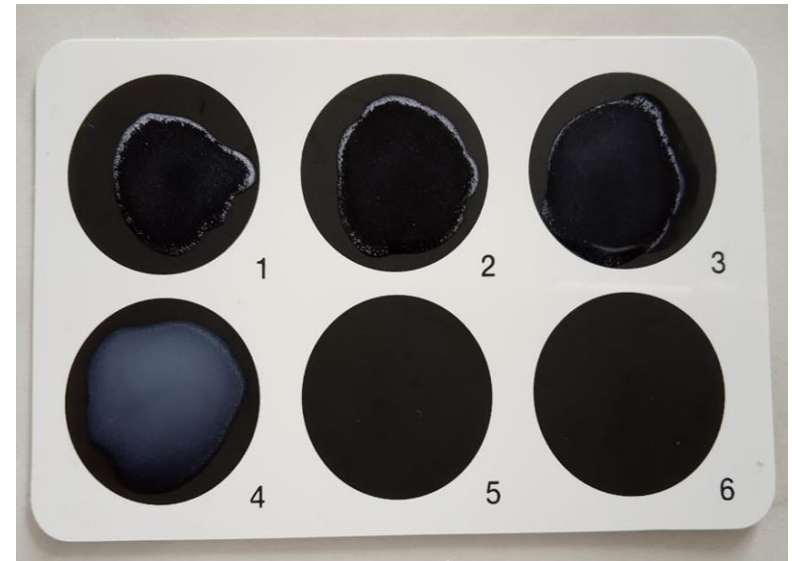


Laboratorní nálezy

- zánětlivé markery: zvýšené **CRP** a **sedimentace** erytrocytů (u některých pacientů ale obě hodnoty v normě)
- stanovení protilátek:
 - anti-CCP** - protilátka proti cyklickému citrulinovanému peptidu, specifitější než RF (postupně nahrazují RF)
 - revmatoidní faktory** – výskyt u 80 % pacientů (tzv. séropozitivní RA), protilátky proti F_c fragmentu Ig (izotypy RF- IgG, IgA, IgM)
 - antinukleární protilátky (ANA)
- anti-CCP i RF jsou markerem závažnějšího průběhu onemocnění
- vyšetření punktátu (sinoviální tekutiny) - zkalená, žlutá se sníženou viskozitou, počet buněk zvýšen, především pro obsah polymorfonukleárních leukocytů

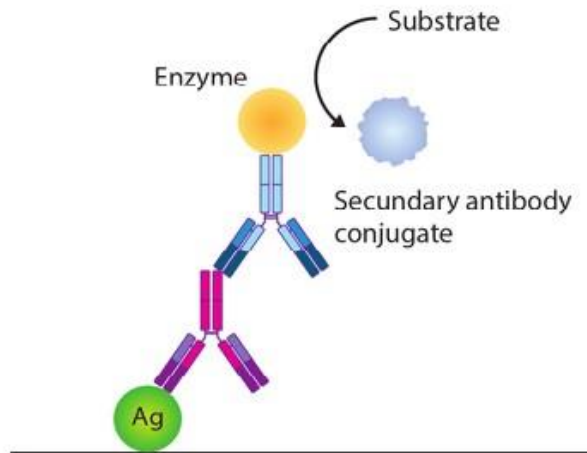
Revmatoidní faktor

- semikvantitativní latex-fixační test – principem je vazba ag (IgG) navázaných na latexové částici s ab (RF) přítomnými v pacentském séru a vznik aglutinace
- ředěním pac. séra geometrickou řadou (1:2,1:4,1:8) získáme titr ředění
- možnost falešné positivity pro RA - u 5-10% pacientů jiné systémové autoimunitní choroby, nebo u osob bez příznaků (vysoký věk)
- asi 20% pacientů s RA má test negativní (tzv. seronegativní pacienti)



Anti-CCP

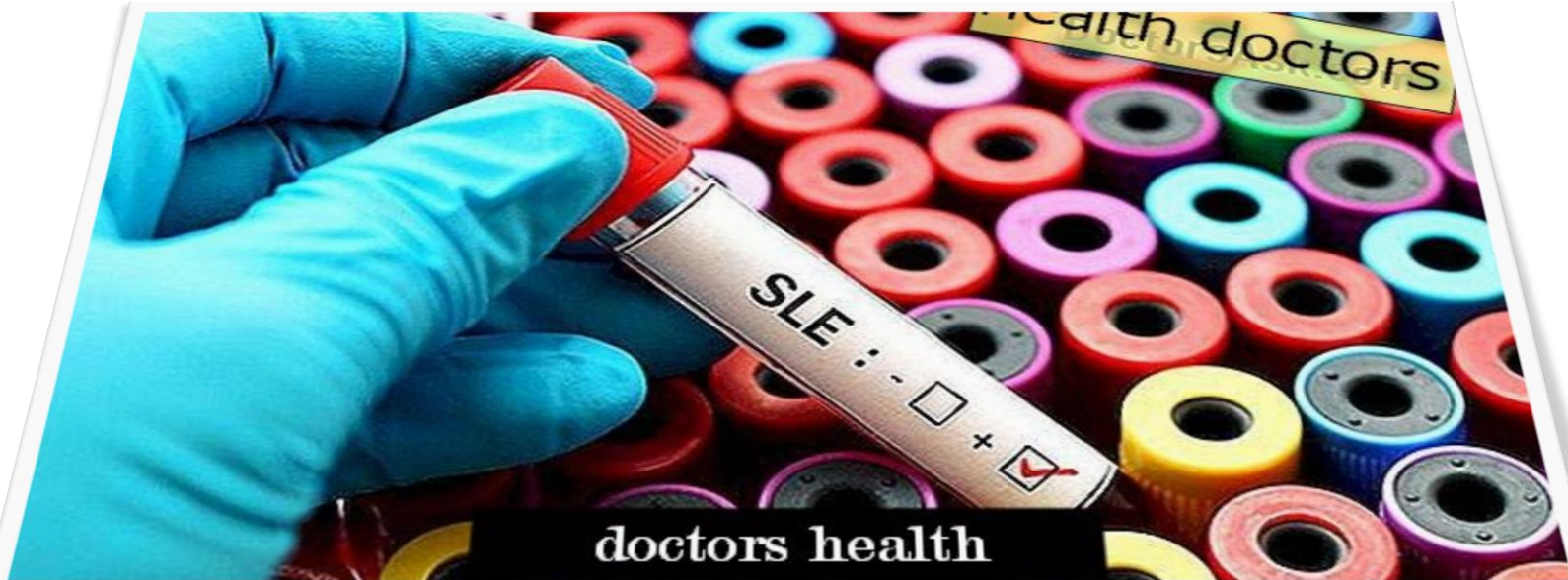
- ELISA, semikvantitativní průkaz lidských IgG autoprotilátek proti cyklickým citrulinovaným peptidům v lidském séru a plazmě
- protilátky proti CCP jsou převážně třídy IgG a mají 96% specifčnost pro RA
- protilátky přítomny již ve velmi časných stádiích nemoci (bez klinických příznaků) – včasná diagnostika a léčba



Léčba RA

- fyzikální léčba a rehabilitace
- farmakoterapie
 - léky modifikující průběh choroby (DMARDs)
 - konvenční – př. metotrexát
 - biologické – př. TNF α inhibitory
 - kortikoidy
 - symptomatické léky
- chirurgická léčba - synovektomie
 - totální endoprotéza
 - artrodéza

Systemový lupus erythematos



Špecifická príčina ochorenia – nie je doposiaľ známa!

Prototyp autoimunitného orgánovo nešpecifického ochorenia

- autoimunita – narušená rovnováha imunitného systému, ktorý stráca schopnosť rozlíšiť škodlivé, cudzorodé častice od vlastných buniek a tkanív, ktoré napadá
- charakteristická je predovšetkým hyperaktivita B buniek a nadprodukcia orgánovo nešpecifických autoprotílátok, ktoré sú namierené proti nukleárnym, cytoplazmatickým i povrchovým antigénom vlastného tela, z ktorých sa mnohé podieľajú na tvorbe imunokomplexov

Multifaktoriálna etiopatogenézia

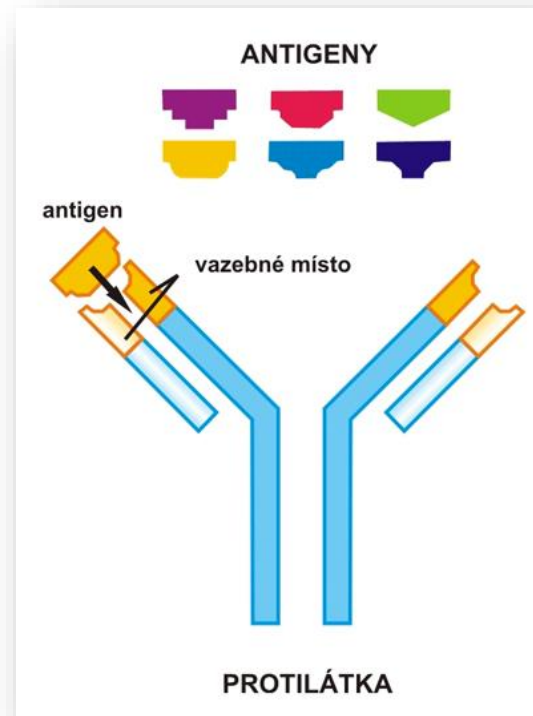
- predispozícia pri vrodennom defekte niektorých zložiek komplementu a pri HLA haplotype A1+, B8+, DR4+
- tkanivové poškodenie autoprotílátkami s účasťou širokej škály čiastkových mechanizmov, ako napr. bunková lýza, imunodepozita, stimulácia alebo inhibícia receptorov, prienik do živých buniek...



...

Provokačný význam

- slnečné žiarenie, hormonálna nerovnováha v dospievaní (estrogény, hormonálna antikoncepcia), stres, vírusové infekcie a lieky (chlorpromazín, hydralazín, prokainamid, izoniazid...)



Klinická manifestácia

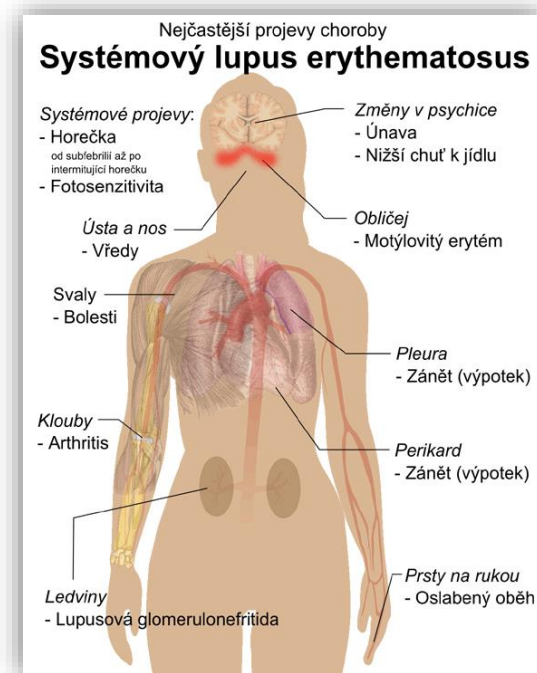
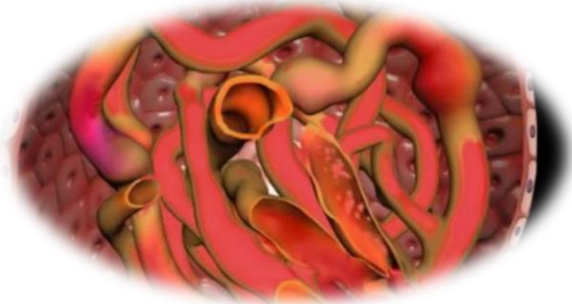
Najčastejšie príznaky ochorenia

- nevôľa, slabosť a únava, horúčka vyššia než 38 °C, anorexia/úbytok hmotnosti
- artralgie až artritídy drobných kĺbov ruky, kolien a zápästí
- motýľovitý exantém na tvári, ktorý vytvára začervenanú, vyvýšenú léziu (často svrbivú alebo bolestivú)
- fotosenzitivita – začervenanie kože po expozícií slnečnému žiareniu
- vysoké hodnoty sedimentácie erytrocytov, pretrvávajúca anémia, leukopénia či trombocytopénia



...

- sérozitídy – výpotok v perikarde alebo pleuritída
- lupusová glomerulonefritída – sprevádzaná proteinúriou
- akútna lupusová pneumonitída – sprevádzaná horúčkou, kašľom a škrvnými alveolárnymi infiltrátmi
- neuropsychiatrické príznaky – depresívne ladenie, bolesti hlavy migrénózneho typu a psychotické stavy
- opuch papily zrakového nervu a vatovité ložiská na sietnici



Diagnostické postupy

Indikácia k vyšetreniu

- založená na kombinácii klinických prejavov, laboratórnych nálezov a na vylúčení iných možných ochorení
- preukaz 4, alebo viacerých z 11 stanovených špeciálnych kritérií (najčastejšie príznaky/prejavy ochorenia) u pacienta

Laboratórne metódy k stanoveniu autoprotilátok

- nepriama imunofluorescencia (NIF) – vyšetrenie základného spektra orgánovo nešpecifických autoprotilátok (napr. ANA, anti-ds-DNA)
- ELISA – obvykle doplňujúce vyšetrenie k nepriamej imunofluorescencii (napr. typizácia ENA)

Interpretácia výsledkov

- samotná pozitivita protilátok ešte neznamená dg. autoimunity („fyziologicky“ vo vyššom veku, po infekcií)



Laboratórne nálezy

- antinukleárne protilátky (ANA) sa v aktívnej fázy vyskytujú až v 95% prípadov,
- anti-ds-DNA (dvojšróbovicová DNA) sa vyskytuje u 40 – 90% pacientov
- protilátky proti extrahovaným nukleárnym antigénom (ENA), zahrňujúce antigény Ro, La, Sm, U1RNP, U2RNP, Ku sa nachádzajú u 30 – 50% pacientov
- protilátky proti histónom sa vyskytujú u 40 – 60% pacientov
- lupus antikoagulans, antikardiolipínové protilátky a protilátky proti glykoproteidu 1 majú význam v diagnostike antifosfolipidového syndrómu
- známkou aktivity ochorenia a možného poškodenia obličiek je hypokomplementémia
- laboratórne nálezy spojené so špecifickým orgánovým postihnutím (proteinúria, zvýšená sedimentácia proteínov akútnej fáze, hemolytická anémia, pozitívny Coombsov test, leukocytopénia, lymfocytopénia, trombocytopénia)



Metóda nepriamej imunofluorescencie (NIF)

Metóda pre stanovenie cirkulujúcich autoprotílátok v ľudskom sére alebo plazme

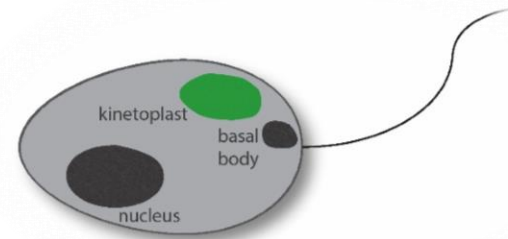
- k detekcii autoprotílátok je potrebné mať substrát
- substrátom je rez tkaniva, bunková substancia, alebo fixovaná tkanivová kultúra

Detekcia ANA

- na jadrách bunkových línií ako sú napríklad Hep-2 bunky (human epithelial cells)

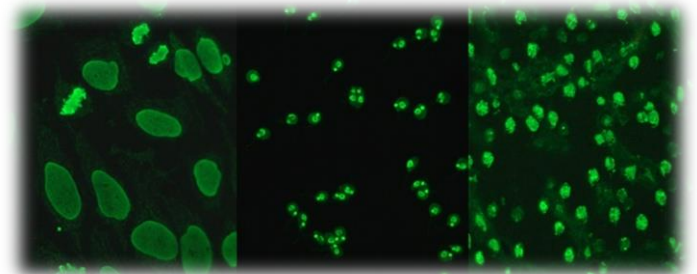
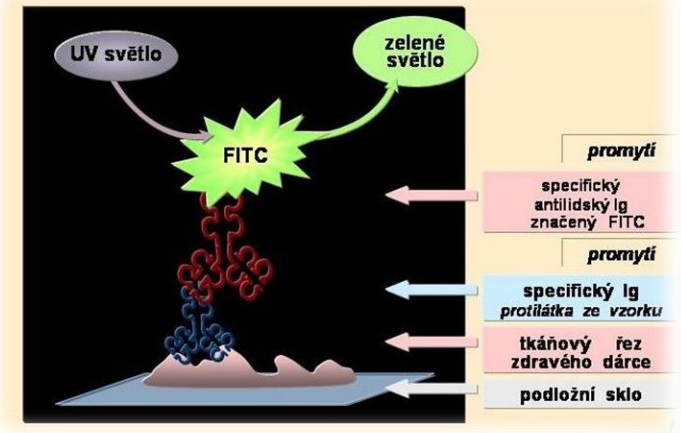
Detekcia anti-ds-DNA

- špecifickým substrátom je v tomto prípade prvok (bičíkovec) *Crithidia luciliae*, ktorý obsahuje okrem jadra kinetoplast, pozostávajúci z čistej dvojláknovej DNA



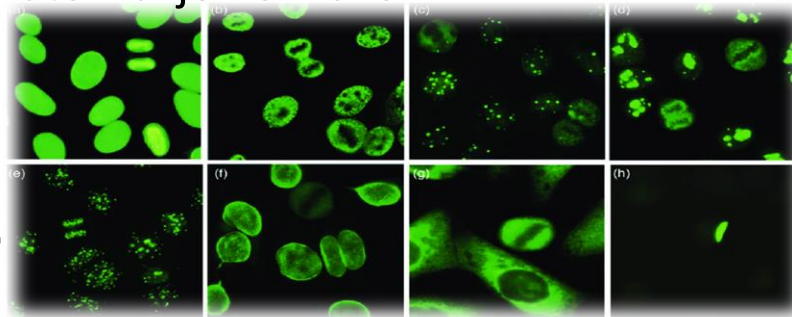
Princíp a hodnotenie NIF

- pokiaľ sú protilátky v sére prítomné, viažu sa na odpovedajúce antigény tkanivovej kultúry, ktorá je fixovaná na podložnom skle
- po obmytí nenaviazaných protilátok je komplex antigén-protilátka detegovaný sekundárnou protilátkou proti ľudskému IgG, ktorá je značená fluorescenčným farbivom (FITC)
- pri hodnotení obrazu pod fluorescenčným mikroskopom pozorujeme rôzny typ imunofluorescencie (homogénny, periférny, škvrnitý, nukleolárny, centromérový a cytoplazmatický), ktorý koreluje s rôznym typom prítomných protilátok a je rovnako závislý i na ich množstve



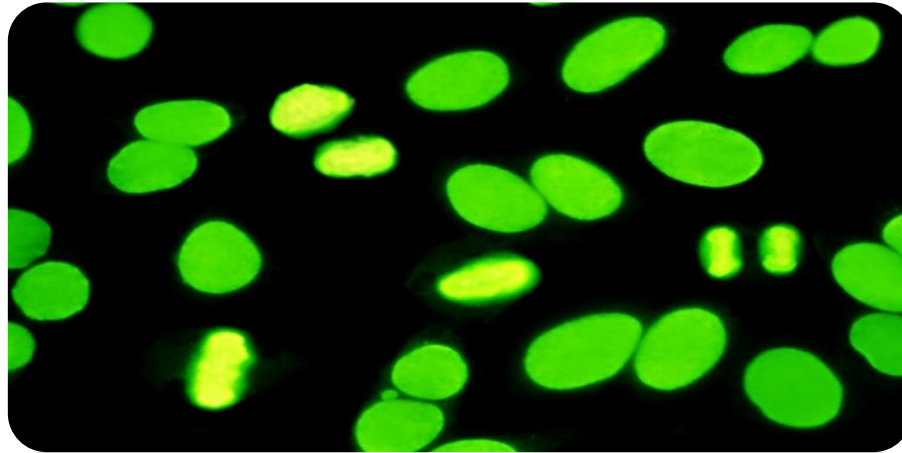
↓
imunofluorescencia
anti-ds-DNA

rôzne typy
imunofluorescencie
ANA ←

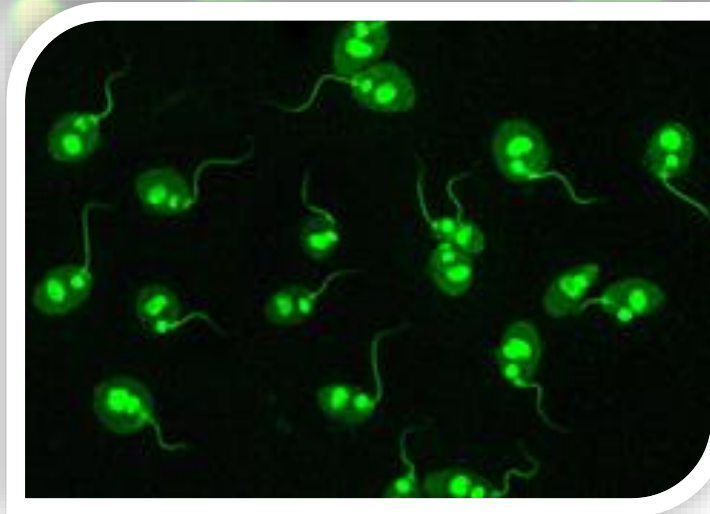


Typické laboratórne nálezy u SLE

ANA – pozitívna
homogénna
fluorescencia



pozitívna fluorescencia
proti látok proti ds-DNA
prvok: *Crithidia luciliae*



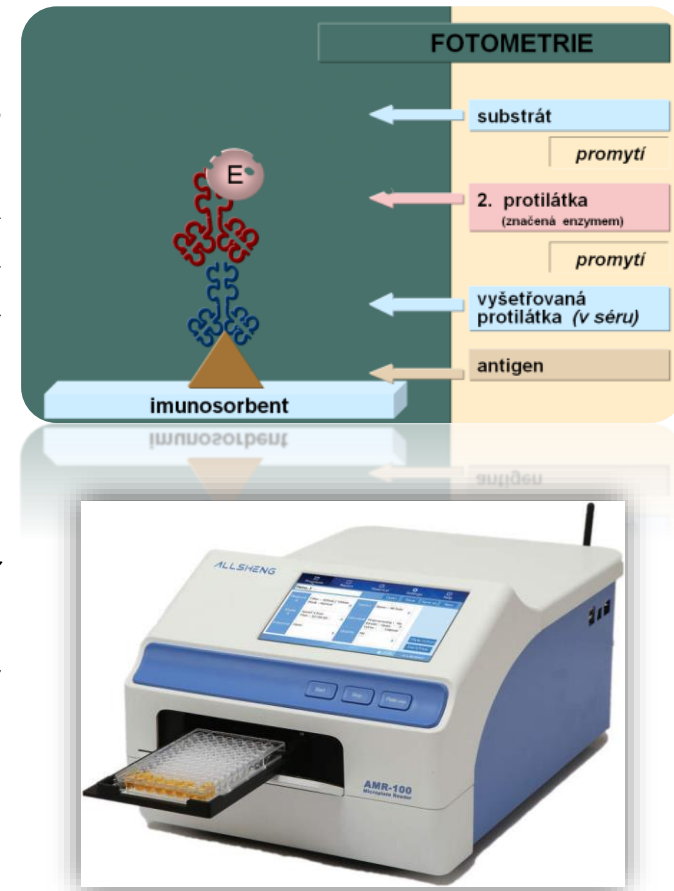
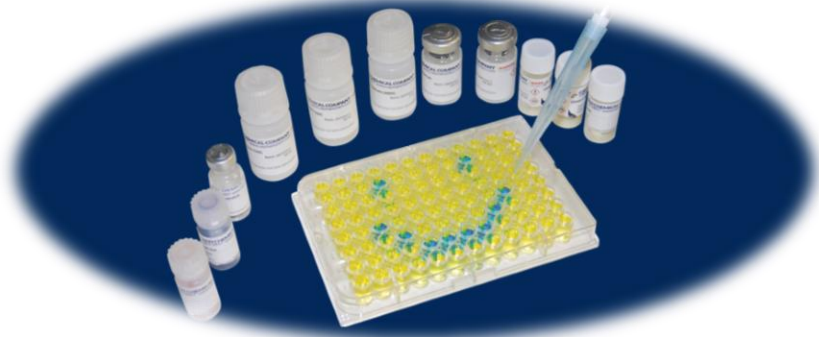
ELISA

Princíp

- pevná fáza je pokrytá Ag → prídavok vzorky s hľadanou Ab → tvorba IK (Ag – Ab) → premytie → prídavok konjugátu, tzv. „sekundárnej Ab“ → vznik komplexu Ag-Ab-Ab* → premytie → prídavok substrátu → enzymatická reakcia → vznik farebného produktu

Hodnotenie

- fotometer meria absorbanciu (intenzitu sfarbenia) vzniknutého farebného produktu
- intenzita sfarbenia je priamo úmerná koncentrácií vyšetrovanej vzorky a príslušná hodnota sa odčítava pomocou kalibračnej krivky



Metódy liečby

Nešpecifická liečba postihujúca tvorbu autoprotilátok

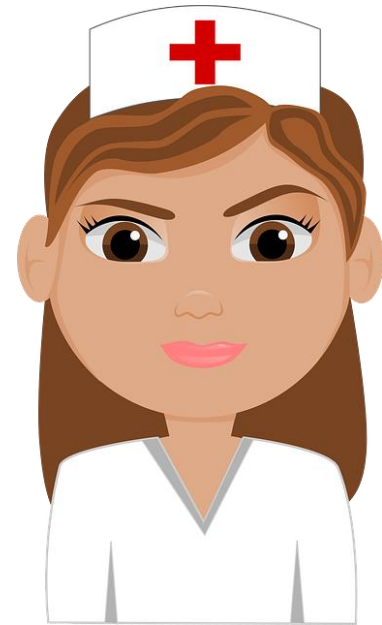
- napr. glukokortikoidy, antimalarika (plaquenil)
- pri vysokej aktivite ochorenia – pulzná liečba metylprednisolonom, na ktorú nadväzuje u prognosticky nepriaznivých pulzná liečba cyklofosfamidom, alebo terapia azathioprinom

Symptomatická liečba

- napr. analgetiká a antipyretiká, ktoré pôsobia protizápalovo

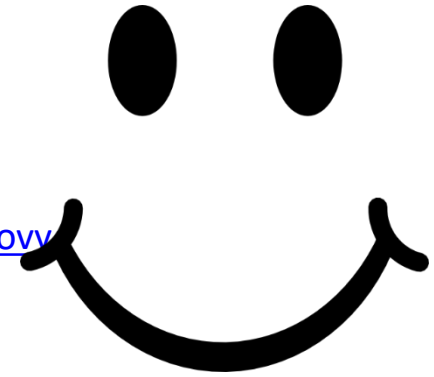
Lieky

- ich podávanie je vynútené postihnutím funkcie jednotlivých pre život dôležitých orgánov ako sú obličky, srdce, pľúca
- ženy vo fertilnom veku varujeme pred hormonálnou antikoncepciou



Zdroje:

- <http://www.remedia.cz/Archiv-rocniku/Rocnik-2017/6-2017/Systemovy-lupus-erythematodes/e-2eF-2qg-2rV.magarticle.aspx>
- <https://www.printo.it/pediatric-rheumatology/CZ/info/3/Syst%C3%A9mov%C3%BD-lupus-erythematosus>
- <https://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2010/04/06.pdf>
- https://www.wikiskripta.eu/w/Syst%C3%A9mov%C3%BD_lupus_erythematosus
- https://uia.fnplzen.cz/sites//users/uia/Seminar%205_0.pdf



ĎAKUJEM ZA POZORNOST!

Sjögrenův syndrom

Markéta Haninová

Charakteristika onemocnění

- Autoimunitní onemocnění, přesná etiologie a patogeneze neznámá
- Probíhá chronicky, progreduje pomalu
- Dochází k destrukci exokrinních žláz (především slzné a slinné)
- Ženy postihuje až 9× častěji než muže

- **primární** – samostatné onemocnění
- **sekundární** – při jiném autoimunitním onemocnění (revmatoidní artritida, systémový lupus erythematodes, sklerodermie...)

Klinická manifestace

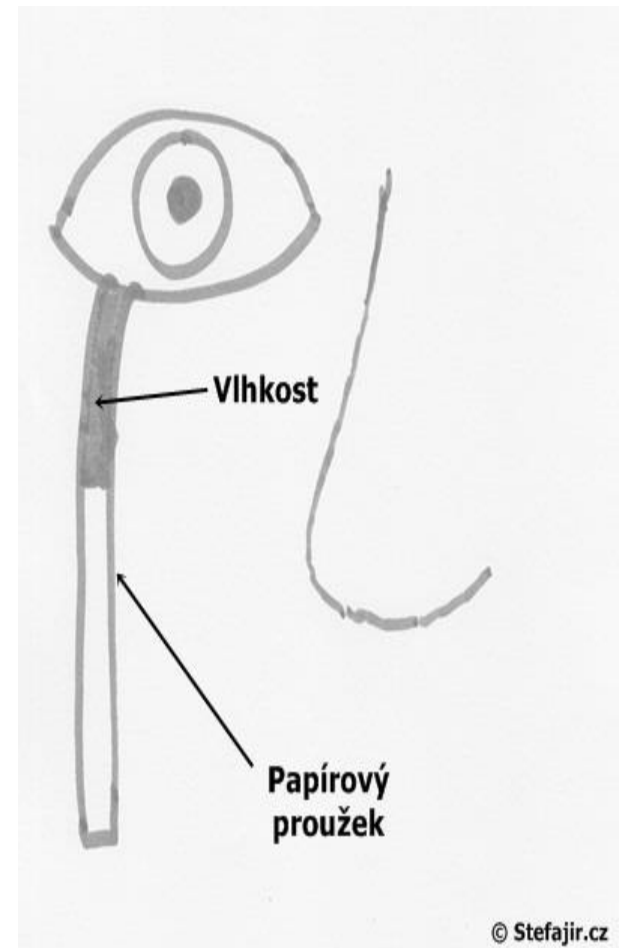
Sicca syndrom = soubor příznaků typických pro Sjögrenův syndrom

- Postižení slinných žláz:
 - zduření slinných žláz, suchost v ústech a dysfagie
 - častější zubní kazy, onemocnění dásní (chybí protektivní účinek slin)
- Postižení očí:
 - nedostatečná tvorba slz – pálení, pocit cizího tělesa v oku, světloplachost
- Postižení ostatních exokrinních žláz:
 - snížená produkce potu, suchá kůže...

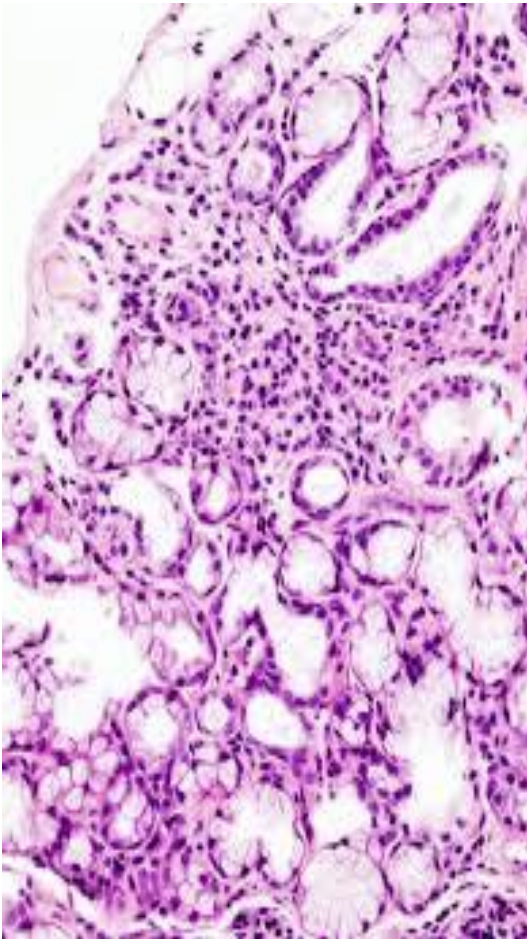
→ Příznaky závisí na tom, která žláza je postižená

Laboratorní nálezy

- Schirmerův test
 - Pod dolní víčko se vloží konec filtračního papíru a po 5 minutách se vyjme. Na papírku se hodnotí vzdálenost, do které postoupila vlhkost. U zdravého jedince by měla být delší než 10 mm → při Sjögrenově syndromu bývá kratší.



Laboratorní nálezy



- Na histologickém preparátu obvykle vidíme infiltraci žlázy lymfocyty (typicky převážně CD4+ T-lymfocyty a CD20+ B-lymfocyty)
- Lymfocytární infiltrát bývá lokalizovaný v okolí vývodů a perivaskulárně
- Hodnotí se kvantitativně – přítomnost shluků (fokusů) 50 a více mononukleárů
- Fokusové skóre = počet fokusů ve 4 mm² tkáně, hodnota 1 a více svědčí pro Sjögrenův syndrom

Laboratorní nálezy



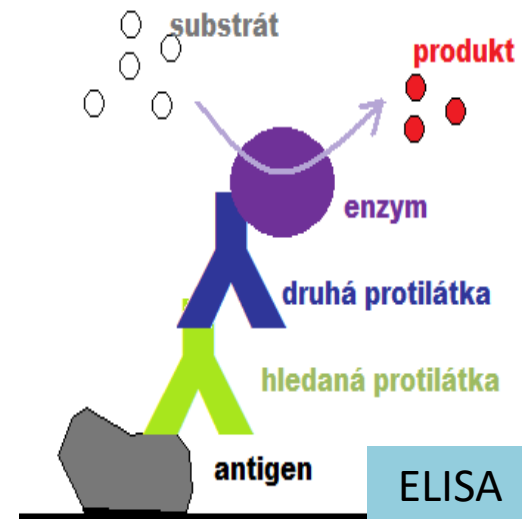
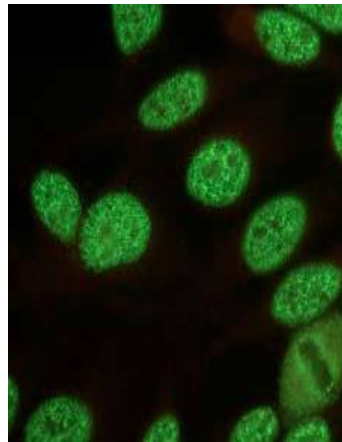
- V séru orgánově nespecifické protilátky:
 - antinukleární protilátky – ANA (80 % případů)
 - revmatoidní faktor – RF (50-80 % případů)
- Protilátky specifické pro Sjogrenův syndrom (SS):
 - anti-SS-A (též označována jako anti-Ro)
 - anti-SS-B (neboli anti-La)
 - nemusí být přítomny vždy

Titration of antibodies is usually proportional to symptoms
- Další nálezy: cytopenie, zrychlená sedimentace erytrocytů, vysoká hladina gamaglobulinů v séru

Stanovení protilátek

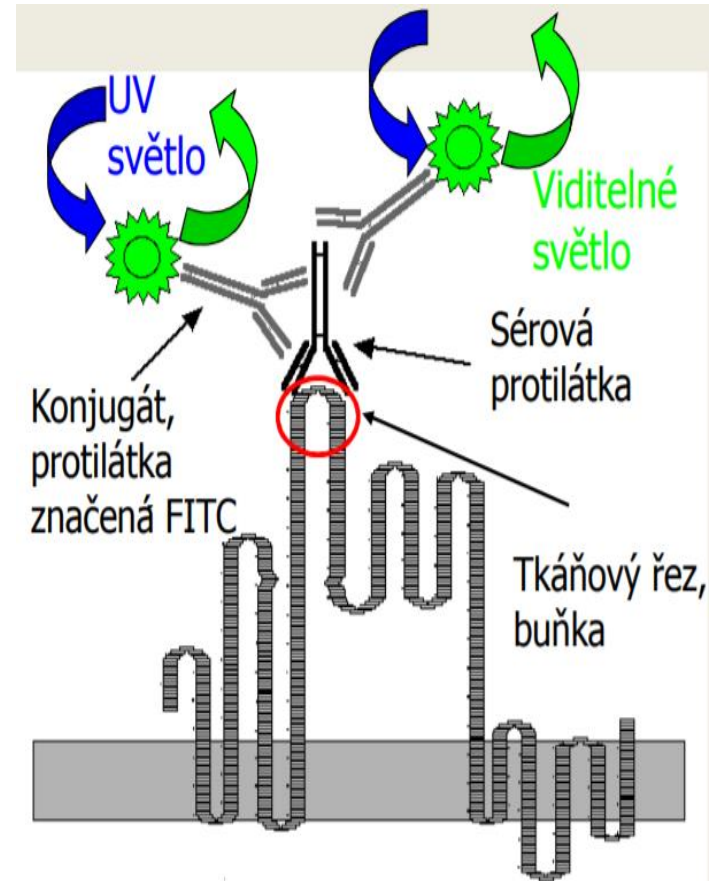
- ANA – nepřímá imunofluorescence, bližší určení ELISA, imunoblot
- Anti-SS-A, anti-SS-B – imunoblot, ELISA
- RF – aglutinace, nefelometrie, ELISA

ANA - jemná
zrnitá
fluorescence
typická pro anti-
SS-A, anti SS-B



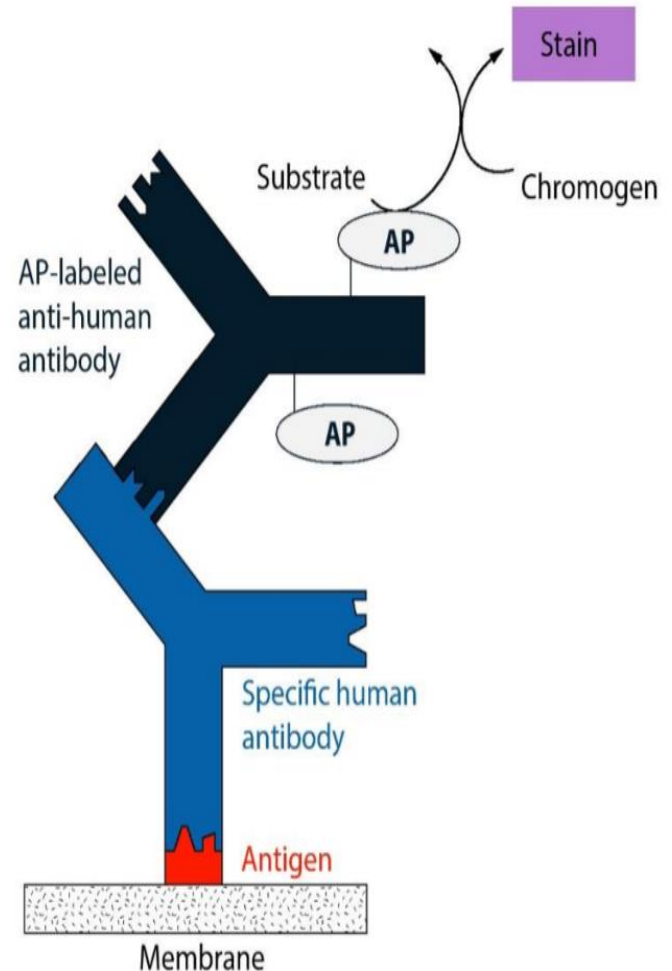
Nepřímá imunofluorescence

1. Vyšetřované sérum inkubujeme na sklíčku se substrátem, který nadměrně exprimuje specifický antigen – obsahuje-li autoprotlátku, naváže se na antigen
2. Nenavázané protilátky se odstraní promytím
3. Přidá se sekundární protilátka konjugovaná s fluorochromem (např. FITC), která se naváže na patientskou autoprotlátku
4. Fluorescenci vyhodnocujeme ve fluorescenčním mikroskopu



Imunoblot

- Proteiny elektroforeticky rozděleny v gelu – přenos na nitrocelulózovou membránu (blotting), rozstříhání membrány na proužky, každý protein (protilátka) má na proužku od výrobce definovanou polohu
- vizualizace pomocí enzymu štěpícího substrát -> barevný proužek na stripu



Léčba

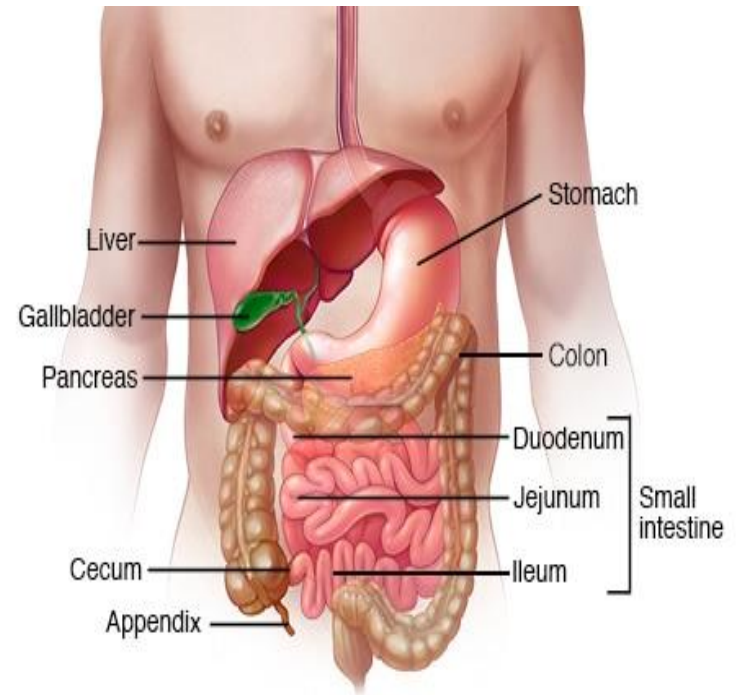
- Režimová opatření, symptomatická léčba, například:
 - Častější pití
 - Umělé slzy
 - Lubrikační gely
 - Syntetické trávicí enzymy



Crohnova nemoc

Crohnova choroba

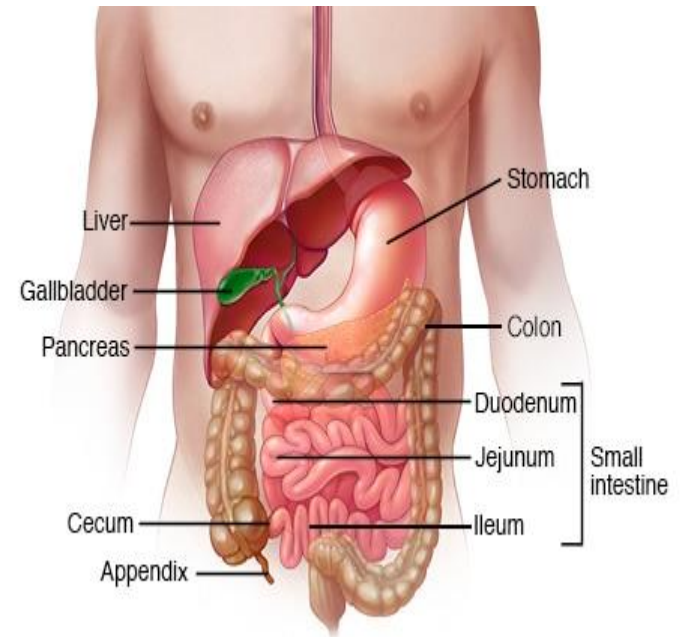
- Jedná se o autoimunitní onemocnění, kdy organismus napadá vlastní buňky střeva.
- Patří mezi střevní záněty.
- Příčiny nemoci nejsou doposud známé.
- Výskyt choroby je však častější ve vyspělých zemích a z toho důvodu je pravděpodobné, že spouštěčem je stres, nezdravá strava i genetika.



© MAYO FOUNDATION FOR MEDICAL EDUCATION AND RESEARCH. ALL RIGHTS RESERVED.

Klinické příznaky

- Hlavními příznaky Crohnovy nemoci jsou:
- bolest v podbřišku
- průjem
- krev ve stolici
- hubnutí
- únava
- kloubní záněty
- výskyt aftů v dutině ústní



Diagnostika

- Nemoc je nejčastěji diagnostikována v období dospívání a rané dospělosti mezi 20. a 35. rokem věku.
- Při podezření na crohnovu chorobu se mohou provádět následná vyšetření:
 - Endoskopie + histologie
 - Diagnostické zobrazení (MRI)
 - Laboratorní vyšetření



Protilátky proti *Saccharomyces cerevisiae* (anti-ASCA)

- Stanovení protilátek proti *Saccharomyces cerevisiae* spolu se stanovením protilátek pANCA (perinukleární protilátky proti cytoplazmě neutrofilů) slouží jako diagnostický a diferenciační marker střevních onemocnění (ulcerózní kolitida x Crohnova choroba).
- Protilátky ASCA reagují s mannanem, který je obsažený v buněčné stěně kvasinek, nejde o autoprottilátky, ale jsou pro Crohnovu chorobu vysoce specifické, nezpůsobují klinické příznaky
- Protilátky se vyskytují v 60–80 % u pacientů s tímto onemocněním.

Laboratorní vyšetření

- Krevní testy
 - Protilátky ASCA jsou pozitivní u 60–70 % lidí s Crohnovou chorobou, u 2% u zdravé populace
 - Protilátky pANCA se dají najít u 60–80 % lidí s ulcerózní kolitidou a u 10–15 % osob s Crohnovou chorobou
 - Genetické vyšetření - bylo identifikováno několik chromosomových oblastí, které vykazují možnou spojitost s náchylností ke vzniku Crohnovy choroby (např. na chromosomu 5p13.1, 6p21)
- Vyšetření stolice
 - Kalprotektin – slouží k zjištění akutního zánětu střev

- V laboratoři se stanovují protilátky ASCA ve třídě IgG a IgA metodou ELISA.
- Přítomnost ASCA a chybění pANCA protilátek v séru má 37% senzitivitu a 100 % specificitu pro Crohnovu chorobu.
- Intenference – protilátky proti *S. cerevisiae* se zvyšují u pacientů s mykózami (gynekologické mykózy)

| | ASCA IgG | ASCA IgA |
|--------------------|-----------------|-----------------|
| Negativní výsledek | < 10,0 kU/l | < 10,0 kU/l |
| Pozitivní výsledek | ≥ 10,0 kU/l | ≥ 10,0 kU/l |

Léčba

- Medikametózní a chirurgická
- Při prvních projevech se nasazují antibiotika
- V dlouhodobé terapii se se používají kortikosteroidy
- Ve vážných případech imunosupresiva
- Biologická léčba
- Chirurgický zákrok – v případě ohraničeného místa zánětu



Diabetes mellitus 1.typu

Diabetes mellitus (DM)

obecná charakteristika

- predstavuje skupinu chronických metabolických ochorení charakterizovaných hyperglykémiou, ktorá vzniká v dôsledku absolútneho či relatívneho nedostatku inzulínovej sekrécie, nedostatočného účinku inzulínu, či ich kombináciou
- tri základné typy:
 - 1.typu
 - 2.typu
 - gestačný DM

Klinické prejavy

1. Klasické príznaky diabetu - smäd, polydipsia a polyúria, ktoré sú priamy následok hyperglykémie, rovnaké tak ako chudnutie, únava a problémy so zrakom
2. Hyperglykemické stavy s poruchou vedomia - môže byť taktiež následkom hypoglykémie pri terapii
3. Náchylnosť na infekcie
4. Mikrovaskulárne a makrovaskulárne komplikácie – pri dlhodobej dekompenzácii

prítomnosť klasických príznakov DM

- náhly začiatok
- vznik v mladšom veku
- polyúria
- smäd
- chudnutie
- acetón v moči
- C-peptid nie je dokázateľný
- imunologické markery protilátky proti GAD, ICA, IA-2 a IA-2 β
- genetické markery (DR3, DR4)



DM typ 1

Obečné vyšetrenia DM

- Stanovenie glykémie
 - Odber krvi nalačno – min. 8h lačnenie
 - Stanovenie zo žilnej krvi – plazma
 - Spracovať do 60 min po odbere

referenčné rozmedzie:
3,9 – 5,6 mmol/l

< 5,6 mmol/l.....Diabetes mellitus môžeme vylúčiť

5,6 – 6,9 mmol/l.....zvýšená glykémia (prediabetes),
nutné spraviť oGTT

≥ 7,0 mmol/l.....Diabetes mellitus (opakovane)

Ako marker pretrvávajúcej hyperglykémie sa používa stanovenie glykovaného hemoglobínu.

- Stanovenia glukózy o-toluidinom boli nahradené rýchlymi enzymatickými metódami:
- s hexokinázou (HK) a glukóza-6-fosfátdehydrogenázou (G6PD)
- ale aj glukózaoxidázou (GOD) a peroxidázou (POD)

Laboratórny nález

- hyperglykémia $> 5,6$ mmol/l
- pokles pH až k 6,8
- zníženie K^+ u polyúrie
- zvýšenie K^+ u oligúrie či ťažkého katabolizmu
- zníženie Na^+ a deplécia fosfátov
- zvyšuje sa urea u oligúrie alebo anúrie

DM1.typu

- dochádza k zničeniu miesta produkcie inzulínu = β -buniek pankreatických ostrovčekov

Príčina?

- Deštrukcia β -buniek Langerhansových ostrovčekov pankreasu je spôsobená vo väčšine prípadov autoimunitným procesom (tzv. inzulitídou) u geneticky predisponovaných osôb

Spúšťací mechanizmus?

- Styk s infekčným alebo toxickým agens

Podstata?

- neobvyklá expresia molekúl hlavného histokompatibilného komplexu (MHC) na β -bunkách, ktoré následne pomocné T lymfocyty a makrofágy rozoznávajú ako organizmu cudzie

Diagnostika

- porucha acidobázickej rovnováhy (Ketoacidóza: pri zvýšenej dodávke voľných mastných kyselín do pečene pri dekompenzovanom diabetes mellitus 1. typu, kedy sa mastné kyseliny zvýšene metabolizujú na ketolátky)
- nulová koncentrácia C-peptidu (pri úplne rozvinutom diabete),
- väčšinou autoprotiátky proti glutamátdekarboxyláze (anti-GAD),
- protilátky proti bunkám ostrovčekov (ICA),
- protilátky proti povrchu buniek ostrovčekov (ICSA).

Ďalšie vyšetrenia

- hladina inzulínu, C-peptid, stanovenie protilátok (ICA, IAA, anti-GAD) a antigény HLA

Doplňujúcim vyšetrením môže byť tiež stanovenie

- tukov, chloridov, osmolality, urey, kreatinínu, amylázy, horčíka, vápnika, fosforu, C-reaktívneho proteínu

Stanovenie protilátok

ICA (Protilátky proti bunkám Langerhansových ostrovčekov)

- Polyklonálne protilátky (svojim paratopom sú namierené proti viacerým epitopom rôznych antigénov)
- ICA sú z veľkej časti tvorené autoprotiilátkami proti GAD a IA-2
- ICA sú pozitívne u 70-80% pacientov s novo diagnostikovaným DM 1.typu
- V období po potvrdení diagnózy pozitivita pomaly klesá. Po desiatich rokoch je na ICA pozitívnych približne 5% pacientov
- *Metóda stanovenia:* nepriama imunofluorescencia, ELISA

ICA sa objavujú už pred samotnými klinickými prejavmi (mesiace, roky) ⇒ predvídanie vzniku choroby u prvostupňových príbuzných

IAA (Autoprotilátky proti inzulínu)

- obyčajne prvým laboratórnym znakom autoimunitnej inzulinídy
- u prediabetikov, ktorým nikdy nebol aplikovaný inzulín, reagujú s endogénnym inzulínom
- U pacientov liečených inzulínom reagujú s exogénnym inzulínom
- IAA sa u pacientov s DM1 na začiatku ochorenia vyskytujú častejšie u detí (približne 60% pozitivita), než u dospelých (vzácnosť)
- Po klinickom prejavení ochorenia môžu vymiznúť
- IAA sa objavujú ešte v preklinickom štádiu DM1
- Riziko rozvoja DM-1 u príbuzných s pozitivitou IAA je obdobné ako u príbuzných s pozitivitou ICA
- *Metóda stanovenia:* rádioimunoanalýza (RIA)

Anti-GAD (autoprotílátky proti glutamátdekarboxyláze)

- GAD je intracelulárny enzým, ktorý sa za fyziologických okolností nenachádza na povrchu β -buniek
- katalyzuje premenu kys. glutámovej na γ -aminomaslovú kyselinu (GABA) - pôsobí ako inhibičný neurotransmitter v mozgu a podieľa sa na uvoľňovaní inzulínu zo sekrečných granúl
- GAD je ako autoantigén viac rozpoznávaný v predklinickom období DM1 a naopak u novo diagnostikovaných pacientov (už s klinickými príznakmi) je imunitným systémom lepšie tolerovaný
- koncentrácia GAD v sére u pacientov:
 - s predklinickým DM1 \uparrow vyššia koncentrácia
 - novo diagnostikovaným DM1 \downarrow nižšia koncentrácia
- *Metóda stanovenia*: rádioimunoanalýza (RIA), ELISA

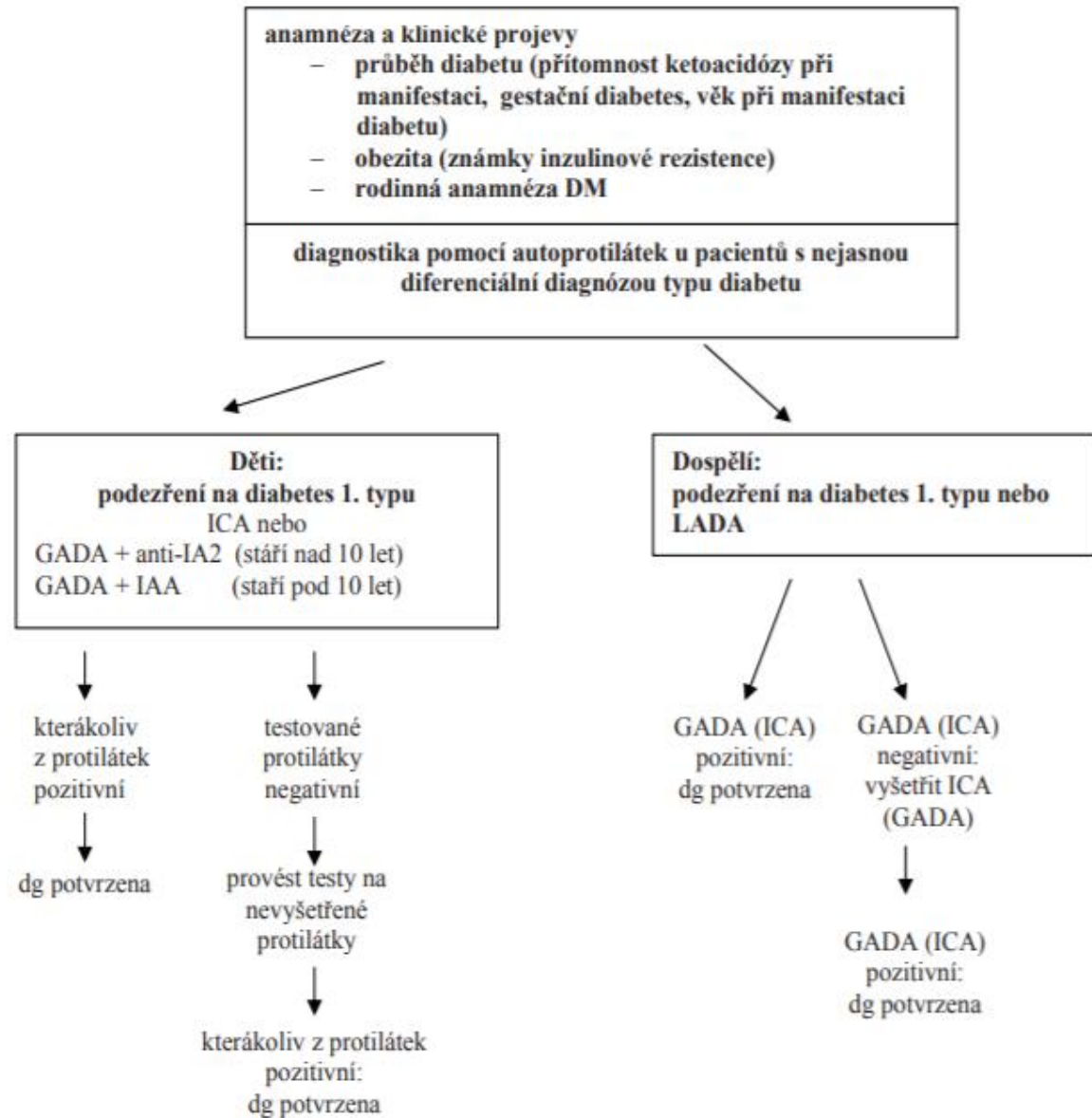
IA-2 (Protilátky proti ostrovčekovému antigénu)

- skupina proteínov tyrozinových fosfatáz
- V molekulárnej štruktúre je niekoľko autoantigenných oblastí
 - juxtamembránová oblasť IA-2
 - PTP doména IA-2
 - PTP doména IA-2 β
- Autoprotilátky tvoriace sa na začiatku ochorenia sú namierené predovšetkým proti juxtamembránovej doméne IA-2
- Pri diagnostikovanom DM1 sa rozpoznávajú PTP domény
- Protilátky proti IA-2 sú prítomné u 48-80 % recentne diagnostikovaných pacientov s DM1
- riziko rozvoja DM1 u príbuzných s pozitivitou IA-2 je 81 % behom 5 rokov
- *Metóda stanovenia:* rádioimunoanalýza (RIA), ELISA

Zhrnutie diagnostiky protilátok

- Na odlíšenie medzi jednotlivými typmi DM
- Taktiež sa dá použiť pre odhadnutie veľkosti rizika rozvoja DM1 u predisponovaných osôb
- Pri manifestácii autoimunitného diabetu 1. typu je u takmer 95% chorých pri prvom záchyte dokázaná pozitivita jednej či niekoľko autoprotilátok súvisiacich s diabetom 1. typu
- U pacientok s gestačným DM pomáha identifikovať osoby s vysokým rizikom rozvoja DM1

Schéma sérologickej autoimunitní diagnostiky u diabetu mellitu upraveno podle (2 a 3)



Liečba

- Liečba prebieha exogénnym prívodom chýbajúceho inzulín
 - Inzulínové pero
 - Inzulínová pumpa



- Monitorovanie glykémie: glukometer

Sclerosis multiplex

Filip Holík

Definice a podstata

Definice:

- autonomní onemocnění bílé hmoty CNS
- vede ke ztrátě myelinu v zánětlivých ložiscích a k difuzní ztrátě axonů

Podstata:

- Není známá, ale předpokládá se účast genetické predispozice souhrnně se zevními faktory, taktéž spouštěčem může být virová či bakteriální infekce nebo stres

Klinické projevy

- optická neuritida
- parestézie
- motorické poruchy
- mozečkové poruchy
- ataxie (porucha hloubkového cití)
- vertigo
- sfinkterové poruchy
- poruchy vyprazdňování
- únava
- sexuální poruchy

Laboratorní nálezy související s poruchou hematoencefalické bariéry

- při porušené hematoencefalické bariéře (choroideální plex + endotel kapilár) nacházíme v likvoru zvýšené množství celkové bílkoviny, albuminu a mononukleárů
- pomocí difuze dochází k transportu proteinů ze séra do likvoru
- stanovujeme hladiny IgG, IgM, IgA ze séra
- zvýšená koncentrace určitého proteinu v séru má za následek zvýšení téhož proteinu v likvoru
- o stavu hematolikvorové bariéry nás informuje albuminový koncentrační gradient (Qalb – poměr koncentrace albuminu v likvoru a séru)
- koncentrace albuminu se stanovují nefelometricky
- hladiny imunoglobulinů pomocí imunoturbidimetrie, ELISA
- $Qalb \times 10^{-3}$: do 15 let < 5, do 40 let < 6,5, do 60 let < 8
- refer. meze Ig v likvoru: IgG – 12-40 mg/l, IgA – 0,2-2,1 mg/l, IgM – 0,2-1,2 mg/l

Měření intratékální syntézy IgG

=syntéza probíhající v perivaskulárně uložených B-lymfocytech, které se diferencují v plazmocyty

1) Stanovení dle IgG indexu

- charakterizuje vztah mezi koncentrací IgG ve dvou různých systémech
- nejčastěji pro posouzení intratékální syntézy IgG
- vyšetřujeme hmotnostní koncentraci IgG v mozkomíšním moku a plazmě

Oligoklonální IgG pásy

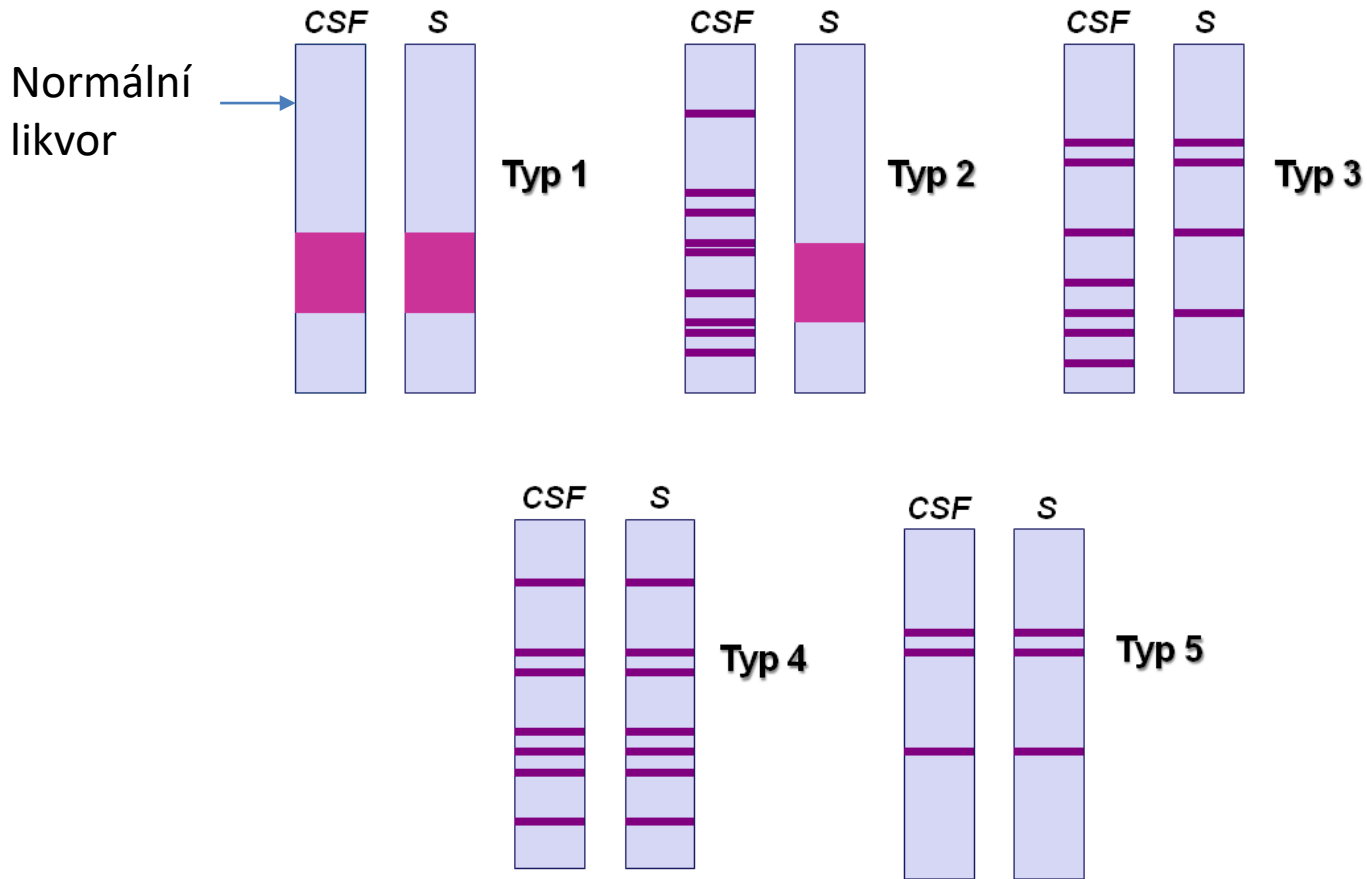
2) Stanovení oligoklonálních pruhů (u většiny):

- prokazatelným jsou minimálně 2 pruhy, které nejsou přítomny v séru
- provádí se pomocí isoelektrické fokusace s následným imunoblotem a enzymovým barvením
- pásy se nacházejí v alkalické oblasti elektroforetického pole
- u pacientů s diagnostikovanou sklerosou multiplex je stanovení pásů v 98% pozitivní při vyšetření likvoru
- velmi důležité v diagnostice Sclerosis multiplex

Dělení oligoklonálních IgG pásů

- a) **typ 1** – normální likvor
- b) **typ 2** – oligoklonální IgG pásy v likvoru
- c) **typ 3** – oligoklonální IgG pásy v likvoru a identické pásy v likvoru a séru
- d) **typ 4** – identické oligoklonální IgG pásy v likvoru a séru
- e) **typ 5** – monoklonální pásy v likvoru a séru

Oligoklonální IgG pásy



Léčba

- 1) akutní ataka:** vysoké dávky kortikoidů i. v.
- 2) prevence atak, remise:** interferon beta, glatirameracetát, azathioprin, imunoglobuliny i. v. v imunosupresivních dávkách
- 3) symptomatická léčba**

ANTIFOSFOLIPIDOVÝ SYNDRÓM (APS)

Horváth Július
ZDRL_17, JARO 2020

Príčina ochorenia

- APS je autoimunitné ochorenie a hyperkoagulačný, získaný trombofilný stav, vyvolaný tvorbou antifosfolipidových protilátok, ktoré sú zamerané na fosfolipidy nachádzajúce sa v povrchových štruktúrach buniek (membránach) a krvných doštičkách. [1]
- Syndróm je nazývaný podľa charakteristickej prítomnosti autoprottilátok, označovaných ako **antifosfolipidové (APA)**, alebo **antifosfoproteinové** či **fosfolipid dependentné**.
- samotné **fosfolipidy nie sú** vzhľadom k veľkosti ich molekuly imunogenné. [2] (nevyvolávajú tvorbu antifosfolipidových protilátok) * viz poznámka
- Proces akým protilátky zasahujú do krvného zrážania nie je zatiaľ úplne objasnený [1]
- Fosfolipidy po naviazaní sa na „nosičský“ protein (napr. beta2-glykoprotein1) v tele pacienta menia jeho konformačnú štruktúru. Táto zmena konformácie spôsobí odhalenie imunodominantných epitopov, ktoré boli doposiaľ skryté, normálne nedostupné. Proti odhaleným epitopom telo produkuje antifosfolipidové protilátky. Fosfolipidy proti ktorým môžu vznikať protilátky: KARDIOLIPIN, FOSFATIDYLSERIN, ETANOLAMIN, KYSELINA FOSFATIDOVÁ, BETA-2 GLYKOPROTEIN [3]

Prejavy ochorenia I

Autoimunitné APA:

- telo vytvára autoprotiľátky v „SELF“ reakcii na vlastné antigény. V roli antigenov vystupujú telu vlastné fosfolipidy.
- patogenetické mechanizmy doprevádzané hematologickými klinickými prejavmi (žilné či arteriálne trombózy, trombocytopénia, autoimunitná hemolytická anémia - AIHA)
- komplikácie pri gravidite – trombóza placentárnych ciev, preeklampsia – tehotenská toxikóza, opakované aborty
- GIT manifestácia – Buddov-Chiariho syndróm – trombóza pečeňových žíl, ktorá znemožňuje odtok krvi (vzácne ochorenie 1:1 000 000) ^[4]
- Neurologické prejavy – cievna mozgová príhoda (CMP) , migrenózne stavy, epilepsie

Katastrofický APS (CAPS) :

- Fulminantný, život ohrozujúci stav, rozsiahle trombotické poškodenie viacerých vnútorných orgánov

Prejavy ochorenia II

Alloimunitné APA (izoprotilátky) * viz poznámka

- Telo vytvára protilátky v „NONSELF“reakcii na tzv. aloantigeny, čo sú antigeny iného jedinca toho istého druhu (napr. krvné skupiny)
- prechodný výskyt pri infekčných ochoreniach:
 - vírusové infekcie (EBV - virus Epsteina aBarrové, HSV – herpes simplex virus)
 - bakteriálne infekcie (lues, lymská borelióza, tuberkulóza)
- prítomnosť vo vyšetrovanom sére bez klinických príznakov APS
- výskyt takýchto protilátok stúpa s vekom a nachádzajú sa u 0,5 - 5 % zdravej populácie [1]

* Aloimunita je imunitná odpoveď organizmu na antigeny cudzieho tkaniva (aloantigeny). Aloantigeny sú antigeny iného jedinca rovnakého druhu. Aloprotilátky (aloimunitné protilátky) sú protilátky proti aloantigénom. (VOKURKA M., HUGO J. et al. Velký lékařský slovník. 8. vydání. Maxdorf, 2008.)

Základné APA pozorované u APS:

- **LA** (lupus antikoagulans) – koagulačné testy
- **ACLA** (antikardiolipinové) – imunoenzymatické testy (ELISA) * viz poznámka
- **Protilátky proti β_2 -GP1** (beta2 – glykoprotein 1) - ELISA
- Tieto protilátky sú zodpovedné za zvyšovanie rizika rozvoja opakovaného nekontrolovaného krvného zrážania ako v žilách, tak v tepnách. Závažnosť príznakov a komplikácii môže kolísať od miernych až po kritické v podobe katastrofického antifosfolipidového syndrómu (CAPS) s vysokou mortalitou. [2]

Vyšetrenie hematologických lab. kritérii

LUPUS ANTIKOAGULANS - LA (koagulačné testy)

- LA je veľmi heterogénna skupina APA, ktorá **in vitro** ovplyvňuje **fosfolipid dependentné koagulačné reakcie**. Môžu ovplyvňovať pochody na rôznych úrovniach koagulačnej kaskády, podľa uplatnenia fosfolipidových povrchov v krvnom zrážaní. [5]

- antigénny cieľ: **β 2 glykoprotein 1** alebo **protrombin**

- požiadavok na vyšetrenie: **bezdoštičková plazma**,

(Pri zle spracovaných vzorkách je značne vysoké percento falošne pozitívnych výsledkov) !!!

- APA predlžujú test aPTT * viz poznámka, pričom v klinickom prejave nie je prítomný krvácivý stav, ale naopak zvýšené riziko trombotických komplikácií[2]

* aPTT = aktivovaný Parciálny Tromboplastinový čas (Time) – test na vyšetrenie koagulácie krvi. Realizuje sa s dekalifikovanou plazmou (z krvi odobranej do citrátu). Test napodobňuje tzv. vnútorný systém aktivácie K plazme sa pridáva kaolin a fosfolipidy, koagulácia sa spúšťa vápnikom. Meria sa čas, za ktorý dôjde ku koagulácii.1 VOKURKA M., HUGO J. et al. Velký lékařský slovník. 8. vydání. Maxdorf, 2008.

Vyšetrenie imunologických lab. kritérií

I

Antikardiolipinové protilátky (ACLA):

- **kardiolipin** – patrí do skupiny negativne nabitých fosfolipidov, ktoré sú súčasťou biologických membrán
- dôležité vyšetrenie pri diagnózach cievnych mozgových príhod (CMP) alebo infarktu myokardu (IM) u mladších dospelých
- symptomatologia migrény, opakované CMP
- rutinne, kvantitatívne sa stanovujú ACLA protilátky v triedach IgM, IgG a IgA. V prípade pozitivity je doplnené vyšetrenie na iné fosfolipidy (APLA):
(anti-fosfatidylserin, anti-fosfatidylinositol v triedach IgM a IgG) [3]
- Protilátky ktoré sa uplatňujú v mechanizmoch **progresívneho štádia APS** sú prevažne **v triede IgG**. [5]
- Pozitívny výsledok vyšetrenia protilátok **v triede IgM** je dobrým indikátorom pre **začínajúce autoimunitné ochorenie**. [3]

Vyšetrenie imunologických lab. kritérií

II

Protilátky proti β_2 –glykoproteínu1:

- semikvantitatívne stanovenie s určením tried IgM, IgG
 - Protilátky stanovené v triede IgG:
Klinický stav pacienta s trombózou a pacientky s opakovanými potratmi [3]
 - Protilátky stanovené v triede IgM:
Klinický stav pacienta s trombózou a trombocytopéniou [3]

Diagnostické kritéria APS

| Klinické kritéria | | Laboratórne kritéria | |
|-------------------------|---|-------------------------|--|
| Trombotické komplikácie | Jedna a viac arteriálnych alebo venózných trombóz. | LA | Kritériom je opakované preukázanie protilátok min. 2x v odstupe šiestich týždňov |
| Tehotenské komplikácie | Preeklampsia, insuficiencia placenty, nevysvetliteľné potraty | AC LA alebo beta2GP1 | Nutné opakované preukázať min. 2x v odstupe šiestich týždňov v strednom alebo vysokom titre (nad 20 IU/ml) izotyp IgG alebo IgM |

Pre stanovenie diagnózy je potrebný súčasný výskyt aspoň jedného klinického a jedného laboratórného kritéria

Súvislosti s inými ochoreniami:

- SLE (systémový lupus erytematodes) – detekujeme prítomnosť APA, tzv. sekundárny APS
- Nízke hladiny APA:
 - HIV+ pacienti
 - pacienti s niektorými nádorovými ochoreniami
 - starší dospelý pacienti
 - prechodný výskyt u pacientov s infekčným ochorením, protilátky obvykle v triede IgM ^[5]
 - medikamentózne liečený pacienti (fenothiaziny, prokainamid)
- APS sa môže prejaviť u každého, najčastejšie však postihuje ženy v produktívnom veku
- APS Môžeme považovať za najčastejší získaný trombofilný stav ^[1]

Použité skratky

IM – infarkt myokardu, (niekedy aj AIM – akútny infarkt myokardu)

β 2 GP1 – beta2 glykoprotein 1

AIHA – autoimunitná hemolytická anémia, patrí medzi získané hemolytické anémie

CMP – cievna mozgová príhoda

aPTT – aktivovaný Parciálny Tromboplastinový čas (Time)

LA – lupus antikoagulans

ACLA – antikardiolipinové protilátky

APLA – protilátky proti fosfolipidom

APS – antifosfolipidový syndróm

CAPS – katastrofický antifosfolipidový syndróm

Bibliografia

- [1] Antifosfolipidový syndrom | Lab Tests Online. In: [cit. 29.04.2020]. Dostupné z: <https://www.labtestsonline.cz/antifosfolipidovy-syndrom.html>
- [2] HLUŠÍ, Antonín a Věra KRČOVÁ. Antifosfolipidový syndrom. *Interní medicína pro praxi* [online]. Interní medicína pro praxi, 2005, roč. 5, č. 9, s. 434-436 [cit. 24.04.2020]. ISSN 12127299, 18035256. Dostupné z: <https://solen.cz/pdfs/int/2003/09/02.pdf>
- [3] VLKOVÁ Marcela, Alergické a autoimunitní choroby ppt. Dostupné online z: https://is.muni.cz/el/med/jaro2018/MBKI081p/um/15_Imunologie_magistri_Alergicke_a_autoimunitni_choroby_pro_studenty.pdf
- [4] ŠTEFÁNEK, Jiří. *Medicína, nemoci, studium na 1. LF UK* [online]. In: [cit. 03. 5. 2020]. Dostupné z: <http://www.stefajir.cz/index.php?q=budd-chiariho-syndrom>
- [5] KREJSEK, Jan a Otakar KOPECKÝ. *Klinická imunologie*. Hradec Králové: Nucleus HK, 2004. ISBN 978-80-86225-50-0.

Hashimotova thyreoiditida

Nikola Kimmelová, LF MUNI

Hashimotova thyreoiditida

- jedná se o chronické autoimunitní zánětlivé onemocnění štítné žlázy
- vyskytuje se as u 5 % populace s převahou žen (4:1)
- je nejčastější příčinou hypothyreózy v oblastech s dostatečným zásobením jódem

Etiopatogeneze

- příčina je neznámá (multifaktoriální)
- imunopatologie IV. typu
- dochází k infiltraci tkáně štítné žlázy T-lymfocyty a plazmatickými buňkami, které způsobí destrukci tkáně, žláza je nahrazena vazivovou tkání a to vede k nedostatečné produkci hormonů (hypotyreóze)

Klinický obraz

- většinou dlouhou dobu probíhá asymptomaticky
- nejdůležitějším příznakem je hypotyreóza
- v počátcích se může vyskytovat difúzní struma (většinou nebolestivá)
- poté dochází ke zmenšení štítné žlázy (atrofizaci)
- příznaky: přibývání na váze, pocity chladu, únava, deprese, suchá kůže, poruchy paměti a koncentrace

Laboratorní stanovení

- stanovení funkce štítné žlázy: TSH (↓), fT4 (tyroxin) a fT3(trijodtyronin) (↑)
- průkaz zvýšené hladiny protilátek proti tyreoperoxidáze (TPOAb) a proti tyreoglobulinu (TgAb)
- zvýšená hladina protilátek značí autoimunitní poškození štítné žlázy (tyreoperoxidáza v 90 % poz., tyreoglobulin v 40 - 70 % poz.)
- stanovení protilátek ELISA metodami

Léčba

- Substituční léčba tyroideálními hormony při hypotyreóze
- Podávají se syntetické hormony (levotyroxin)



■ Zdroje:

- https://cs.wikipedia.org/wiki/Hashimotova_tyroiditida [online]. [cit. 2020-04-28].
- <https://www.labtestsonline.cz/hashimotova-tyreoiditida.html> [online]. [cit. 2020-04-28].
- [https://www.wikiskripta.eu/w/Chronick%C3%A1_\(autoimunitn%C3%AD\)_tyreoiditida](https://www.wikiskripta.eu/w/Chronick%C3%A1_(autoimunitn%C3%AD)_tyreoiditida) [online]. [cit. 2020-04-28].
- <https://www.anamneza.cz/nemoc/Hashimotova-nemoc-Hasimotova-nemoc-Chronicka-tyreoiditida-11025> [online]. [cit. 2020-04-28].

Graves-Basedowova choroba

Lucie Konečná

Příčina onemocnění

- Přesná příčina vzniku této choroby není zcela jasná
- Velkou roli hraje především genetika
- Mezi spouštěcí mechanismy patří například některá virová onemocnění, psychický stres, úrazy, podávání jódu, rychlý váhový úbytek či těhotenství.

Mechanismus onemocnění

- Autoimunitní onemocnění, při kterém se v těle tvoří **protilátky TSI (tyreoid stimulující imunoglobulin)**, které po navázání způsobují jeho **aktivaci TSH receptoru**
- Dochází tak ke zvýšené produkci hormonů štítné žlázy (tyroxin a trijodtyronin)
- Dále se tyto protilátky mohou vázat také na antigeny **v retrobulbárním prostoru, v podkoží bérců a na rukách a nohách.**

Klinická manifestace

- **Hypertyreóza** (nadměrná produkce hormonů štítné žlázy), často ji také doprovází také **struma** neboli zvětšení štítné žlázy
- **Tyreotoxikóza, kterou doprovází:**
 - nervozita, nesoustředěnost
 - zvýšená teplota, pocení, intolerance tepla, úbytek váhy, zvýšená chuť k jídlu
 - zvýšená aktivace sympatiku – tachykardie, palpitace, dysrytmie, hypertenze
 - zvýšená motilita GIT, průjmy, úbytek váhy
 - hyperreflexie, jemný třes rukou
- **Endokrinní orbitopatie**
 - otok měkkých tkání za bulbem způsobující **exoftalmus** („vypoulení očí“)
- **Pretibiální myxedém**
 - vzácný příznak, jedná se o podkožní edém s následnou fibrotizací a porušeným odtokem lymfy
- **Akropachie**
 - paličkovité zduření posledních článků prstů rukou a nohou, otok nehtových lůžek

Diagnostika

- **Klinické příznaky** pacienta a jeho rodinná anamnéza
- Kontrola pohledem a pohmatem štítnou žlázu, kontrola očí
- **Krevní testy**, které stanoví hladiny **fT3, fT4 a TSH**, dále autoprotiátok proti **thyreoidní peroxidáze (anti-TPO)** a **anti-tyreoglobulinové protilátky (TG)**- většinou negativní
- Vyšetření štítné žlázy **pomocí ultrazvuku**

Laboratorní nálezy

- **Zvýšené sérové hodnoty fT3** (volný trijodthyronin), **fT4** (volný tyroxin)
- **Snížená hladina TSH** přítomnost protilátek TSI proti TSH-receptorům
- Zkrácení reflexu Achillovy šlachy
- Ultrazvuk štítné žlázy (snížená echogenita) a retroorbitálního prostoru

Stanovení fT3, fT4 a TSH

- Chemiluminiscence s využitím mikročástic (CMIA)
- Antigen nebo protilátka jsou navázány na paramagnetické částice
- Přidává se vyšetřovaný vzorek pacienta (vše probíhá ve vodném prostředí)
- Po promytí se přidává konjugát značený akridinem
- Následuje další promytí
- Následuje přidavek Pre-Triggeru (peroxid vodíku) a optický systém CMIA provede čtení pozadí
- Pre-Trigger vytváří kyselé prostředí a slouží k odštěpení akridiniového barviva z konjugátu navázaného na komplex mikročástice

Stanovení fT3, fT4 a TSH

- Do reakční směsi se nadávkuje Trigger (hydroxid sodný). Dojde k oxidační reakci při které z akridiniového barviva vzniká N-methylakridon a při návratu do základního energetického stavu uvolní energii ve formě emise světla - chemiluminiscence

- Měření koncentrace pomocí chemiluminiscenční emise

Referenční mez:

fT3 2,89-4,88 pmol/l

fT4 9-19 pmol/l

TSH 0,35-4,94 mIU/l

Stanovení autoprotilátek proti thyreoidní peroxidáze (anti-TPO) a anti-tyreoglobulinové protilátky (TG)

- Indikováno až v další fázi diferenciálně diagnostické rozvahy poruch štítné žlázy
- Stanovení anti-TPO má vysokou prognostickou hodnotu při sledování průběhu hypertyreózy Graves - Basedowova typu (přítomny ve vysokých koncentracích u 57–74 % pacientů)
- Stanovení protilátek anti-TPO má větší důležitost pro diagnostiku
- Protilátky proti TG jsou většinou u tohoto onemocnění negativní
- Stanovení např. pomocí ELISA

Léčba

- Jejím úkol je snížit tvorbu hormonů štítnou žlázou
- Jednou z možností je podávání **tyreostatik (thiamazol, propylthiouracil)**, na počátku léčby se podávají v kombinaci s beta-blokátory, které napomáhají zpomalit srdeční frekvenci, pocení a úzkostné pocity, které jsou tyreotoxikózou vyvolané.
- Druhou možností pokud dochází k intoleranci tyreostatik je **thyreoidektomie**. Jedná se o celkové nebo částečné odstranění štítné žlázy. Toto řešení s sebou však nese také riziko v podobě potenciálního poškození příštítných tělísek a nervů řídících hlasivky.
- Poslední možností je **užívání radioaktivního jódu**. Radioaktivita postupně ničí příliš aktivní buňky štítné žlázy. Léčba pomocí radiojódu však může vést ke zhoršení příznaků Gravesovy oftalmopatie.

Akutní hepatitidy (AIH)
= progresivní zánět jater

Michaela Krzyžanková

Příčina onemocnění

- Etiologie nejasná, ale pravděpodobně je autoimunitní hepatitida vyvolána jinými onemocněními nebo možnými spouštěcími faktory mohou být infekční agens, léky, genetika nebo toxiny.

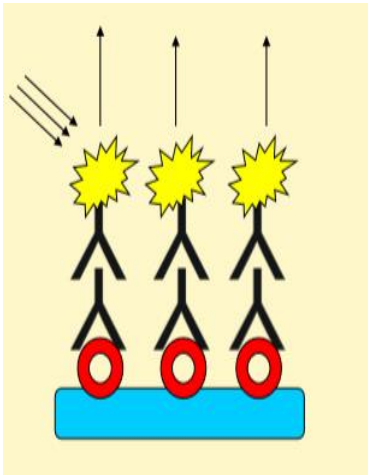
Klinické projevy

- Jde o orgánově lokalizovanou autoimunitní chorobu
- Typickými pacienty jsou mladé ženy
- Klinické příznaky bývají dlouho němé nebo nespecifické
 - Únava, bolesti hlavy, nechutenství, úbytek váhy, hepatomegalie, ikterus...
- Pacienti mohou mít také příznaky pokročilé chronické hepatitidy s jaterní cirhózou, jako ascites nebo encefalopatie
- Neléčený zánět po letech přechází v jaterní cirhózu
- Asi 20 % pacientů trpí dalšími přidruženými autoimunitními chorobami, např. systémový lupus erythematoses, Sjögrenův syndrom

Laboratorní nálezy

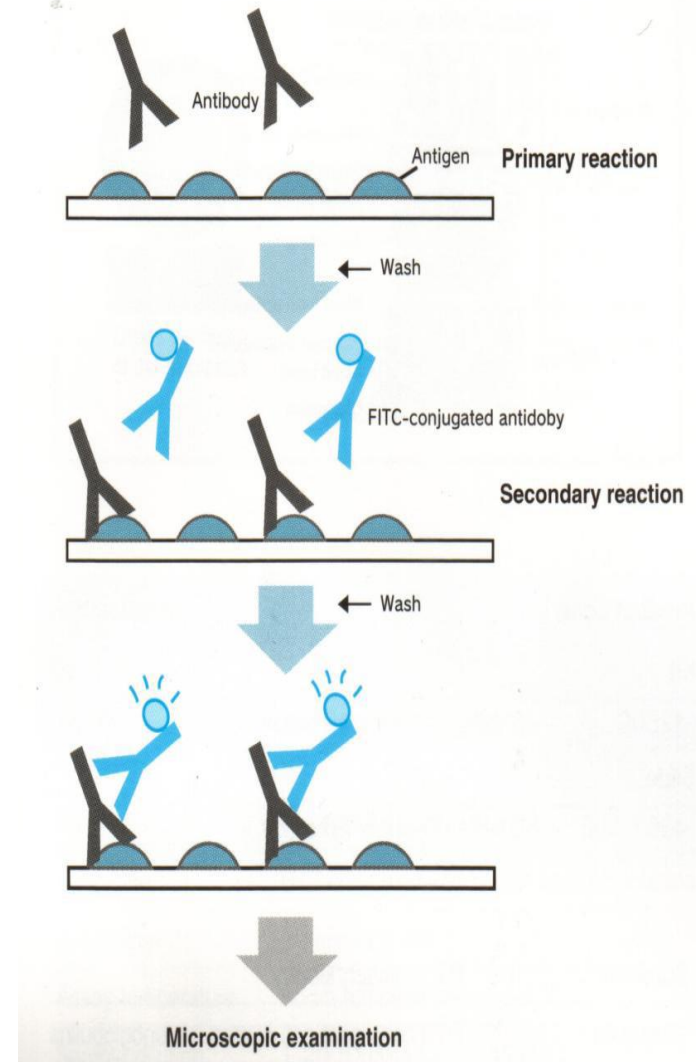
- K jednoznačné diagnóze AIH je nutné vyloučit ostatní podobné jaterní onemocnění
- Tvorba protilátek proti buňkám jater, většinou imunofluorescenční stanovení (IF) stanovení
- AIH se dle přítomnosti jednotlivých protilátek dělí na dva typy:
- **AIH I. typu**
 - Vysoká hypergamaglobulinémie, nefelometrie
 - ASMA = protilátky proti hladkému svalu (průkaz samostatně nebo s ANA) , (IF)
 - ANA = antinukleární protilátky, (IF), (nejsou specifické pro AIH, neboť se vyskytují i u řady dalších jaterních chorob)
 - ANCA = protilátky proti cytoplazmatickým antigenům neutrofilů, (IF)
 - ASLA = protilátky proti rozpustným jaterním antigenům (ELISA)
- **AIH II. typu**
 - anti-LKM-1 = protilátky proti antigenům mikrosomů, (IF, ELISA)
 - anti-LC1 = protilátky proti specifickému jaternímu cytosolovému antigenu 1 (ve 2/3 případů u II. typu) (ELISA)
- Pro AIH je typické, že protilátky bývají ve vysokém titru (často 1:320 a více) nebo současně nacházíme více druhů autoprotiátek, čímž se liší od virových hepatitid
- Zvýšené aminotransferázy, IgG > 16 g/l
- Jaterní biopsie – typický interface hepatitidy

Typický
nález pro
AIH I. typu



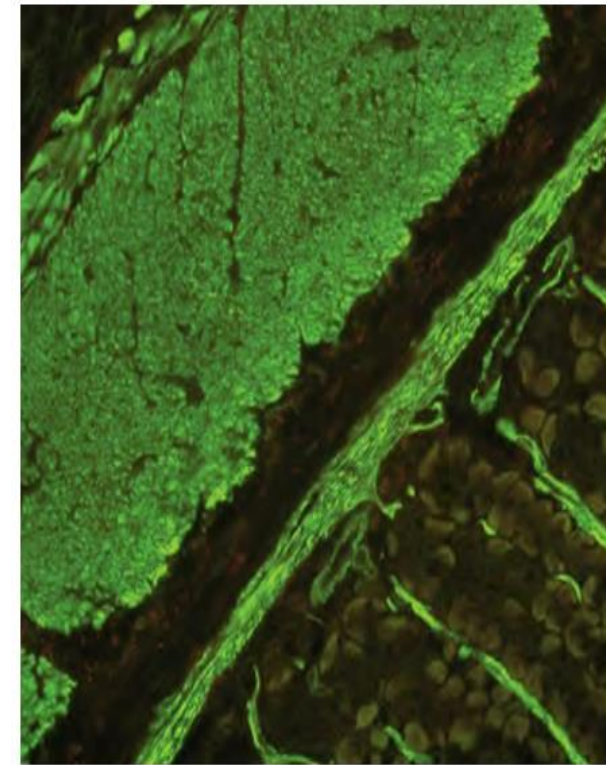
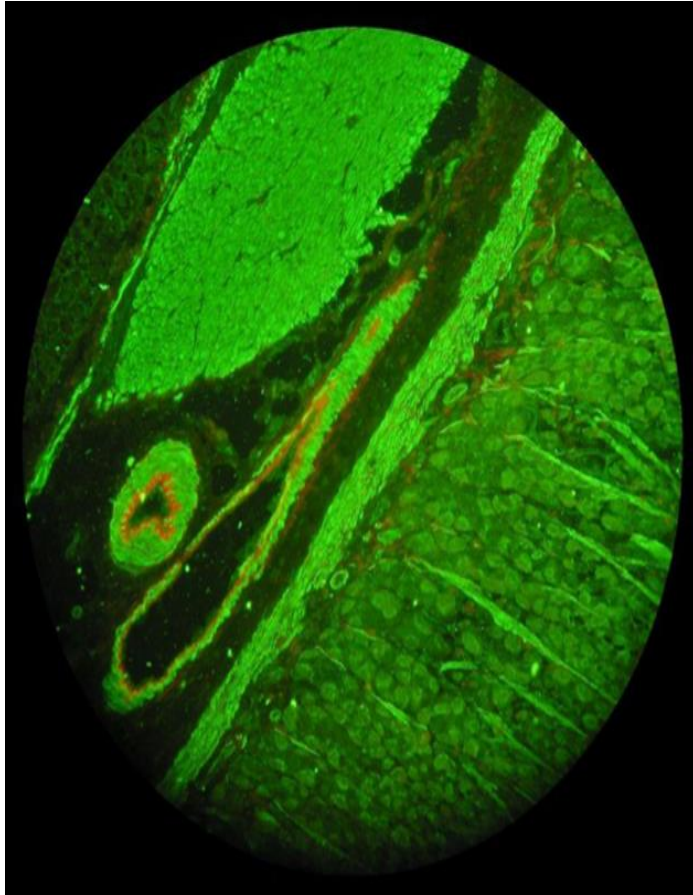
Nepřímá imunofluorescence

- Metoda stanovení protilátek, k detekci je potřeba substrát (antigen)
- substrátem je řez tkáně, buněčná substance nebo fixovaná tkáňová kultura, např. pro stanovení:
 - ANA – HEp 2 buňky-linie lidského nazofaryngeálního karcinomu
 - v případě pozitivy se provádí další vyšetření k určení specifity protilátek, např. EIA
 - ASMA – hlodavčí žaludky nebo kultury fibroblastů
 - Anti-LKM-1 – hlodavčí kryostatické řezy jater a ledvin, (žaludku)
 - ANCA – neutrofilní granulocyty
- Detekce protilátek, probíhá ve 3 krocích:
 1. protilátky z testovaného séra se navážou na antigenní substrát
 2. na tyto protilátky se potom váže konjugát = anti-lidská protilátka značená fluorochromem např. FITC
 3. pozorování fluorescenčním mikroskopem

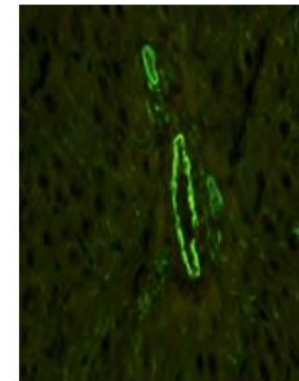


Průkaz ASMA

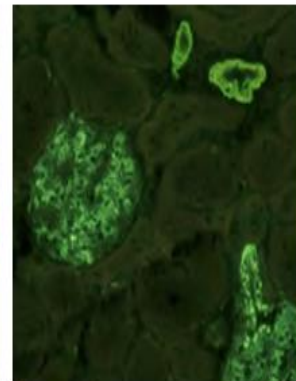
Pozitivní fluorescenční vzor ASMA



Řez kysiho žaludku



Řez krysich jater

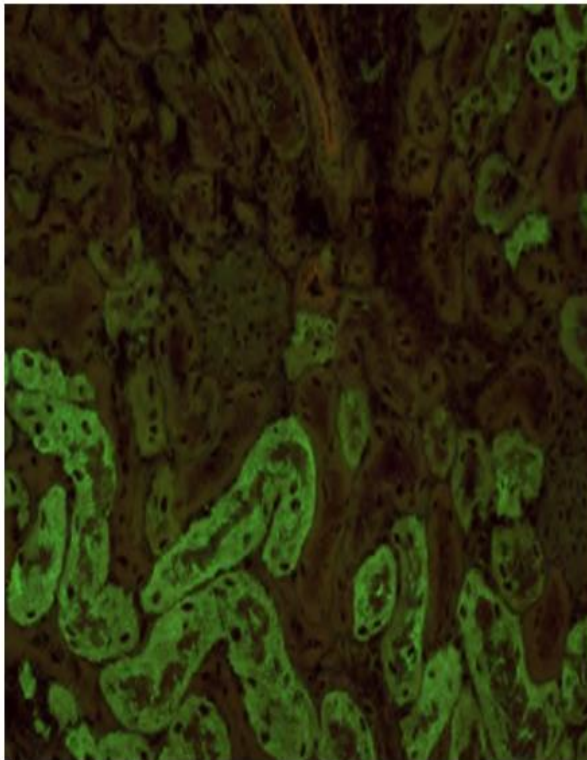


Řez krysich ledvin

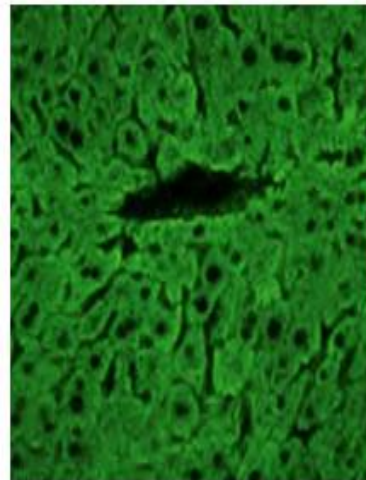
Příklad imunofluorescence
potkaního žaludku

Průkaz anti-LKM-1

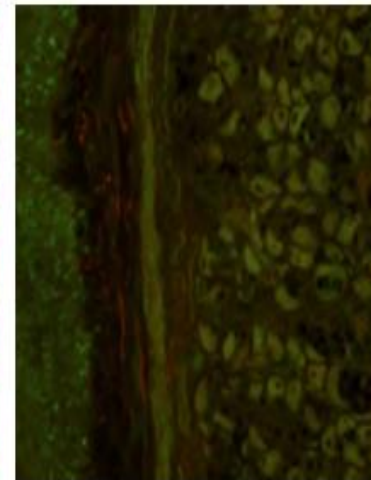
Pozitivní fluorescenční vzor LKM1



Řez krysích ledvin



Řez krysích jater



Řez krysího žaludku

Léčba

- Základem je kortikosteroid **prednison** (jeho dávka by se měla udržovat co nejnižší kvůli možnému rozvoji Cushingova syndromu = vedlejší efekt léčby)
- Kvůli nízké dávce prednisonu se léčba kombinuje s purinovým analogem **azathioprinem**
- Léčba 2-4 roky, poté snaha o vysazení

Primární biliární cirhóza

Radek Lehar

Charakteristika onemocnění

- nepurulentní destruktivní zánětlivé onemocnění interlobulárních a septálních intrahepatálních žlučovodů
- vede k duktopenii a perzistující cholestáze
- důsledkem je progresivní fibróza až jaterní cirhóza s jaterním selháním
- příčina onemocnění není známa (velmi pravděpodobně jde o imunitně zprostředkovanou chorobu - T cytotoxické lymfocyty)

Klinická manifestace

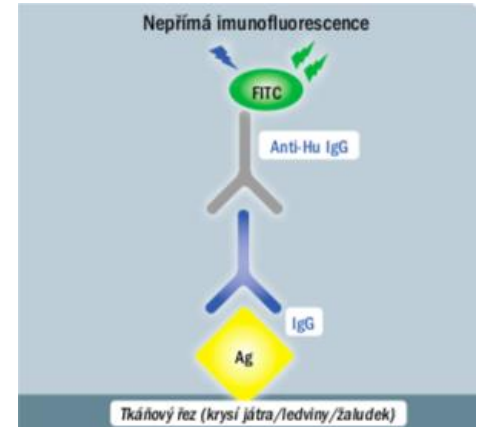
- obvykle plíživý průběh
- až 30 % nemocných bez subjektivních potíží
- pruritus s případnou únavou, tuhá a zvětšená nebolestivá játra, splenomegalie, xantelazmata (ukládání tukových látek ve tvaru žlutých plochých ložisek v kůži), hyperpigmentace, metabolické kostní choroby, renální tubulární acidóza, steatorei (nestrávené tuky ve stolici)

Laboratorní vyšetření při primární biliární cirhóze (PBC)

- vyšetření antimitochondriálních protilátek (AMA) - 9 typů, pro PBC= primární biliární cirhóza typické **AMA-M2** - *nepřímá imunofluorescence* – substrát krysí játra, ledviny žaludek,
- *Potvrzení metodou ELISA, imunoblot*
 - pozn. izolované zvýšení AMA bez cholestázy neznamena diagnózu PBC
- Pozitivita AMA protilátek se dá pozorovat i při vyšetření antinukleárních protilátek (ANA) (viz následující snímek) - nízká specifita, ale vysoká senzitivita u podtypů **anti-sp100** a **anti-gp210** = lze využít v případech negativity AMA - ANA -*nepřímá imunofluorescence, ELISA, imunoblot*
- polyklonální zvýšení IgM - (nespecifické) - nefelometrie

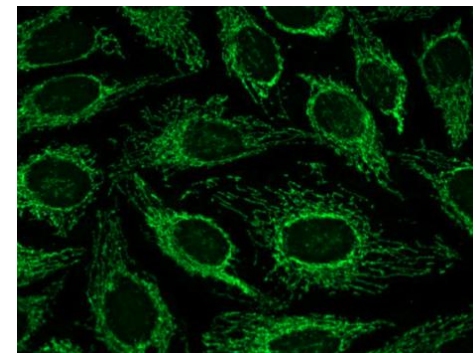
Stanovení AMA-M2 nepřímou imunofluorescencí

- ze séra na substrátu krysích jater, ledvin a žaludku
- charakteristický analyt pro diagnostiku PBC
- výskyt u 90% nemocných s PBC
- protilátky namířené proti E2 podjednotce pyruvátdehydrogenázového komplexu na vnitřní mitochondriální membráně

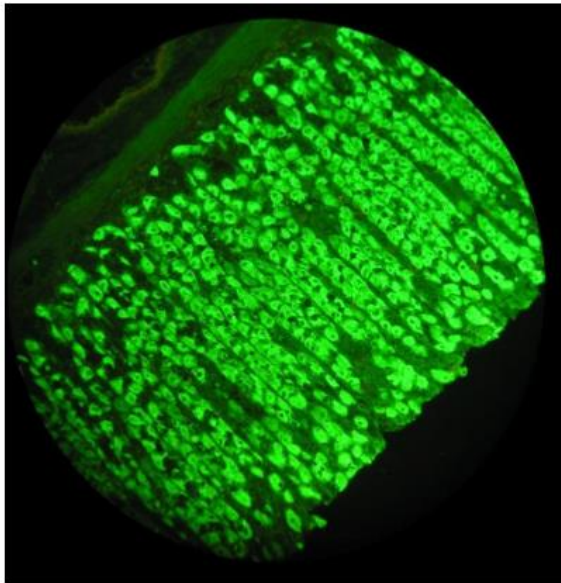


Hep2 buňky odvozené od linie HeLa - pozitivita antimitochondriálních protilátek

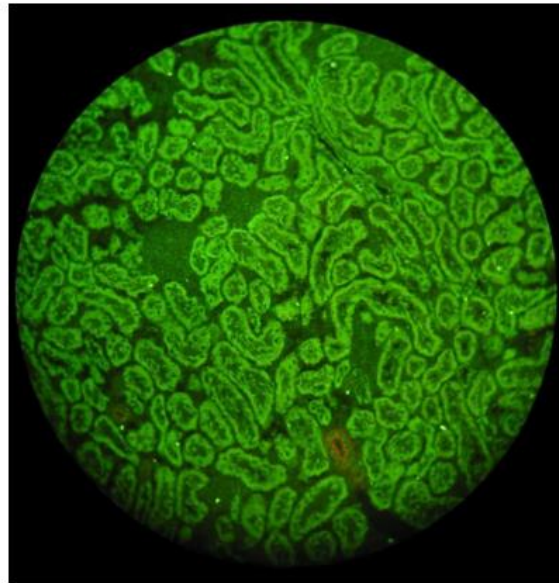
Pozitivita AMA protilátek při vyšetření ANA na Hep2 buňkách



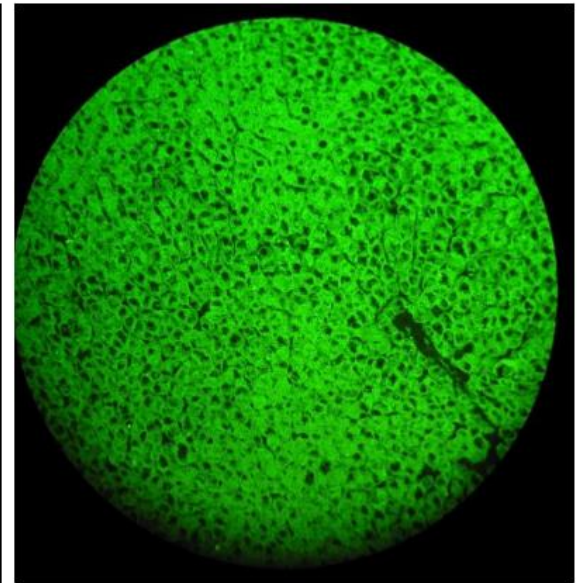
AMA protilátky



žaludek



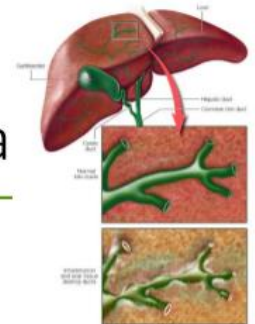
ledviny



játra

Substrát
AMA (antimitochondriální Ab) – kryší žaludek, ledviny, játra

Mitochondrie jsou orgány obsažené v buňkách všech tkání – proto při přítomnosti AMA protilátek bude viditelná pozitivita ve všech třech typech tkáně.



Další příklady positivity AMA protilátek

- AMA se mohou rovněž vyskytovat u pacientů s:
 - polékovým SLE
 - systémovou sklerodermií
 - lymfomy
 - syfilidou
 - ...

Léčba

- Transplantace jater
- Kyselina ursodeoxycholová a obeticholová (snížení resorpce žlučových kyselin ve střeve a také jejich syntézu)
- budesonid (kortikosteroid)

Myasthenia gravis (MG)

Príčina ochorenia

Toto auto-imunitné ochorenie je spôsobené tvorbou protilátok proti receptorom pre acetylcholín na neuromuskulárnej platničke.

Ich obsadením sa bráni fyziologickej väzbe na acetylcholín, čím sa blokuje prenos signálu a aktivácia svalu.

→ výsledkom je paralýza kostrového svalstva

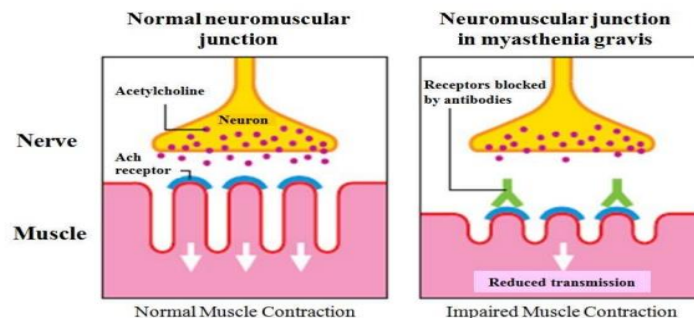
V niektorých prípadoch väzba autoprotílátok na receptor aktivuje aj komplement, čím sa priamo deštruuujú bunky neuromuskulárnej platničky.

-Výskyt 20 na 100 000 (až 2x častejšie u žien) Li Y, Arora Y, Levin K. Myasthenia gravis: newer therapies offer sustained improvement. *Cleve Clin J Med.* 2013 Nov. 80(11):711-21.

-V každej vekovej kategórii (najčastejšie však u mužov nad 60rokov, u žien pod 40rokov)

Príčiny

1. Protilátky voči receptory pre acetylcholín alebo MuSK (Muscle-Specific Kinase)
2. Nádor thýmu



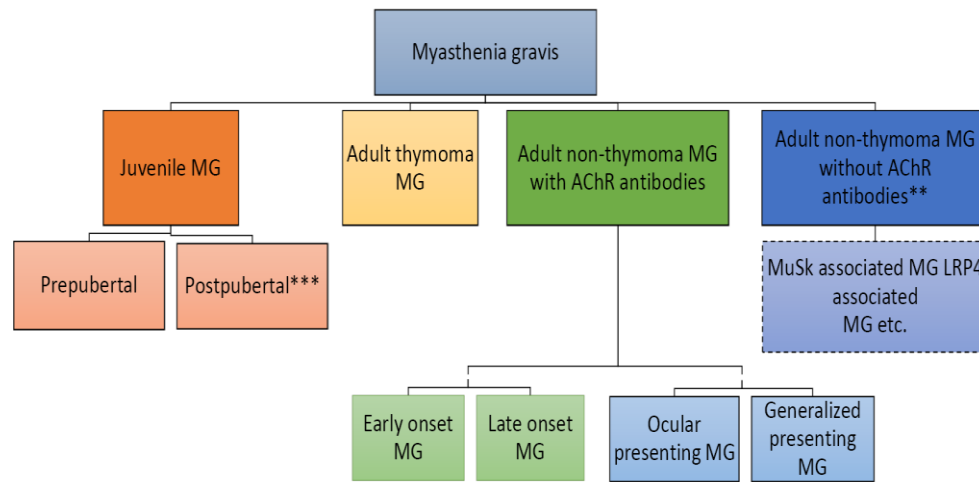
[Dr. Md Yaqub](#)

, Post graduate at Bangalore Medical College and Research Institute

Imunologická klasifikácia MG

Heterogénne ochorenie so 4 podskupinami, ktoré sa odlišujú imunologicky, klinicky a rozdielnou reakcie na liečbu

1. **Seropozitívna MG (SPMG)**- 70-75% pacientov, ktorých ma + protilátky voči nikotínovým acetylcholinovým receptorom (AChR)
2. **MG asociovaná s tymómom (MGAT)**- 10-15% pacientov ma SPMG asociovanú s tymómom a autoprotiľátkami voci titínu
3. **Séronegatívna MG (SNMG) voči AChR s + protilátkami voči MuSK(muscle specific kinase)**- 7% pacientov s MG
4. **Čistá SNMG bez autoprotiľátok voči ACHR a proti MuSK-** 8 % pacientov

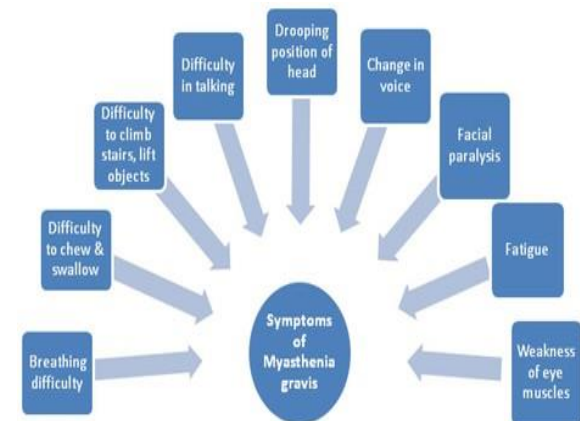


Príznaky ochorenia

Všeobecne sa príznaky manifestujú ako **patologické svalové slabosti**.

Medzi najčastejšími príznakmi patria:

1. Postihnutie vonkajších okohybných svalov (diptopia)/ alebo postihnutie m. levator palpebrae superior (ptóza)
 - až u 85-95% pacientov
2. Slabosť svalstva inervovaného bulbárnymi nervami/ poruchy artikulácie (dysartira), fonácie (rhinolalia), slabosť mäkkého podnebia a jazyka
3. Slabosť mimického svalstva alebo žuvacieho svalstva
4. Postihnutie koncatinového svalstva
5. Slabosť niektorej izolovanej svalovej skupiny
6. Slabosť diafragmy, interkostálnych svalov a akcesórnych svalov



Laboratórne nálezy

Detekcia protilátok za pomoci ELISA

1. Protilátky proti Acetylcholínovému receptoru (AChR) - trieda IgG

Výsledky: negatívny < 0,40 nmol/l hraniční 0,40 – 0,49 nmol/l pozitívny > 0,50 nmol/l

2. Protilátky proti svalovo špecifickej kináze (Anti-MuSK, muscle-specific kinase antibodies)- hlavný marker u sérovo negatívnych pacientov (pacienti s negatívnymi AChR), U sérovo pozitívnych pacientov môže byť prítomný spolu s AChR, trieda IgG

Výsledky: negatívny < 0,4 U/ml pozitívny > 0,4 U/ml

Laboratórne nálezy na špecializovaných pracovník

Detekcia protilátok za pomoci RIA (Radioimmunoassay) a ELISA

1. Protilátky proti Acetylcholinovému receptoru (AChR)- jedná sa o subskupiny IgG1 a IgG3:

Anti-AChR ab (binding), Anti-AChR ab (modulating), Anti-AChR ab (blocking)

ACh RECEPTOR (MUSCLE) BINDING ANTIBODY

Norma < **0.02 nmol/L**

ACh RECEPTOR (MUSCLE) MODULATING ANTIBODIES

Norma **0-20%** (reported as ___% loss of AChR)

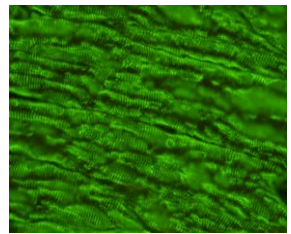
2. Protilátky proti svalovo špecifickej kináze (Anti-MuSK, muscle-specific kinase antibodies)- hlavný marker u sérovo negatívnych pacientov (pacienti s negatívnymi AChR), U sérovo pozitívnych pacientov môže byt prítomný spolu s AChR, patrí medzi IgG 4

Result of 1.0 U/mL or higher are positive.

3. Protilátky proti priečne pruhovanému svalstvu (anti-SM, Anti-striated muscle antibody), môže byt vykonané ako doplňujúce vyšetrenie u pacientov s MG s nádorom thýmu.

Imunofluorescenčne

Titration <1:120



Možnosti liečby

Jedná sa o neliečiteľné ochorenie, dajú sa však ovplyvniť príznaky a komplikácie spojené s MG krízou.

1. Inhibítory acetylcholinestázy (IAE): Mestinon a Prostigmin
2. Thymektomia
3. Imunosupresívna terapia: azathioprin alebo cyclosporin
4. Vnútrožilový imunoglobulín s kombináciou plazmaferézou

Autoimunitné ochorenia

Reakcia imunitného systému organizmu na svoje vlastne autoantigény, ktorá vyvolá odpoveď tekekovateľnou prítomnosťou autoprotílátok (väčšinou typ IgG) a autoreaktívnych T-lymfocytov, ktoré vyvolajú poškodenie buniek/tkanív organizmu. Jeho hlavnou črtou je zápal/zánet.

Rozdeľujeme ich na:

1. Lokalizované (organovo špecifické)
2. Systémové (organovo nešpecifické)

Mechanizmy tolerancie

Podmienkou vzniku autoimunitného ochorenia je prelomenie mechanizmov autotolerancie. Radi sa medzi ne:

1. **Centrálna tolerancia:** v thymu pozitívna/ negatívna selekcia T lymfocytov po ich výslednej reakcii na MHC v kostnej dreni negatívna selekcia B lymfocyty, ak reagujú na rozpustné zložky v tomto prostredí
2. **Periférna tolerancia-** klonálna delecia, klonálna anergia, klonálna ignorancia, supresia

Príčiny vzniku

Väčšinou sa jedná o kombináciu vnútorných a vonkajších faktorov ako mutácia génu, infekcie, stres, lieky, UV...

Chronická granulomatózní choroba

Mikesková Simona

Příčina onemocnění

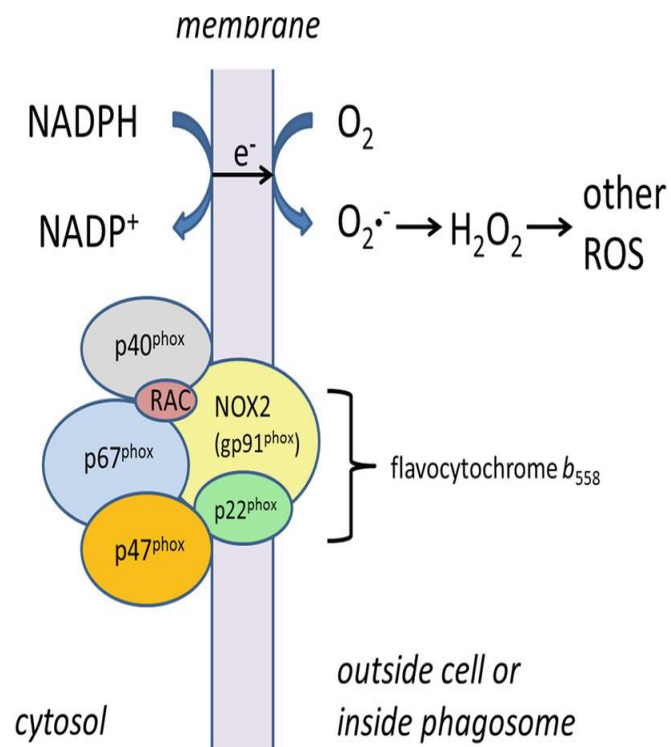
- Porucha tvorby reaktivních forem kyslíku, která vede k omezené schopnosti fagocytů likvidovat fagocytovaný materiál

- Příčina:

- Mutace v jednom z genů kódujících podjednotku

enzymu NADPH-oxidázy

- NADPH-oxidáza hraje klíčovou roli při respiračním vzplanutí fagocytů, protože produkuje superoxidový radikál, ze kterého vznikají další reaktivní formy kyslíku (mikrobicidní agens fagocytů)



Klinická manifestace

- Náchylnost k častým infekcím a chronickým zánětům
- Opakované abscesy nejčastěji postihující játra a plíce, objevují se hnisavé lymfadenitidy a osteomyelitidy
- Vznik granulomů, které mohou působit útlak žlučvodů, stenózy v různých oblastech
- Většinou poměrně častý nástup obtíží, vzácně až v dospělosti

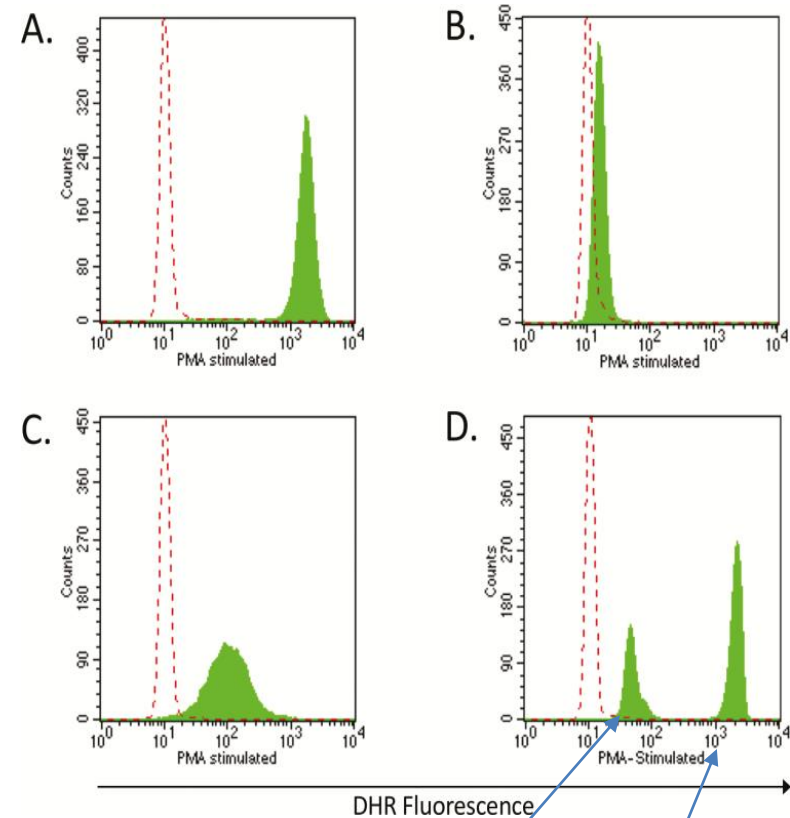
Laboratorní nálezy

- Absence respiračního vzplanutí fagocytů
- Počet neutrofilních granulocytů, monocytů a makrofágů je normální
- Mutace gp91, p22, p47 nebo p67phox
- Možná prenatální diagnostika
- Vyšetření oxidačního vzplanutí:
 - NBT test – screening
 - Chemiluminiscenční test
 - Burst test

Vyšetření oxidačního vzplanutí

- **Burst test**

- Fagocytující buňky se stimulují např. PMA nebo opsonizovanými buňkami E. Coli
- Dochází k oxidačnímu vzplanutí, vznikají kyslíkové radikály, které oxidují dihydrorhodamin na zeleně fluoreskující rhodamin 123
- Na průtokovém cytometru se vyhodnocuje procento zeleně fluoreskující granulocytů a monocytů

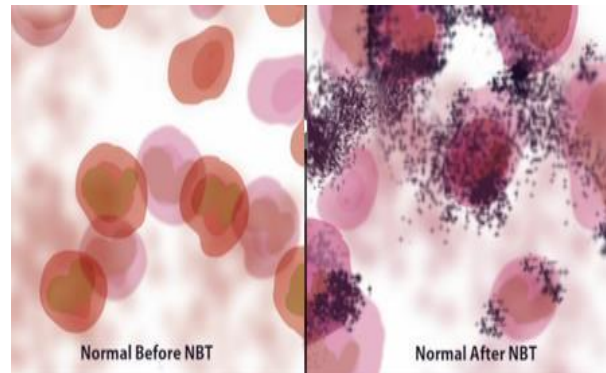


- **Chemiluminiscenční test**

- Využívá schopnosti fagocytů emitovat malé množství světla
- Přirozené chemiluminiscenční aktivita fagocytů je zesílena přidavkem luminoforu
- Emise fotonů se měří chemiluminometrem

- **NBT test**

- Principem redukce tetrazoliových solí kyslíkovými radikály
- Bezbarvý roztok soli proniká při fagocytóze do buňky, kde je redukován na nerozpustný barevný formazan
- Změna zbarvení se hodnotí mikroskopicky nebo přesněji spektrofotometricky



Metody léčby

- Profylaktické podávání antibiotik a antimykotik
- Kortikosteroidy – zmenšení granulomů
- Interferon γ – snižuje četnost závažných infekcí
- Transplantace kostní dřeně

Hereditární angioedém

Terezie Plucarová

Podstata vzniku

- mutace v genu pro C1 inhibitor → deficit nebo defekt produktu (C1 inhibitor se netvoří vůbec nebo vzniká nefunkční)
- autozomálně dominantní dědičnost nebo vznik de novo
- každý podnět (i neškodný) → aktivace komplementové kaskády
- C1-INH inhibuje také fibrinolýzu a přeměnu prekalikreinu na kalikrein
- deficit → nadměrná tvorba bradykininu (otoky)

Klinické projevy

- nezánětlivé otoky podkoží a sliznic
- otok sliznice dýchacích cest – riziko udušení
- otok sliznice GIT - zažívací potíže
- typická lokalizace: oční víčka, rty, nad klouby rukou a nohou



Diagnostika

- přítomnost alespoň jednoho klinického a jednoho laboratorního kritéria
- laboratorní kritéria:
 - hladina C1-INH pod 50 % (2 odběry v období mezi atakami, pacient starší než jeden rok)
 - funkce C1-INH pod 50 % (2 odběry v období mezi atakami, pacient starší než jeden rok)
 - mutace SERPIN G1 genu, která narušuje syntézu nebo funkci C1-INH

Laboratorní stanovení C1-INH

- nefelometrie – koncentrace C1-INH (normální hodnoty 210-390 mg/l)
- ELISA - funkční test C1-INH (C1-INH ze vzorku se váže na aktivovanou C1s v jamce, spektrofotometrická detekce – určení množství C1-INH, nefunkční C1-INH - nedojde ke vzniku komplexu ani zbarvení)
- genetika – stanovení mutace v genu pro C1-INH

Laboratorní stanovení dalších parametrů

- Nefelometrie - koncentrace C4 (normální hodnoty 0,1 – 0,4 g/l)
- RID – koncentrace C2 (normální hodnoty 10 – 30 mg/l)
- hemolytický test CH50 - funkční aktivita komplementu (klasická cesta aktivace, směs beraních RBC a abmoceptoru reaguje s komplementem ve vzorku → hemolýza, spektrofotometrická detekce, výpočet % hemolýzy, snížená aktivita – slabá nebo žádná hemolýza)
- Pro stanovení funkční aktivity je potřeba speciální odběr do zkumavek, jejichž povrch neaktivuje komplement – spotřeba základních složek, test by mohl poskytovat falešně negativní výsledky. Proto je po stočení srážlivé krve sérum nutné co nejrychleji zamrazit a rozmrazuje se až těsně před testováním.

Obvyklé výsledky

aktivita komplementu (klasická cesta) snižena (kvůli vyšší spotřebě C2 a C4 při atakách choroby)

- hladiny C2 a C4 snižené (kvůli vyšší spotřebě při atakách choroby)
- hladina C1-INH dle formy nemoci
 - 1 - deficit - snižena
 - 2 - funkční defekt - snižena/normální/zvýšená
 - 3 - množství i funkce C1-INH jsou v pořádku

Léčba

- klinicky závažný stav:


dlouhodobá profylaxe androgeny (zvyšují biosyntézu C1-INH v játrech, hodně nežádoucích účinků) či antifibrinolytiky, eventuálně substituce koncentrátem C1-INH (rekombinantní nebo z plazmy)

- akutní atak:

substituce koncentrátem C1-INH, podání antagonisty bradykininového receptoru B2

Zdroje

- prezentace z Klinické imunologie
- https://www.wikiskripta.eu/w/Heredit%C3%A1rn%C3%AD_angioed%C3%A9m, citováno 23.4.20
- <https://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina/hereditarni-a-ziskany-angioedem-478813>, citováno 23.4.20
- Obrázky:
- <https://epochaplus.cz/hereditarni-angioedem-neprilis-zname-geneticke-onemocneni/>, citováno 23.4.20



**Těžká kombinovaná
imunodeficiencie**
(SCID – Severe Combined
Immunodeficiency Disease)

Pospíšilíková Natálie

SCID - obecně

- skupina heterogenních genetických onemocnění, která postihují buněčnou i protilátkovou složku imunitního systému
- nejzávažnější z primárních imunodeficiencí
- postihují T a B lymfocytární větve imunity, někdy také negativně ovlivňují funkce NK buněk → deficit T i B lymfocytů
- postižení jedinci jsou extrémně citliví vůči široké škále patogenů, včetně oportunních mikroorganismů

Typy SCID – příčiny

- skupina T-, B+
 - SCID X – vázaný (T-, B+, NK-)
 - příčina- mutace genu pro γ řetězec receptoru (IL-2)
 - deficit T lymfocytů i NK buněk, počet B lymfocytů je zachován, avšak funkce omezena
 - častější u chlapců (lokalizace na X chromozomu)
 - SCID způsobený poruchou Janusovy kinázy (JAK3), (T-,B+, NK-)
 - autozomálně recesivní onemocnění
 - mutace JAK3 genu kódujícího Janusovu kinázu
 - SCID s fenotypem T-, B+, NK+
 - absence delta řetězce molekuly CD3
 - nebo nepřítomnost řetězce alfa receptoru pro IL-7

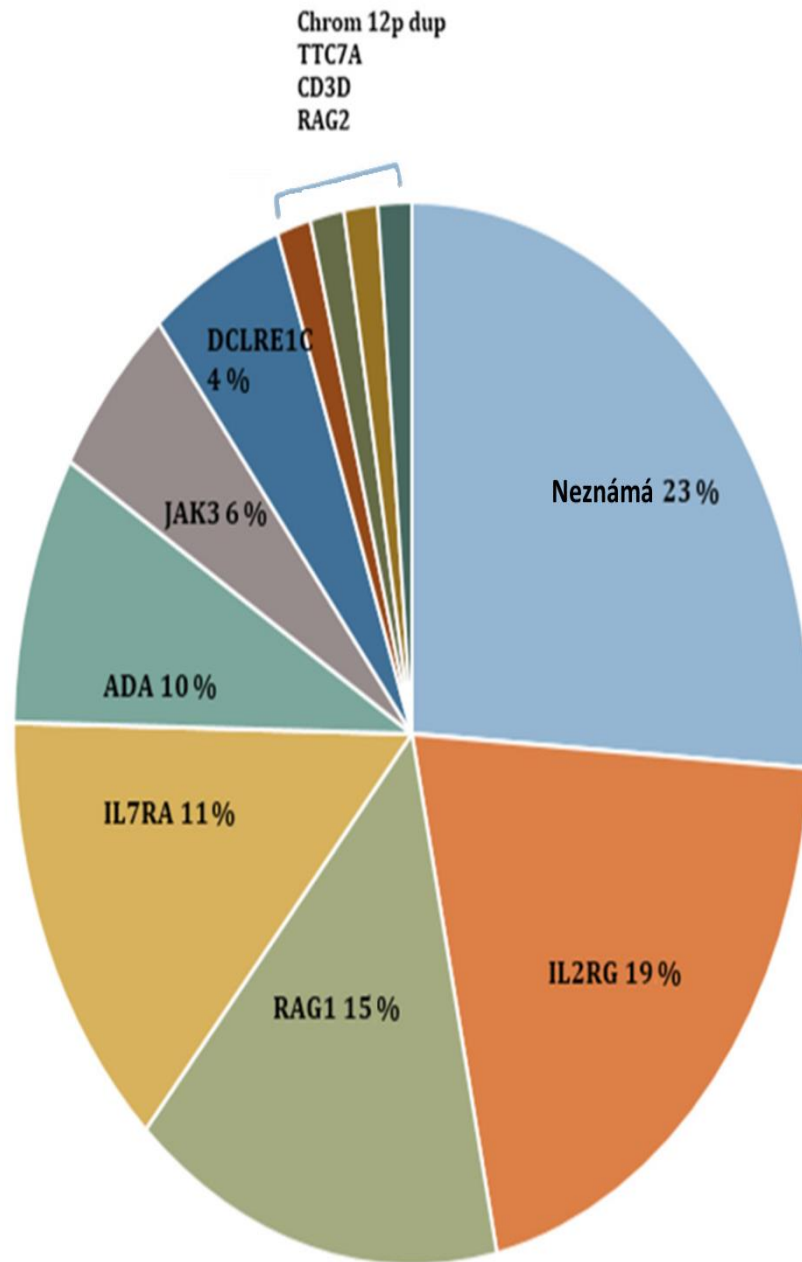
*Pozn. význam zkratk: - (negative) – vyjadřuje nedostatek/deficit, + (positive) – vyjadřuje dostatek
např. SCID X – vázaný (T-, B+, NK-) = deficit T lymfocytů i NK buněk, počet B lymfocytů zachován*

Typy SCID - příčiny

- skupina T-, B-
 - SCID způsobený poruchou adenosindeaminázy (ADA), (T-, B-, NK-)
 - autozomálně recesivně dědičný deficit
 - absence ADA → nahromadění toxických produktů metabolismu purinů v lymfocytech
 - SCID s fenotypem T-, B-, NK+
 - deficit B a T lymfocytů
 - přítomnost NK buněk
 - příčiny deficitu - mutace enzymů RAG1 a RAG2 zodpovědných za rekombinaci genů v procesu rekombinace
 - nebo mutace proteinu Artemis, který rovněž hraje roli v rekombinačním procesu

*Pozn. význam zkratk: - (negative) – vyjadřuje nedostatek/deficit, + (positive) – vyjadřuje dostatek
např. SCID X – vázaný (T-, B+, NK-) = deficit T lymfocytů i NK buněk, počet B lymfocytů zachován*

SCID - příčiny



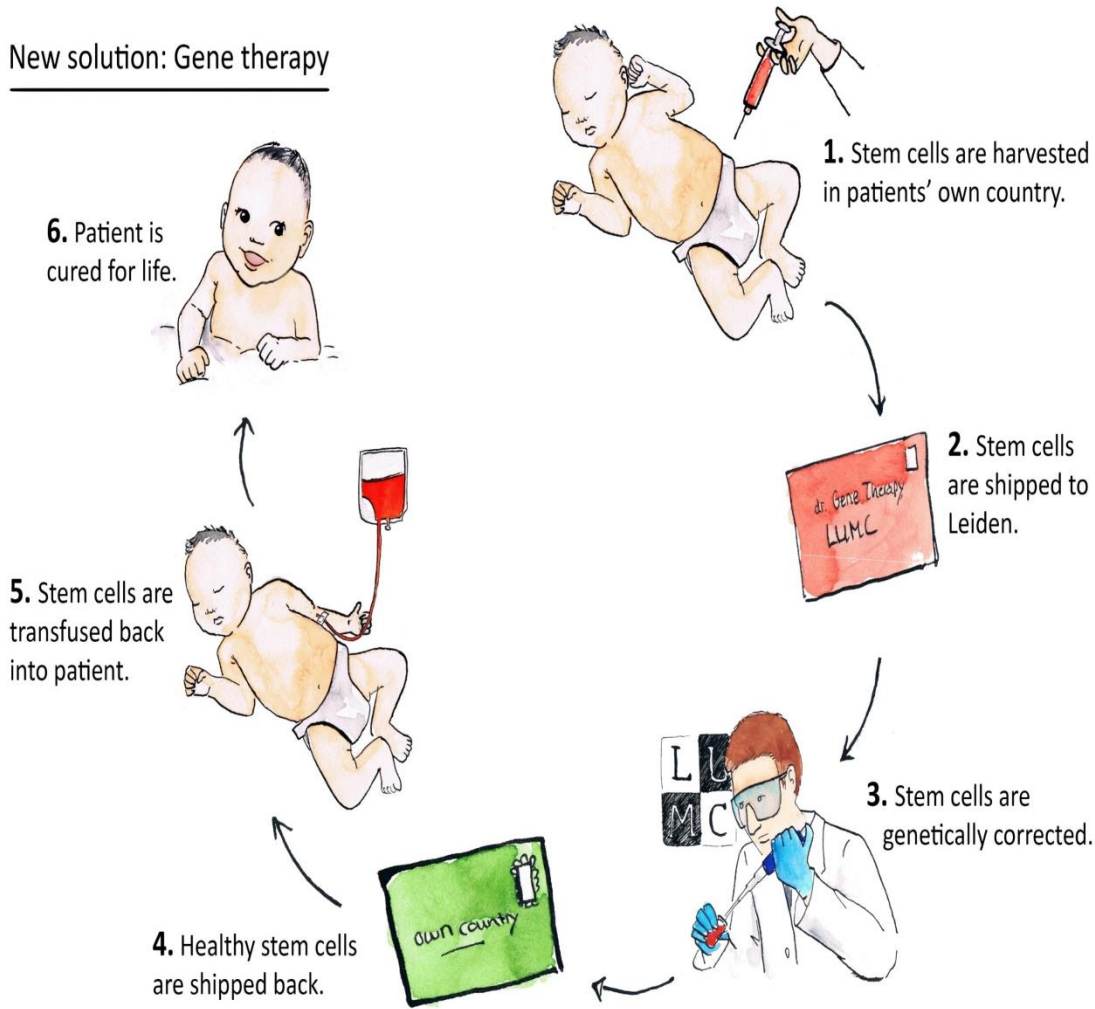
Klinická manifestace

- první projevy již v prvních měsících po narození
- charakteristické život ohrožující infekce – pneumonie, meningitida, sepse, plané neštovice aj..
- chronické průjmy – úbytek na váze, celkové nepospívání
- infekce kůže – nejčastěji způsobená plísní Kandida
- ekzémy
- riziko při očkování živými vakcínami – komplikace po vakcinaci BCG

Laboratorní nálezy

- celková leukopenie s důrazem na opakovanou lymfopenii
- velmi snížená hladina T-lymfocytů
- počty B – lymfocytů, NK buněk – variabilní
- hladina imunoglobulinů téměř nulová
- po imunizaci – žádná tvorba protilátek

New solution: Gene therapy



Illustraties: Lieneke Post

Genová terapie

Metody stanovení

- stanovení počtu T-, B- lymfocytů
 - pomocí průtokové cytometrie
- testy na funkci lymfocytů - sledování proliferace
 - pomocí inkorporace radioaktivně značeného thymidinu
 - cytometricky měření exprese Ki-67
- testy TREC, KREC
- molekulárně genetické stanovení – možné již v těhotenství, pokud se případ vyskytl v rodině
- maternofetální engraftment T- lymfocytů

Průtoková cytometrie - obecně

- využívá principu přímé imunofluorescence
- buňky jsou inkubovány s protilátkou proti konkrétním CD znakům na povrchu buněk imunitního systému, která je označena fluorescenčním barvivem → buňky laminárně proudí tryskou přístroje vystaveny laserovému paprsku světla
- na základě velikosti a granularity se buňky rozdělí:
 - na LYMFOCYTY, MONOCYTY a GRANULOCYTY
- na základě navázání monoklonálních protilátek proti CD znakům na povrchu buněk se rozdělí:
 - na subpopulace T LYMFOCYTŮ, B LYMFOCYTŮ a NK BUŇKY

Funkční vyšetření lymfocytů

- inkorporace radioaktivně značeného thymidinu

- lymfocyty jsou stimulovány k aktivaci specifickými nebo nespecifickými stimuly
 - stimulanty mohou být rostlinné (PHA – fytohemaglutinin, ConA – konkanavalin), bakteriální Ag (tetanický toxoid) nebo monoklonální Ab proti receptorům a koreceptorům (anti-CD3, anti-CD28)
- po aktivaci se v kultuře dělí a proliferovaly
- před koncem inkubace se do kultury přidá radioaktivně značený thymidin, který se inkorporuje do nově syntetizované DNA
- úroveň měřené radioaktivity, převedené scintilačním počítačem na světelný signál, odpovídá proliferační aktivitě lymfocytů

Funkční vyšetření lymfocytů – exprese Ki-67

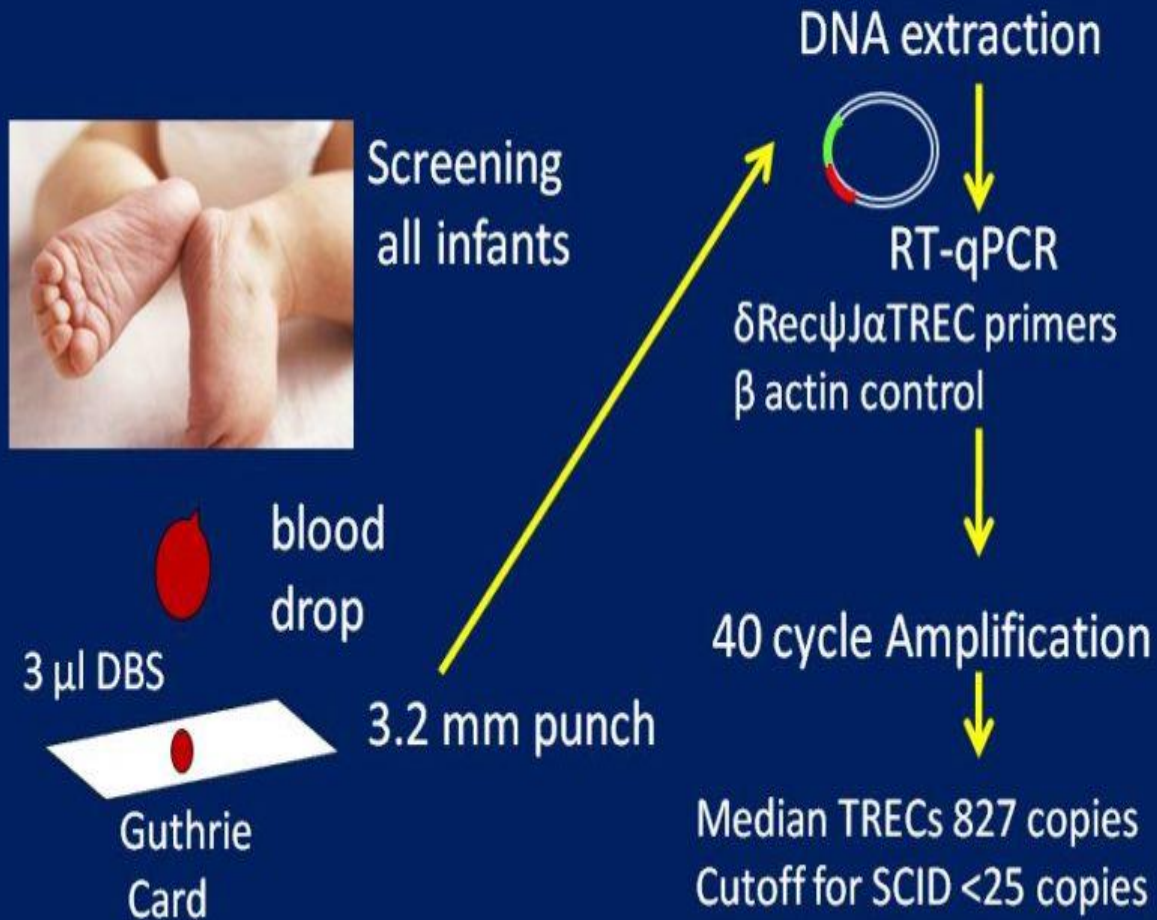
- protein Ki-67 je jaderný protein, který je spojen s buněčnou proliferací
- Ki-67 je exprimován ve všech proliferujících buňkách během pozdní fáze G1 a fáze S, M a G2 buněčného cyklu, zatímco buňky ve fázi G0 (u nichž cyklus neprobíhá) konzistentně antigen Ki-67 postrádají
- nestimulované normální lidské buňky antigen Ki-67 neexprimují
- Ki-67 pozitivní frakce buněk je proto označovaná jako růstová frakce
- stanovení proteinu Ki-67 je poměrně jednoduché, a proto se stalo základním ukazatelem proliferační aktivity buněk

Testy TREC, KREC

T-cell receptor excision circles; Kappa-deleting recombination excision circles

- neinvazivní moderní RT- PCR vyšetření ze suché kapky krve
- metoda zachytí veškeré formy poruch specifické imunity nezávisle na genové mutaci
- současně zajistí jistotu bezpečné vakcinace
- jedná se o jednoduchý a přímočarý test na přítomnost naivních T (TREC) eventuálně B lymfocytů (KREC)
- PRINCIP:
 - TREC vznikají při výstavbě receptoru TCR u T lymfocytů
 - KREC u B-lymfocytů vystřížením úseků DNA při spojování mezi J a V oblastmi DNA → odštěpená nepotřebná část DNA se spojí v kroužek → TREC nebo KREC
 - neprobíhá-li správně vývoj T a B-lymfocytů, vzniká málo těchto kroužků
 - ze snížené hodnoty pak můžeme určit, že se jedná o poruchu ve vývoji T, či B-lymfocytů

Figure 1: TREC Assay for Newborn Screening for SCID



Maternofetální engraftment

- přítomnost matčiných T lymfocytů v cirkulaci imunodeficitního dítěte
 - většinou cytotoxické CD8+ s aktivačním znakem HLA DR+, méně často pomocné CD4+
 - mohou způsobit reakci štěpu proti hostiteli
 - normální T-lymfocyty dětské jsou naivní - nesou znak CD45 RA, a HLA-DR exprimují jen velice málo
- asi u 50% pacientů se SCID lze prokázat mateřské lymfocyty, u 30-40% z nich lze prokázat klinické příznaky engraftmentu
- kožní exantém
- zvýšení jaterních testů

Léčba, doporučení

- transplantace kmenových buněk – při shodném HLA – úspěšnost až 90%
- u některých forem SCID možnosti specifické léčby metodami genové terapie - tato metoda je nyní dostupná pro mutace v genech *ADA* a *IL2RG* (9, 10)
- pravidelná substituční terapie imunoglobuliny – částečná ochrana před infekcemi
- doporučená izolace od ostatních dětí, nekojit (riziko cytomegaloviru)
- neočkovat živými vakcínami!

Di-Georgův syndrom

Kateřina Šilhavíková

Laboratorní diagnostika ve
zdravotnictví

Di-Georgův syndrom a jeho příčina

- Patří mezi tzv. **mikrodeleční syndromy** či syndromy genů naléhajících na sebe
- **Porucha vývoje třetí a čtvrté žaberní výchlípký** – omezený vývoj thymu a příštítných tělísek
- Postižení je variabilní, závažnost je úměrná T-lymfocytům (ty jsou přítomny pouze v nízkých hladinách nebo mohou zcela chybět)

Příčina

- Nejčastější příčinou je delece na dlouhém raménku 22. chromosomu (90% pacientů)
- Nejtypičtější delece úseku **22q11.2**
- Mimo deleci byly popsány i translokace – t(2,22), t(4,22)



Klinická manifestace

Klinický obraz je variabilní a postihuje řadu orgánů:

- Časté mykotické a virové infekce vyplývající z imunodeficience (nedostatek T-lymfocytů)
- Tetanické křeče, zvýšená svalová dráždivost, parestezie
- Vrozené vady srdce a velkých cév
- Rozštěpové vady obličeje a kraniofaciální dysmorfie - epikanty, vpadlý kořeň nosu, rybí ústa (tvaru obráceného V)
- Mentální retardace

Laboratorní nálezy

- **Genetická diagnostika – delece chromosomu 22 v poloze 22q11.2 (stanovení metodou FISH)**

Doprovodné znaky:

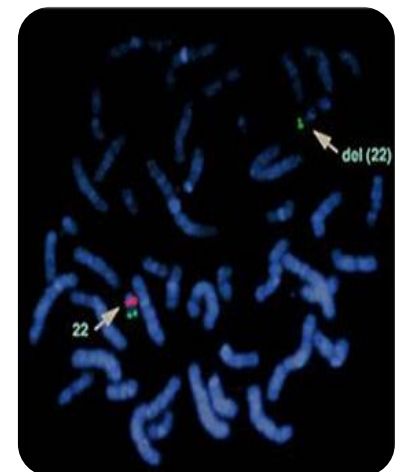
- Z důvodu chybění thymu jsou po narození nízké hladiny T-lymfocytů nebo zcela chybí (hodnoty T-lymfocytů se při DiGeorge syndromu mohou pohybovat i okolo **15-40% T-lymfocytů v závislosti na tíže postižení**)
 - - normální hodnoty T-lymfocytů pro novorozence dle procentuálního zastoupení kolísají během prvních 12 měsíců od **50-70% lymfocytů** v diferenciálním rozpočtu
 - Deficit T-lymfocytů má sklon se s věkem normalizovat – okolo 5 let věku mohou T-lymfocyty dosáhnout normálních hodnot
 - stanovení T-lymfocytů: **průtokovou cytometrií** s využitím fluorescenčně značených monoklonálních protilátek
- Hypokalcémie (kvůli nepřítomnosti parathormonu z příštítných tělísek)
- Hypothyroidismus
- Trombocytopenie

Diagnostika

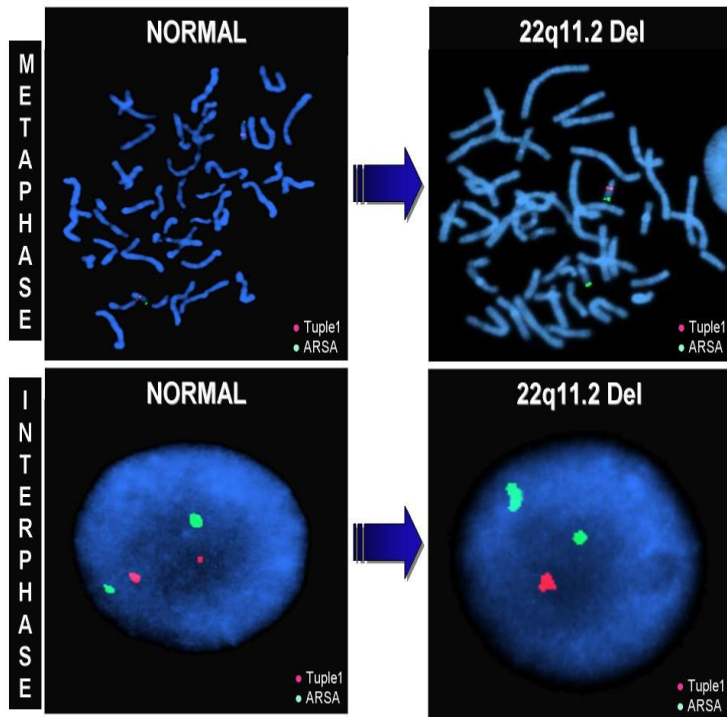
- **Klinické vyšetření** – celkové vyšetření pacienta, echokardiografie, RTG
- **Genetické vyšetření** – detekce delece 22 q (vyšetření karyotypu, metoda FISH)
- **Fetální echokardiografie**
- **Prenatální diagnostika** – screening dokáže detekovat pouze srdeční vadu plodu, jinak musí být vyšetření cílené

Metoda FISH

- = **fluorescenční in situ hybridizace**
- Používá fluorescenčních sond, které se váží pouze na ty části chromosomu s vysokým stupněm komplementarity
- Signál můžeme pozorovat ihned po skončení hybridizace, nevýhodou je, že signál nelze zesílit
- Relativně levná, rychlá metoda
- Chromosomy se následně pozorují pod fluorescenčním mikroskopem



Metoda FISH



Metody léčby

- Léčba je symptomatická
- V těžších případech je možnost transplantace kostní dřeně s periferními lymfocyty
- Transplantát z kultivované thymové tkáně
- Obličejové a srdeční vady je možno řešit chirurgickou cestou

Citace

- https://is.muni.cz/el/med/podzim2014/VLKG7X1c/um/Syndrom_DiGeorge.pdf
- <http://www.vrozene-vady.cz/prezentace/pdf/Mikrodelece-2012-IPVZ.pdf>
- https://cs.wikipedia.org/wiki/Fluorescen%C4%8Dn%C3%AD_in_situ_hybridizace
- https://www.wikiskripta.eu/w/DiGeorg%C5%AFv_syndrom
- https://cs.m.wikipedia.org/wiki/Soubor:Fish_analysis_di_george_syndrome.jpg

Wiskott-Aldrichův syndrom

Klára Šimíčková

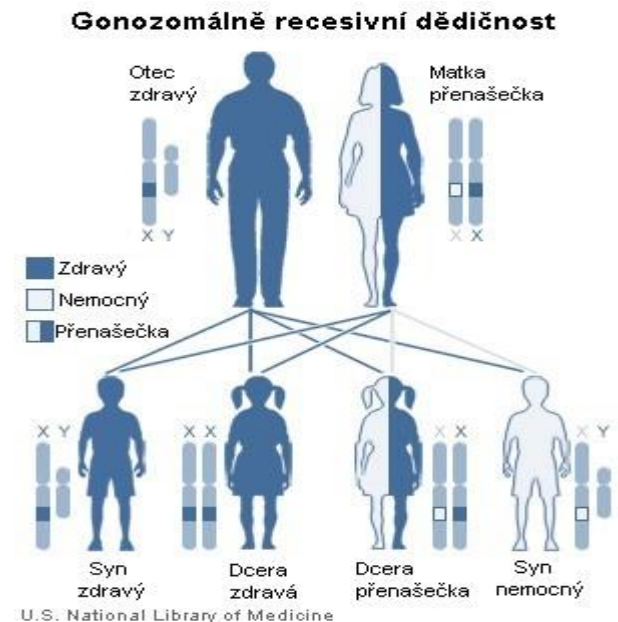
Etiologie onemocnění

- mutace v genu WAS, který produkuje protein Wiskott-Aldrichova syndromu (WASp)
- tento protein je exprimován pouze v buňkách hematopoetického původu
- WASp slouží k reorganizaci aktinových vláken cytoskeletu
- jeho defekt nebo úplné chybění způsobí poruchy fagocytózy, poruchy přenosu synaptických signálů mezi buňkami imunitního systému i poruchu tvorby trombocytů

Dědičnost onemocnění

- recesivní X-vázané onemocnění
- gen pro WASp na krátkém raménku chromozomu X

- postižení jsou muži
- ženy jsou přenašečky



Klinické projevy

- petechie a krvácivé projevy způsobené mikrotrombocytopenií
- deficit buněčné a látkové imunity – recidivující oportunní infekce (pneumonie, otitidy, meningitidy,..) a náchylnost k malignitám
- kožní ekzém
- někdy i autoimunitní onemocnění (vaskulitida, artritida, hemolytická anémie, ITP)



Laboratorní vyšetření a jejich výsledky

- trombocytopenie s malými destičkami = **mikrotrombocytopenie**
- **snížená hladina IgM**; většinou normální IgG; zvýšené IgA, IgD a IgE
- Hladina IgE může dosahovat hodnot vyšších než 1 000IU/ml
- z počátku normální hladina T-lymfocytů, v průběhu několika let **klesá**
- **průkaz nepřítomnosti proteinu WAS**
- snížená hladina protilátek proti vakcinačním antigenům
- **identifikace mutace** v genu WAS

KO – trombocytopenie, (+může se přidávat anémie)

| | Patient 1 | | Patient 2 | | Controls ^a |
|----------------------------|--------------------------|--------------|-------------|--------------|-----------------------|
| | 8 years old ^b | 18 years old | 6 years old | 16 years old | |
| RBC ($10^4/\mu\text{l}$) | 470 | 252 | 440 | 460 | 427–570 |
| Hgb (g/dl) | 10.1 | 7.7 | 12.5 | 13.9 | 13.5–17.6 |
| Hct (%) | 32.0 | 21.9 | 42.0 | 40.2 | 39.8–51.8 |
| WBC ($/\mu\text{l}$) | 11000 | 6800 | 10200 | 6000 | 3900–9800 |
| Plt ($10^4/\mu\text{l}$) | 2.2 | 1.8 | 3.6 | 2.1 | 13.1–36.2 |

Table 2. Immunological data of Wiskott-Aldrich syndrome patients

| | Patient 1 | Patient 2 |
|---|-----------|-----------|
| Lymphocyte counts in peripheral blood (μ) | 1138 | 1866 |
| Surface marker phenotypes of PBMCs ^a (%) | | |
| CD3 ⁺ (54.4–73.0) ^b | 67.1 | 52.7 |
| CD4 ⁺ (32.3–48.7) | 45.2 | 31.7 |
| CD8 ⁺ (18.8–48.7) | 19.6 | 28.9 |
| CD19 ⁺ (3–18) | 8.1 | 9.8 |
| CD20 ⁺ (5–20) | 7.8 | 9.6 |
| sIgM (0.62–1.50) | 0.24* | 0.14* |
| sIgA (2.84–2.96) | 9.59 | 5.92 |
| sIgD (1.86–2.84) | 2.53 | 3.64 |
| sIgM and sIgD (3.45–6.26) | 1.9* | 1.6* |
| sIgM and sIgA (3.81–3.98) | 0.86* | 1.13* |

↓ IgM

↑ IgA

T-lymfocyty v normě/↓

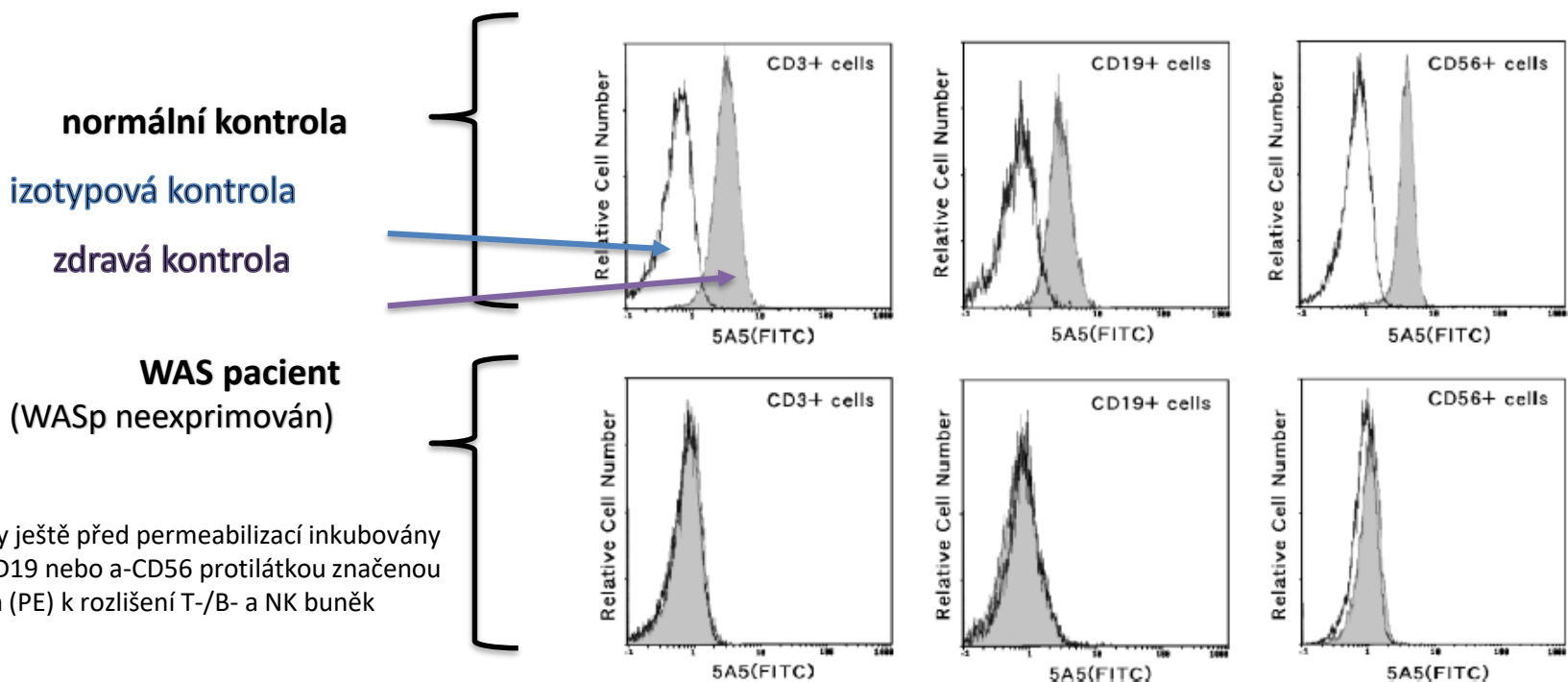
B-lymfocyty v normě

Metody stanovení

- KO na hematologickém analyzátoru (optická a impedanční analýza)
- hladiny imunoglobulinů nefelometricky/turbidimetricky
- hladina T-lymfocytů průtokovou cytometrií
- hladina WASp v krevních buňkách – průt. cytometrie
- identifikace mutace v genu metodami molekulární diagnostiky – sekvenování

Flowcytometrické stanovení hladiny WASp v PBMC

- intracelulární barvení - fixace buněk, permeabilizace (pro dosažení intracelulárních struktur), inkubace s protilátkou anti-WASP (5A5), promytí, inkubace s FITC konjugátem (sekundární izotypově specifická protilátka značená fluorochromem), lýza erytrocytů, měření na průtokovém cytometru



*zde byly buňky ještě před permeabilizací inkubovány s anti-CD3, a-CD19 nebo a-CD56 protilátkou značenou fykoerythrinem (PE) k rozlišení T-/B- a NK buněk

Terapie

- substituční podávání imunoglobulinů
 - imunizace
 - profylaktické podávání antibiotik
 - splenektomie (korekce trombocytopenie, ale vyšší náchylnost k infekcím)
 - transfúze trombocytů (nebo i plná krev – anémie)
-
- transplantace kostní dřeně – při zdárné transplantaci může být pacient zcela vyléčen
 - vývoj genové terapie

Zdroje

- MUNTAU, Ania. *Pediatric*. 2. české vyd. Praha: Grada, 2014. ISBN 978-80-247-4588-6.
- KREJSEK, Jan a Otakar KOPECKÝ. *Klinická imunologie*. Hradec Králové: Nucleus HK, 2004. ISBN 80-86225-50-x.
- www.primaryimmune.org
- INOUE, R., N. KONDO, N. KUWABARA a T. ORII. Aberrant patterns of immunoglobulin levels in Wiskott-Aldrich syndrome. *Scandinavian journal of immunology* [online]. 1995, 41(2), 188-93 [cit. 2020-05-01]. ISSN 03009475.
- KAWAI, S., M. MINEGISHI, Y. OHASHI, et al. Flow cytometric determination of intracytoplasmic Wiskott-Aldrich syndrome protein in peripheral blood lymphocyte subpopulations. *Journal of immunological methods* [online]. 2002, 260(1-2), 195-205 [cit. 2020-05-01]. ISSN 00221759.

CVID

Common Variable Immunodeficiency

CVID

Common Variable Immunodeficiency

- **běžná variabilní imunodeficiencie**
- označení pro skupinu velmi heterogenních onemocnění, jejichž **přesná příčina není vždy známa** - vliv mají **genetické faktory** a do značné míry i **zevní prostředí**
- onemocnění CVID mají **různý genový základ**, ale **stejný fenotyp**, který je vyjádřen **humorální imunodeficiencí** – sníženou tvorbou imunoglobulinů
- jeden z nejčastěji diagnostikovaných primárních imunodeficitů, **prevalence: 1 : 10 000 – 1 : 50 000** (pro obě pohlaví je riziko stejné)

Příčina CVID

- převážně polygenní, monogenní jen v 2 – 10 % případů - jedná se např. o geny *ICOS*, *TNFRSF13B (TACI)*, *TNFRSF13C (BAFFR)*, *TNFSF12 (TWEAK)*, *CD19*, *CD81*, *CR2 (CD21)*, atd.
- u malého počtu pacientů může příčina nemoci spočívat v mutaci **molekuly ICOS** (Inducible T cell costimulator gene), následkem čehož T-lymfocyty nejsou schopny poskytnout příslušný signál k diferenciaci B-lymfocytů do stadia plazmatických buněk
- další defekty byly zjištěny např. u aktivačních molekul exprimovaných na B lymfocytech – **TACI** (transmembrane activator and calcium modulator and cyclophilin ligand interactor), **receptor ligandu BAFF** (B cell activating factor) a **povrchová molekula CD 19**
- indukce CVID je závislá na zevním faktoru, pravděpodobně infekčním nebo chemickém

Klinická manifestace

- CVID se může projevit **kdykoli v průběhu života, často až v dospělosti**
- **zvýšená náchylnost k infekcím** - bakteriálním, ale i virovým a mykotickým. Mezi časté původce patří: streptokoky, Haemophilus influenzae, Moraxella catarrhalis
- často postiženy **dýchací cesty**, v dětství se vyskytují **otitidy**, v dospělosti více **sinusitidy, bronchitidy a pneumonie**. Při neléčeném onemocnění se mohou vyvinout **bronchiektázie**, pozdní komplikací je intersticiální **plicní fibróza**
- nemocní mají zvýšený sklon k **alergiím a autoimunitním chorobám** (např. autoimunitní thyreoiditida, atrofická gastritida či perniciózní anémie)

Laboratorní stanovení a obvyklé výsledky

- nejdříve je třeba **vyločit sekundární příčiny hypogammaglobulinemie** (lékové hypogammaglobulinémie, leukémie, lymfomy apod.) a další primární imunodeficiencie

Stanovení hladin imunoglobulinů (nefelometricky)

- typickým nálezem jsou **snížené až neměřitelné hladiny protilátek IgG a IgA** v periferní krvi, koncentrace protilátek **IgM je variabilní**

Stanovení jednotlivých subpopulací B a T-lymfocytů (prostřednictvím imunofenotypizace)

- hladina B-lymfocytů je obvykle normální či nižší, ale defektní je jejich diferenciaci a vyzrávání
 - u pacientů s CVID nacházíme **vyšší počet naivních B-lymfocytů** ($\text{IgD}^+\text{CD27}^-$) a **snížený počet izotypově přesmyknutých paměťových B-lymfocytů** ($\text{IgM}^-\text{IgD}^-\text{CD27}^+$)- 1 z prvních dg. známek, snížený počet **IgM paměťových B-lymfocytů** ($\text{IgM}^+\text{IgD}^+\text{CD27}^+$) a **plazmatických buněk**
- u pacientů s CVID je možné prokázat **nízký počet CD4^+ T-lymfocytů** a **vysoký počet CD8^+ T-lymfocytů**, regulační T-lymfocyty a NK buňky jsou snížené. Dále je možné detekovat změny na úrovni **funkce T-lymfocytů** (především na úrovni produkce cytokinů)

Laboratorní stanovení a obvyklé výsledky

Dále je možné **stanovení specifické protilátkové odpovědi na dané specifické antigeny** (prostřednictvím metody **EIA**)

- měření protilátkové odpovědi se provádí zhruba **měsíc po očkování** a je skutečným **ukazatelem toho, zda pacient umí vytvořit protilátky nebo ne**
- jedná se o protilátkovou odpověď na očkování zejména proti **tetanovému toxoidu** (v tomto případě se jedná o odpověď na proteinový Ag), **pneumokoku** a **hemofilu** (využívány většinou jako polysacharidové antigeny). Dále je možné testovat protilátkovou odpověď proti difterickému anatoxinu či salmonelle
- u pacientů s CVID je typická **nedostatečná tvorba specifických protilátek**

Laboratorní stanovení a obvyklé výsledky

Stanovení izohemaglutininů (přirozené protilátky třídy IgM namířené proti antigenům v krevním systému ABO, stanovení v rámci základního vyšetření krevní skupiny) – **u pacientů s CVID tyto protilátky chybí**

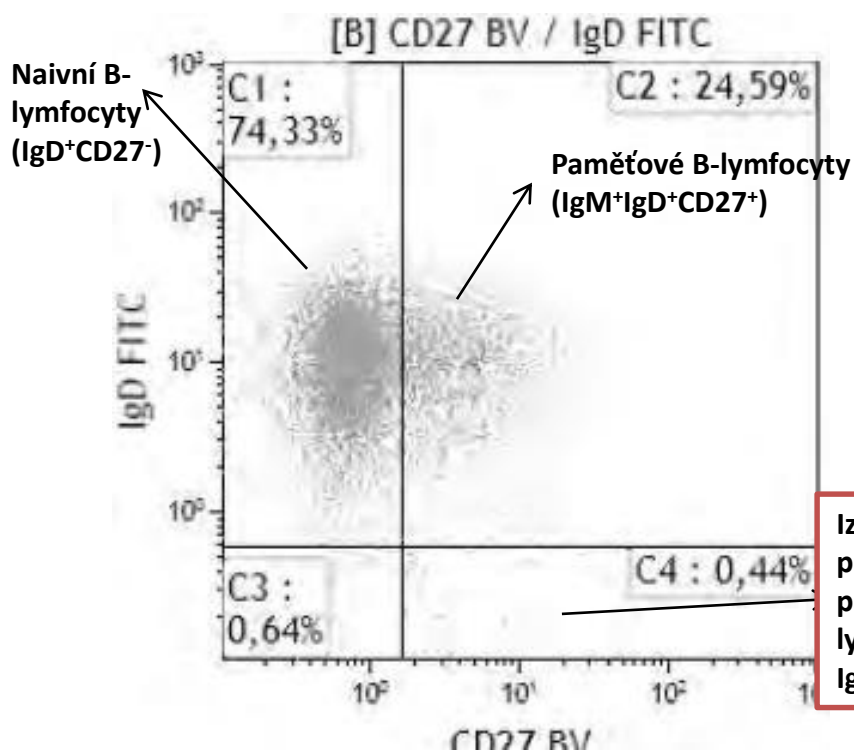
Tab. *Diagnostická kritéria CVID u pacientů obou pohlaví starších 2 let*

| <i>Pravděpodobná dg. (všechny znaky)</i> | <i>Možná dg. (všechny znaky)</i> |
|--|--|
| sérová koncentrace IgG > 2 SD pod průměrem příslušného věku a výrazný pokles z IgM nebo IgA; splňuje následující kritéria: | sérová koncentrace IgG nebo IgM nebo IgA > 2 SD pod průměr příslušného věku; splňuje následující kritéria: |
| absence izohemaglutininů a/nebo nedostatečná odpověď na vakcinaci | |
| jiné příčiny hypogamaglobulinemie vyloučeny | |

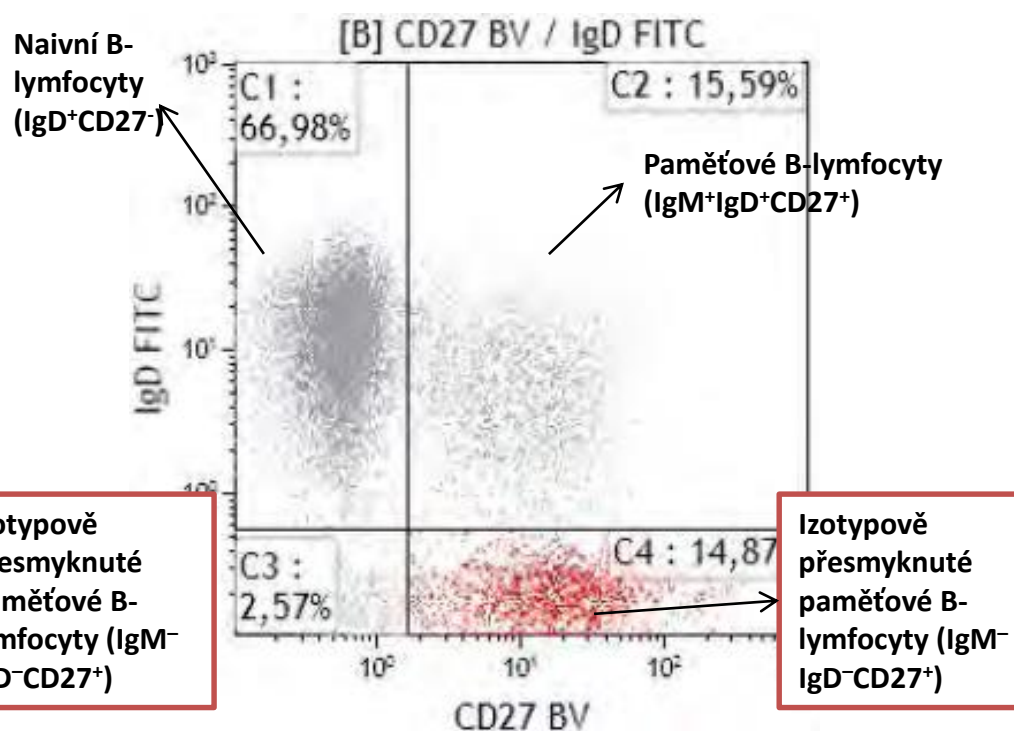
Dále je možné provést specifické in-vitro testy (speciální funkční testy, detekce povrchových markerů pomocí flow cytometrie) a molekulárně genetické testy

Flow-cytometrické stanovení subpopulací B-lymfocytů u pacienta s CVID a kontroly

Pacient s CVID



Kontrola



POSTUP: plnou nesrážlivou krev promyjeme a inkubujeme s monoklonálními protilátkami proti vyšetřovanému antigenu (IgG, IgM a CD27), které jsou značeny fluorescenčním barvivem. Vazbu protilátky s antigenem vyhodnocujeme prostřednictvím průtokového cytometru

ref. rozmezí izotypově přesmyknutých paměťových B-lymfocytů (IgM⁻IgD⁻CD27⁺): 9,2 – 18,9 %

Metody léčby

- **substituční – intravenózními imunoglobuliny**
- **léčba doplňována** profylaktickou nebo intermitentní **antibiotickou terapií** (dle aktuálních potíží či mikrobiologických nálezů)
- autoimunitní komplikace a granulomatózní zánět se léčí kortikoidy

Zdroje

- BARTŮŇKOVÁ J., ŠEDIVÁ A. a JANDA A. *Imunodeficiencie*. 2. vyd. Praha: Grada, 2007. ISBN 9788024719801.
- BARTŮŇKOVÁ J., PAULÍK M. a kol. *Vyšetřovací metody v imunologii*. 2. vyd. Praha: Grada, 2011. ISBN 978-80-247-3533-7.
- LITZMAN, Jiří. *Základy vyšetření v klinické imunologii*. Brno: Masarykova univerzita, 2009. ISBN 978-80-210-4227-8.
- <https://www.tribune.cz/clanek/34497>
- <https://primaryimmune.org/about-primary-immunodeficiencies/specific-disease-types/common-variable-immune-deficiency>
- <https://docplayer.cz/116520179-Vyuziti-mnohobarevne-prutokove-cytometrie-pro-vysetreni-lymfocytarnich-subpopulaci-jana-nechvatalova.html>
- https://is.muni.cz/th/o4rna/Bakalarska_prace.pdf
- <https://www.prolekare.cz/tema/primarni-imunodeficiencie/detail/protilatkove-imunodeficiencie-8940>
- <https://www.the-rheumatologist.org/article/common-variable-immunodeficiency/?singlepage=1&theme=print-friendly>

HIV

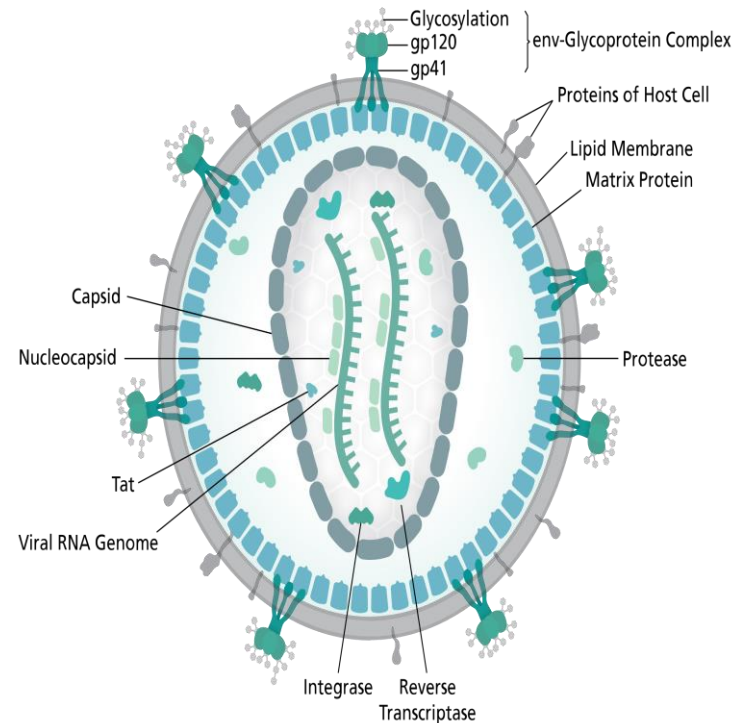
Markéta Vlčková

Etiologie

- HIV (=human immunodeficiency virus) patří mezi RNA viry z řady retrovirů
- Napadá buňky imunitního systému, konkrétně T_H lymfocyty, ale i monocyty, dendritické či gliové buňky
- Pro průnik do hostitelské buňky využívá receptory CD4
- Virus se vyznačuje značnou reprodukční schopností, což souvisí i se značnou schopností mutovat
- Dnes jsou známé dva typy viru, HIV-1, HIV-2

Struktura viru

- Virus je složen ze tří částí:
 - Nukleoid – dvě molekuly jednořetězcové RNA
 - Kapsula – tvořená proteinem p24
 - Obal – dvouvrstvá fosfolipidová membrána s povrchovými glykoproteiny
- Obsahuje také několik enzymů důležitých pro jeho transkripci: reverzní transkriptáza, integráza, proteáza, ribonukleáza



Napadení hostitelské buňky

- Virus se svým povrchovým glykoproteinem gp120 naváže na CD4 receptor hostitelské buňky. Nutné jsou koreceptory, chemokinové receptory na povrchu cílové buňky (CXCR-4 u T_H lymfocytů, CCR u makrofágů)
- Po vniknutí vir ztrácí své obaly, jeho RNA se díky reverzní transkriptáze přepíše do DNA a integráza pak začlení vzniklé DNA do hostitelské DNA
- Následuje replikace a z některých vznik mRNA a regulačních proteinů
- Nově vzniklý virion se obalí plazmatickou membránou buňky obohacenou o glykoproteiny gp41 a gp120 a opouští buňku, která podléhá lýze

Způsob přenosu

- Pohlavním stykem – při infekcích s vředovitým projevem stoupá riziko nákazy (např. syfilis, chlamydie)
- Krví a krevními deriváty
- Vertikálním přenosem, tzn. z matky na dítě a to jak během těhotenství, při porodu či kojení

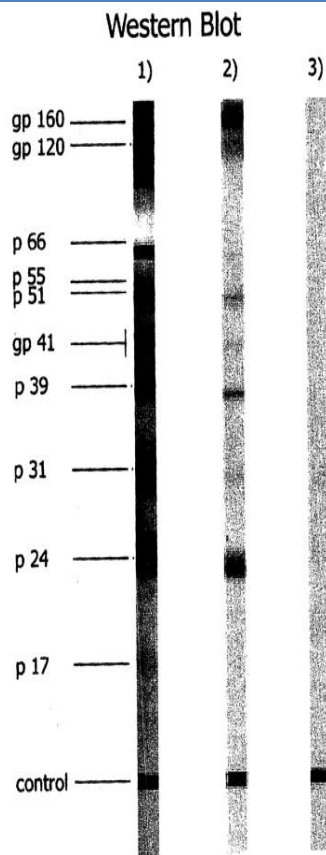
Klinické projevy

- Záleží v jaké fázi infekce se pacient nachází, ale individuálně se mohou lišit
 - Primoinfekce: 2-6 týdnů po nákaze, začínají se tvořit protilátky, u většiny nakažených příznaky podobné chřipce či mononukleóze – zvětšení uzlin, horečka, vyrážka, bolest hlavy, zánět hltanu
 - Asymptomatická fáze: 2-10 let bez výrazných klinických příznaků, občas lymfadenopatie, virus napadá postupně další CD4+ T-lymfocyty, postupně dochází k jejich úbytku, při snížení počtu CD4+ T-lymfocytů pod určitou hranici nastává
 - Časná symptomatická fáze: 200-500 CD4+ lymfocytů/ul, značné poškození imunitního systému, malé infekce, dermatitidy, vlasatá leukoplakie, horečka, úbytek váhy, noční pocení
 - Pozdní symptomatická fáze (AIDS): < 200 CD4+ lymf./ul, oportunní infekce (TBC, CMV infekce, pneumonie), nádorová onemocnění (lymfomy, Kaposiho sarkom), neurologická postižení, deprese

Diagnostika

- Z žilní krve, z kapky krve z prstu, ze slin
- Přímý průkaz:
 - antigenu p24 – metodou ELISA, pro časnou fázi infekce, nejvyšší koncentrace kolem 3. týden po nákaze
 - virové RNA – metodou PCR nebo RT-PCR, amplifikace sekvencí na specifických HIV genech
- Nepřímý průkaz: protilátek – po diagnostickém oknu (cca 3 měsíce, kdy je možno množství Ab detekovat)
 - ELISA – vizualizace komplexu Ab+Ag pomocí enzymové značky
 - Western blot – pomocí gelové elektroforézy se separují proteiny z buněk pravděpodobně nakažených virem, přenesou se na povrch membrány, kdy se po přidavku patientského séra na ně navazují protilátky,
- Stanovení množství CD4+ buněk (norma 1000/ul), poměr CD4/CD8 (norma 2:1) – průtoková cytometrie
- Zvýšení hladiny β 2-mikroglobulinu
- Pro potvrzení či vyvrácení HIV infekce je nutná kombinace více testů, tedy používat tzv. testy 4. generace, kdy se detekují jak antigen p24, tak protilátky

Diagnostika

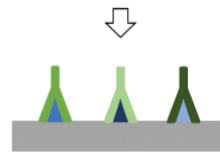


- 1) Strong Reactive control
- 2) Weak Reactive Control
- 3) Non-Reactive Control

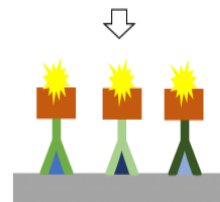
Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

Detection of antibodies to HIV

Immovable HIV-specific proteins are used as 'bait' (=antigens) for HIV antibodies in the human blood sample



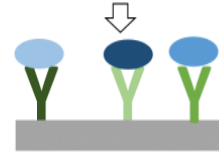
HIV antibodies bind to the antigens



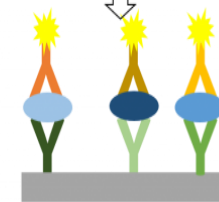
Bound HIV antibodies are made visible by labelled antigens that bind to the HIV antibodies

Detection of HIV-specific proteins

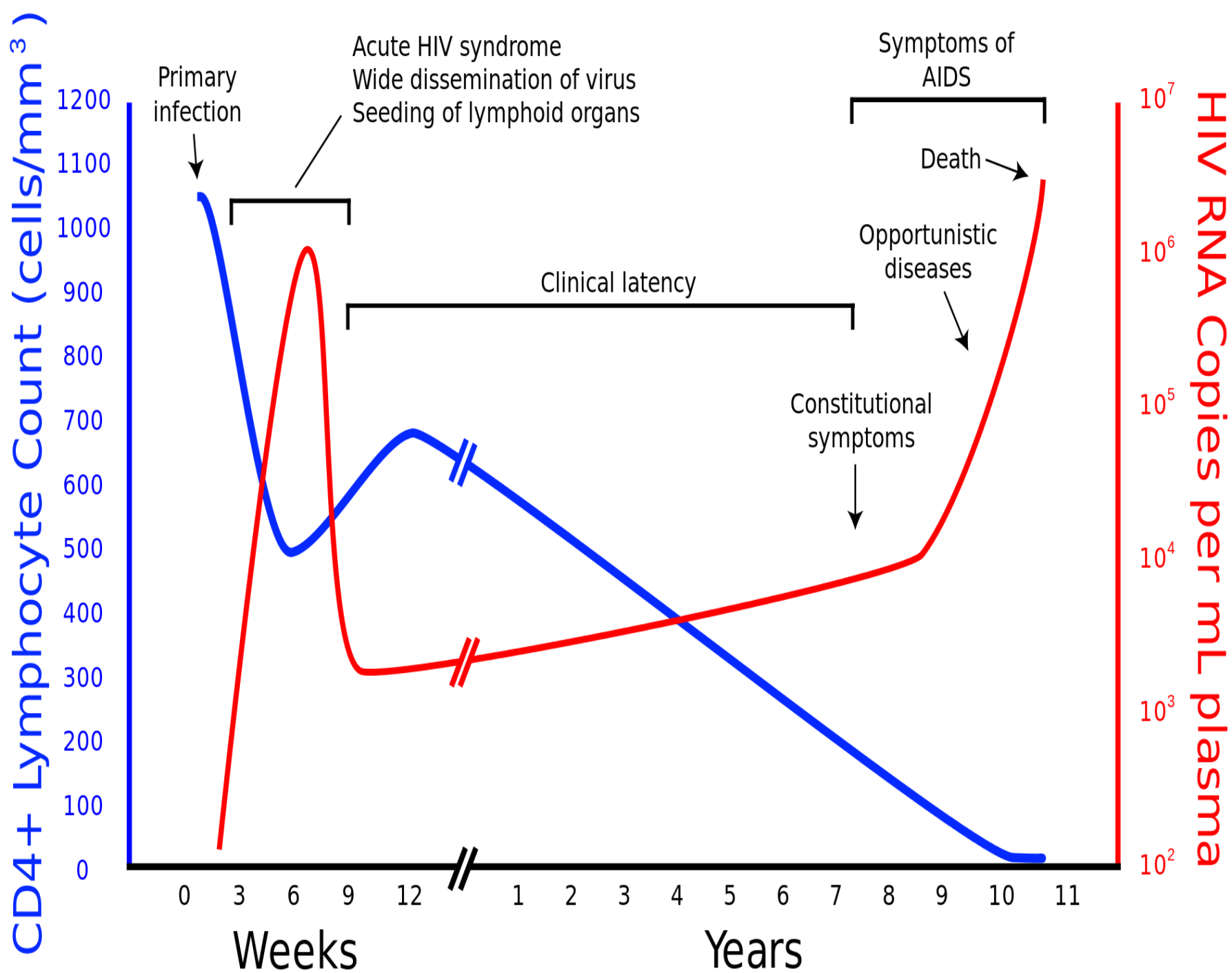
Immovable HIV-specific antibodies are used as 'bait' for HIV-specific proteins (i.e. antigens) in the human blood sample



HIV antigens bind to the antibodies



Bound HIV antigens are made visible by labelled antibodies that bind to the HIV antigens



Léčba

- PEP = postexpoziční profylaxe, podání antiretrovirotik po situaci s vysokým rizikem nákazy, kdy se zabrání replikaci a šíření viru. Podat se musí nejpozději 72 hodin po expozici po dobu 28 dní, není však 100% účinná
- Pro snížení progresu onemocnění se používá různá kombinace antiretrovirotik s rozdílným mechanismem zabránění množení viru (inhibitory receptoru CCR5, fúze viru do buňky, proteázy, reverzní transkriptázy a další)
- Může se tak výrazně prodloužit asymptomatická fáze infekce a potlačení propuknutí AIDS
- K léčbě také patří profylaxe oportunních infekcí