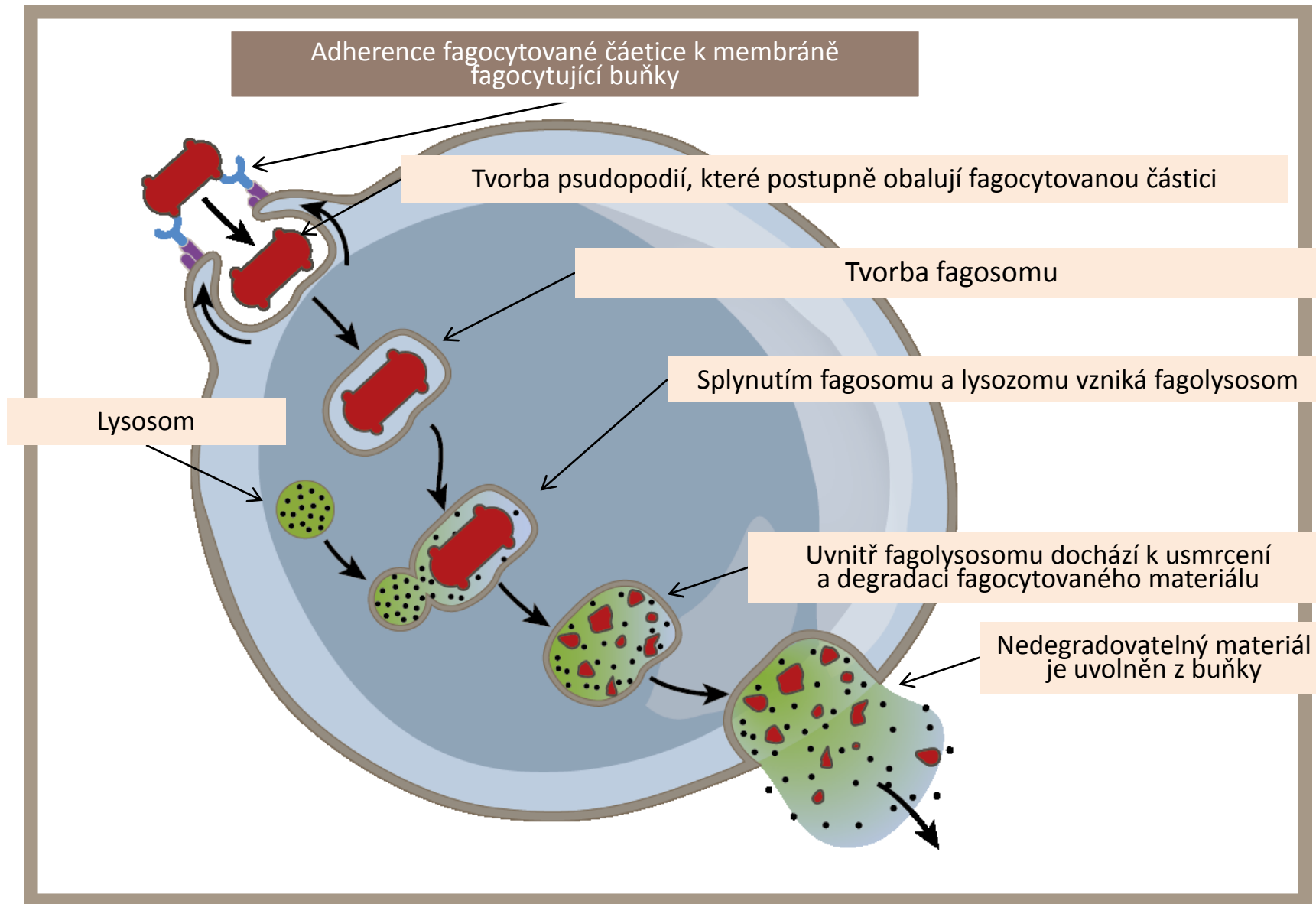


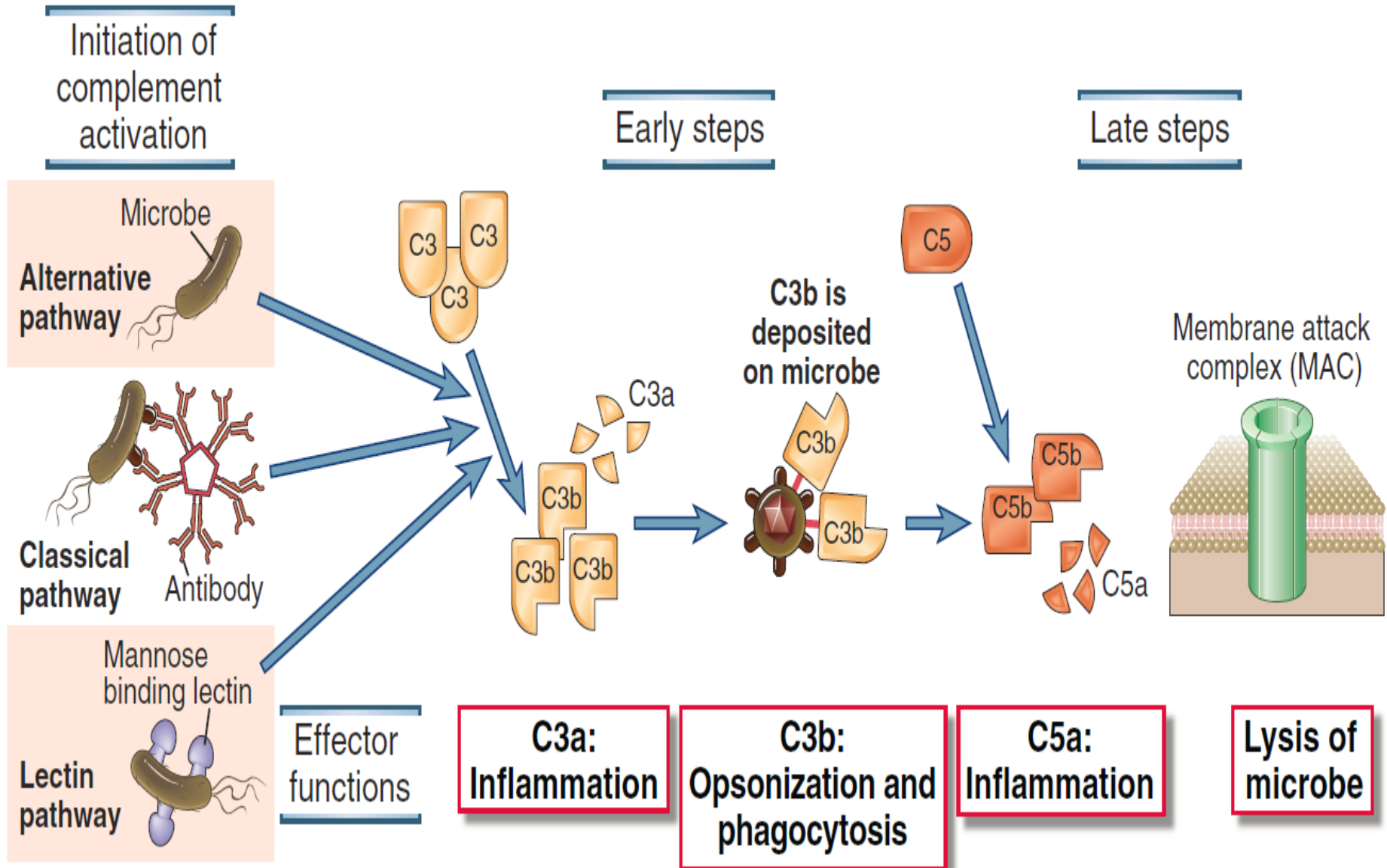
# Alergické a autoimunitní choroby

Marcela Vlková

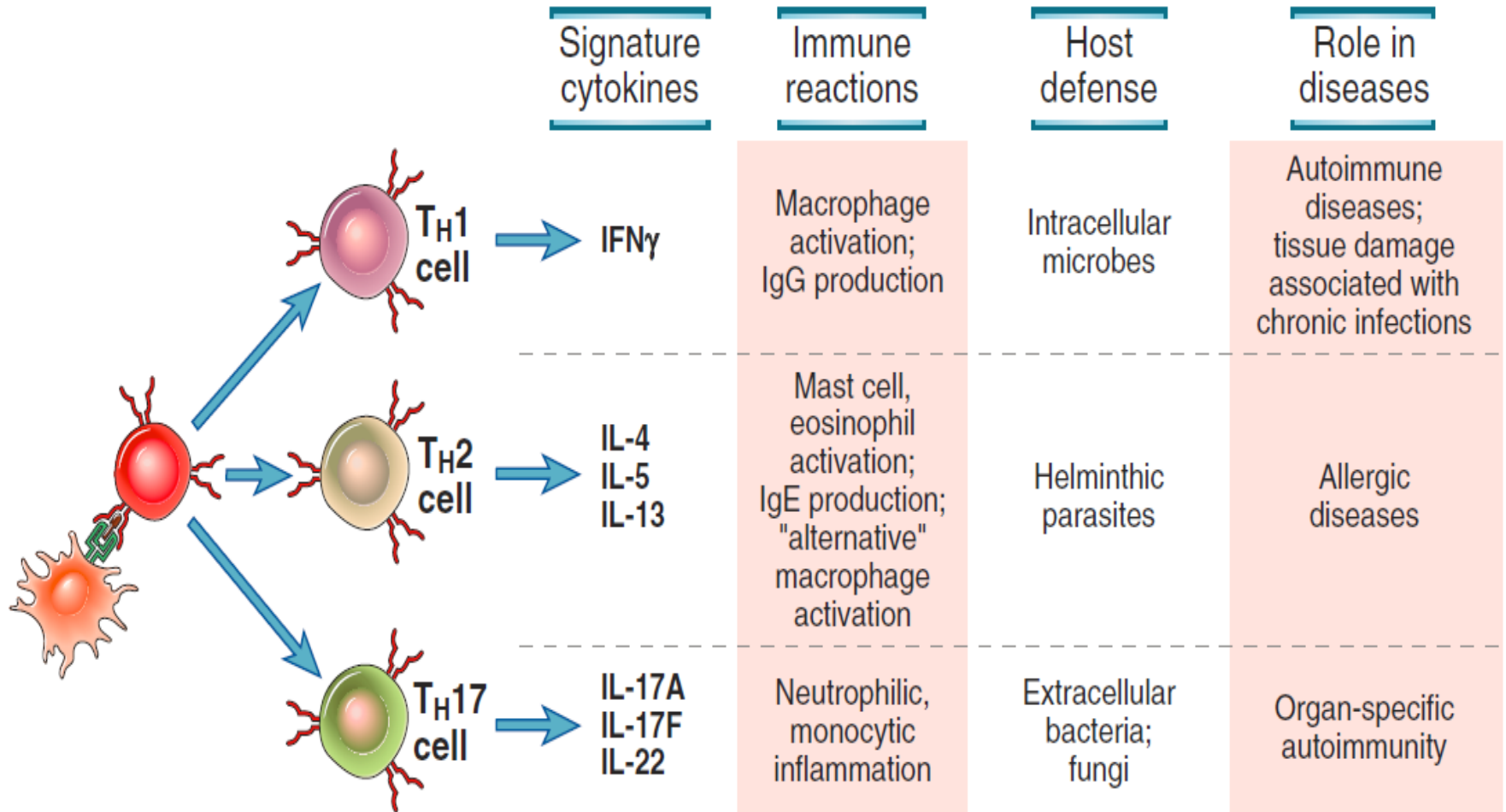
# Fagocytóza



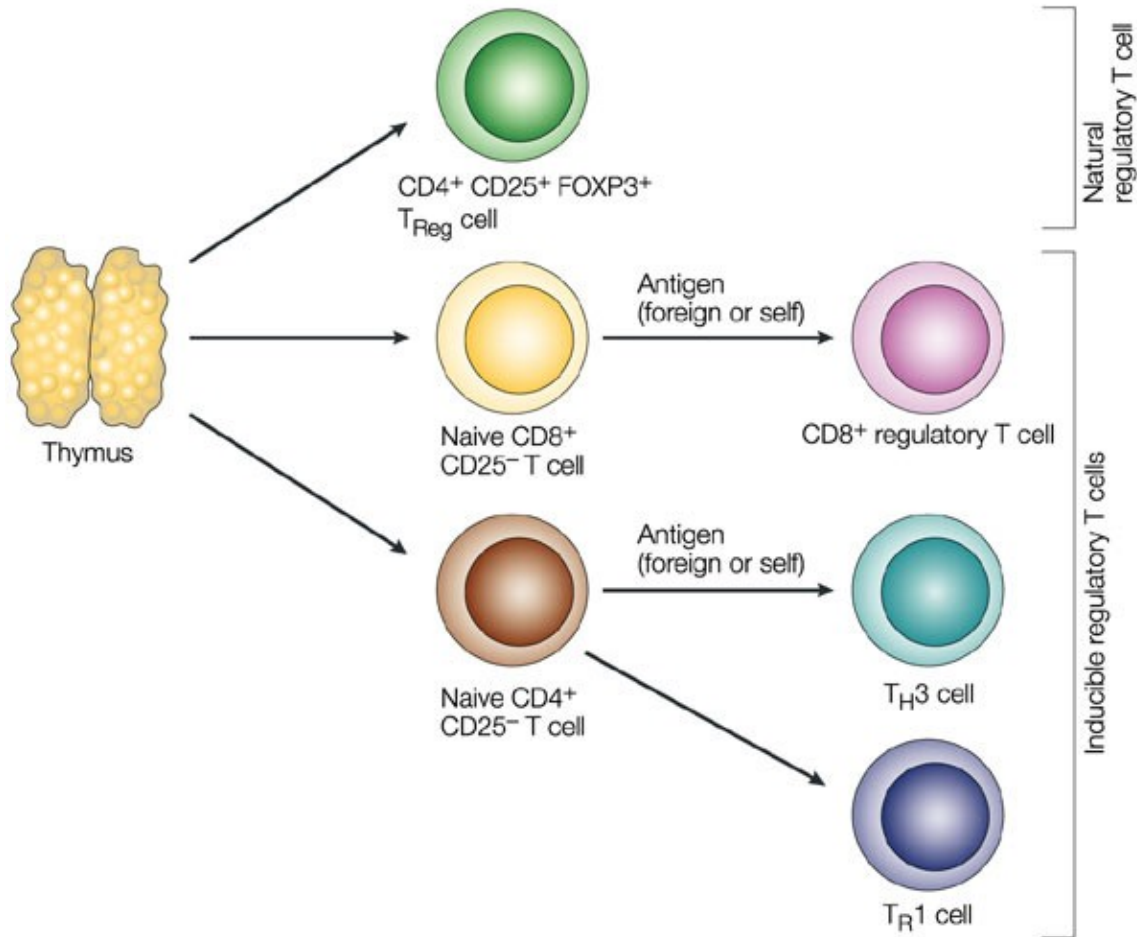
# Aktivace komplementového systému



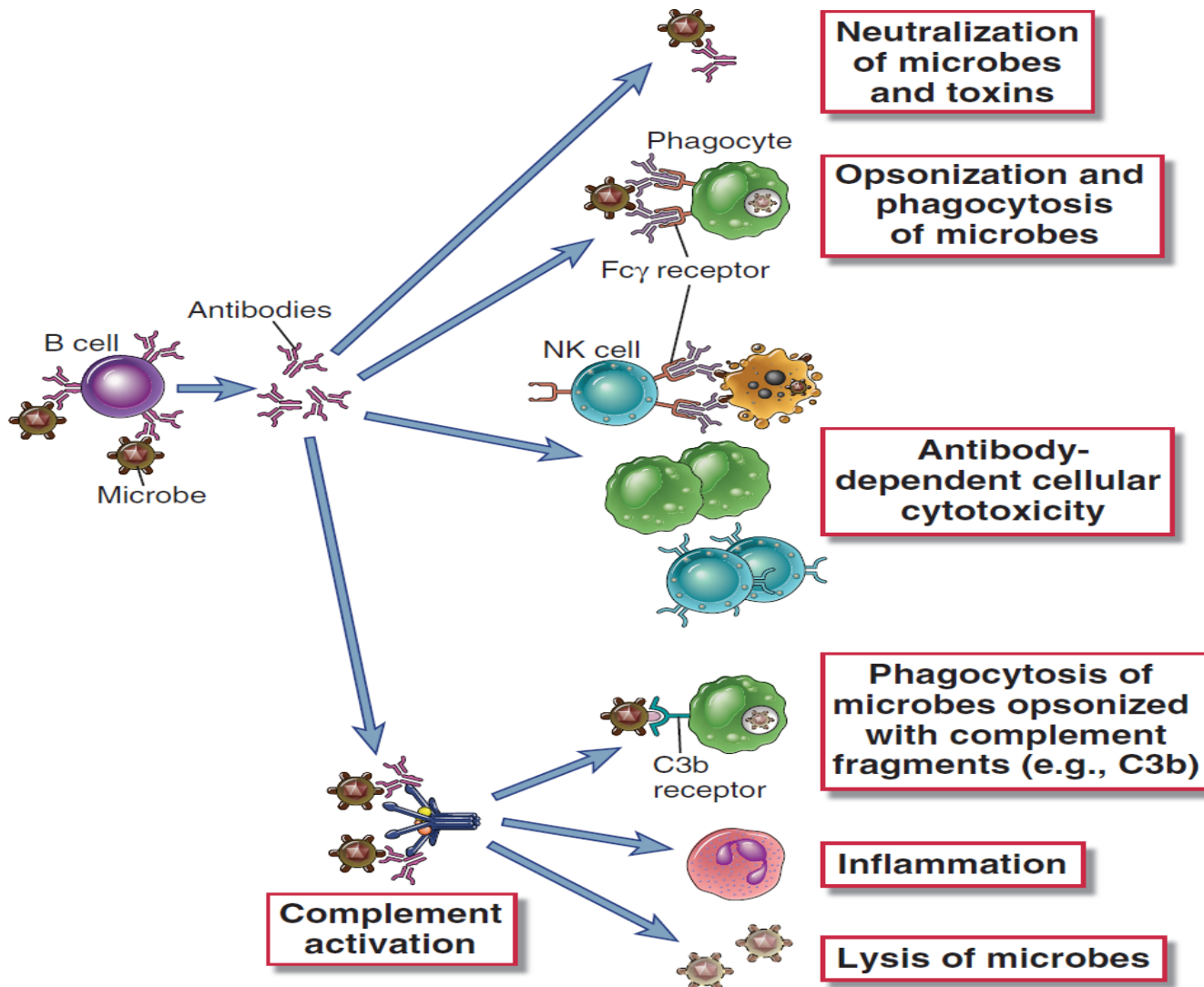
# Th1, Th2 a Th17 lymfocyty



# Základní typy regulačních T-lymfocytů



# Efektorové funkce protilátek



# Fc receptory

- Polypeptidický řetězec
- 2 nebo více domén podobných Ig
- 3 receptory pro FC domény:
- FcRI – receptory pro IgG1 a IgG3, méně pro IgG4
- FCRII a FcRIII – jen pro IgG1 a IgG
- Nachází se na neutrofilech, NK buňkách, eozinofilech a tkáňových makrofázích
- Na NK buňkách spouští cytotoxicitu
- Fcε1 receptor pro IgE
- Na neutrofilech fagocytózu

# IMUNOPATOLOGIE



Každá moderní teorie specifické imunity musí dávat odpověď nejenom na to, proč organismus reaguje proti cizím antigenům, ale i na to, proč nereaguje proti vlastním antigenům.

*(M. Hašek, 1976)*

***SPECIFICKÁ  
IMUNOLOGICKÁ TOLERANCE***

***Poškozující důsledky imunitních reakcí jsou způsobeny mimořádnými podmínkami a faktory, které pozměňují obrannou funkci imunity; pozměněná může být každá ze složek imunitních mechanismů i regulujících faktorů. Výsledkem je odchylka od normy, oscilace mezi dvěma krajními extrémy, hypo- a hyperfunkcí. Hypofunkci provází nebezpečí zvýšené vnímavosti vůči infekcím a nádorům, hyperfunkci zvýšená možnost senzibilizace a autoimunitních onemocnění.***

# Periferní tolerance

- Poté co zralé lymfocyty opustí primární lymfatické orgány, usídlí se v sekundárních lymfatických orgánech a začnou se podílet na periferní toleranci, která významně doplňuje toleranci centrální.
- Hlavní roli zde hrají regulační T-lymfocyty, které působí ve tkáních nebo spádových uzlinách a tlumí autoreaktivní buňky reagující s peptidy, které nebyly exprimovány v brzlíku a séru, nebo se vyskytly až po úplném vyvrání imunitního systému.
- Porušení periferní tolerance je nejčastější příčinou vzniku autoimunit.
- Hlavními mechanismy periferní tolerance jsou klonální ignorance, klonální anergie, suprese a klonální delece.
- To, který z mechanismů bude uplatněn v dané situaci, je určeno řadou faktorů, mezi které patří především načasování a místo reakce, intenzita reakce a v neposlední řadě přítomnost či absence kostimulačních signálů. Klonální ignorancí je označována neschopnost T a B-lymfocytů rozpoznat přítomný autoantigen.
- Prvním z důvodů může být nízká koncentrace daného autoantigenu, která neumožní aktivaci minimálního počtu receptorů.
- Druhou možností ignorance je výskyt autoantigenu v místě chráněném před imunitním systémem.
- Takováto místa jsou označována jako imunologicky privilegované oblasti. Řadíme mezi ně oko, varlata, dělohu a centrální nervovou soustavu

# Periferní tolerance

- Klonální anergie byla poprvé pozorována u B-lymfocytů Gustavem Nossalem[6]. Mechanismus spočívá v navození tolerance k vysokým koncentracím rozpustného antigenu<sup>5</sup>. U T-lymfocytů je anergií označován stav, kdy dojde k rozpoznání autoantigenu prostřednictvím TCR, ale nedostatek kostimulačních signálů neumožní aktivaci buňky. Takovýto T-lymfocyt neprodukuje dostatek cytokinů, nedochází k jeho dělení a přechází do stavu celkové anergie. Mezi hlavní kostimulační signály patří interakce molekuly CD28 na T-lymfocytu s molekulou CD80/CD86 na APC a dále vazba CD40L molekuly T-lymfocytu k molekule CD40 na buňce prezentující antigen.

# Periferní tolerance

- Jedním z nejdůležitějších mechanismů periferní tolerance je suprese autoreaktivních lymfocytů ostatními buňkami imunitního systému a jejich produkty. Tento proces není zatím dostatečně prozkoumán, předpokládá se však, že dochází k zvýšené produkci tlumivých cytokinů a ke kompetici poškozujících lymfocytů s T regulačními lymfocyty o růstové či jiné imunoregulační faktory.
- Dojde-li v našem těle k uvolnění velkého množství autoantigenů, nastává apoptotická smrt autoreaktivních buněk. Tento jev byl nazván klonální delecí a dochází k němu především při rozsáhlejších nekrózách.

# Vznik poškození

- Působením obranných reakcí proti patogenům
- Projevuje se:
  - Neadekvátní reakce na neškodné vnější antigeny (alergie, hypersenzitivita)
  - Reakcí imunitního systému na autoantigeny (autoimunitní reakce)

# Fyziologická & patologická imunitní reakce

Tab. 16 Paralely fyziologických a patologických imunitních reakcí

Imunitní mechanismus	Fyziologická reakce	Patologická reakce	Příklad onemocnění
Vazba protilátek	Neutralizace toxinů, blokování adheze virů	Neutralizace sérových proteinů Blokování buněčných receptorů	Hemofilie s protilátkami proti faktoru VIII, Myasthenia gravis
Vazba protilátek a aktivace komplementu	Opsonizace, popř. lýza mikroorganismů	Opsonizace a destrukce vlastních buněk	Autoimunitní hemolytická anémie, trombocytopenie, neutropenie
Tvorba imunokomplexů	Eliminace antigenů, stimulace akutního zánětu	Usazování imunokomplexů v tkáních	Vaskulitidy, glomerulonefritidy, sérová nemoc
Produkce IgE a aktivace mastocytů	Vypuzení intestinálních parazitů	Lokálně: místní alergický zánět Systémově: anafylaxe	Alergická rýma, atopická dermatitida, astma, anafylaktický šok
Aktivace Tc	Destrukce buněk infikovaných viry	Destrukce vlastních neinfikovaných buněk nebo buněk infikovaných relativně neškodnými viry	Kontaktní dermatitida, virové exantémy; autoimunitní hepatitidy
Aktivace Th1 a makrofágů	Obrana proti intracelulárním bakteriím (tbc, syfilis, lepra)	Destrukce vlastních tkání neúměrná infekci; autoimunitní choroby	Rozpadová tbc, roztroušená skleróza
Granulomatózní reakce	Ohraničení infekce granulomem (tbc, helmintózy, aspergilózy)	Tvorba granulocytů s následnou fibrózou kolem anorganických částic; Granulomatózní autoimunitní onemocnění	Silikóza, berylióza  Sarkoidóza

# Imunitní reakce mohou vést k poškození organismu (imunopatologické reakce)

## Mechanismy:

Čtyři typy hypersenzitivity, přecitlivělosti (Coombs a Gell)

I. Časná přecitlivělost (IgE)

II. Cytotoxicita, porucha signalizace v buňkách (IgG, IgM)

III. Reakce na imunokomplexy (Ag-Ig-C)

IV. Pozdní přecitlivělost (T-lymfocyty Th1, Th2, Tc)

## Klinické koreláty:

Alergické choroby

Autoimunitní choroby

Imunopatologické projevy při infekcích, nádorech

Reakce po transplantacích, transfúzích, vakcinaci



Type of hypersensitivity	Pathologic immune mechanisms	Mechanisms of tissue injury and disease
Immediate hypersensitivity (Type I)	<p><math>T_H2</math> cells, IgE antibody, mast cells, eosinophils</p>	<p>Mast cell-derived mediators (vasoactive amines, lipid mediators, cytokines)</p> <p>Cytokine-mediated inflammation (eosinophils, neutrophils)</p>
Antibody-mediated diseases (Type II)	<p>IgM, IgG antibodies against cell surface or extracellular matrix antigens</p>	<p>Complement- and Fc receptor-mediated recruitment and activation of leukocytes (neutrophils, macrophages)</p> <p>Opsionization and phagocytosis of cells</p> <p>Abnormalities in cellular function, e.g., hormone receptor signaling</p>
Immune complex-mediated diseases (Type III)	<p>Immune complexes of circulating antigens and IgM or IgG antibodies deposited in vascular basement membrane</p>	<p>Complement and Fc receptor-mediated recruitment and activation of leukocytes</p>
T cell-mediated diseases (Type IV)	<p>1. <math>CD4^+</math> T cells (delayed-type hypersensitivity) 2. <math>CD8^+</math> CTLs (T cell-mediated cytotoxicity)</p>	<p>1. Macrophage activation, cytokine-mediated inflammation</p> <p>2. Direct target cell lysis, cytokine-mediated inflammation</p>

# Hygienická hypotéza

Nedostatek expozice infekčním činitelům, symbiotickým mikroorganismům (např. střevní flóře nebo probiotikům) a parazitům zvyšuje náchylnost k alergickým onemocněním, prostřednictvím utlumeného vývoje imunitního systému.... David P. Strachan 1989

# Přecitlivělost (hypersenzitivita)

- Objektivně reprodukovatelné příznaky nebo projevy vyvolané expozicí definovanými podněty v dávce, která je u normálních jedinců tolerována.
- Pokud je navozena specifickými alergickými mechanismy, mluvíme o alergii.

# Atopie

- Atopie je osobní a/nebo rodinná dispozice, stát se, většinou v dětství nebo dospívání přecitlivělým a tvořit IgE protilátky jako odpověď na běžnou expozici alergenům.
- Pojmy atopie a atopický by měly být vyhrazeny k vyjádření genetické predispozice k IgE senzibilizaci na alergeny běžně se vyskytující v prostředí, jimž je každý vystaven, ale většina lidí na ně tvorbou IgE protilátek nereaguje.

# ALERGICKÁ PŘECITLIVĚLOST neboli přecitlivělost prvního typu

## Zprostředkovaná IgE -**atopická**

- atopie je individuální nebo rodinný sklon k tvorbě protilátek IgE již na malá množství alergenů, obvykle proteinů
- typické projevy – bronchiálního astma  
rhinokonjunktivitida
- syndromu alergického ekzému/dermatitida

## **neatopická**

- hmyzí jed, helmintózy, léky,...

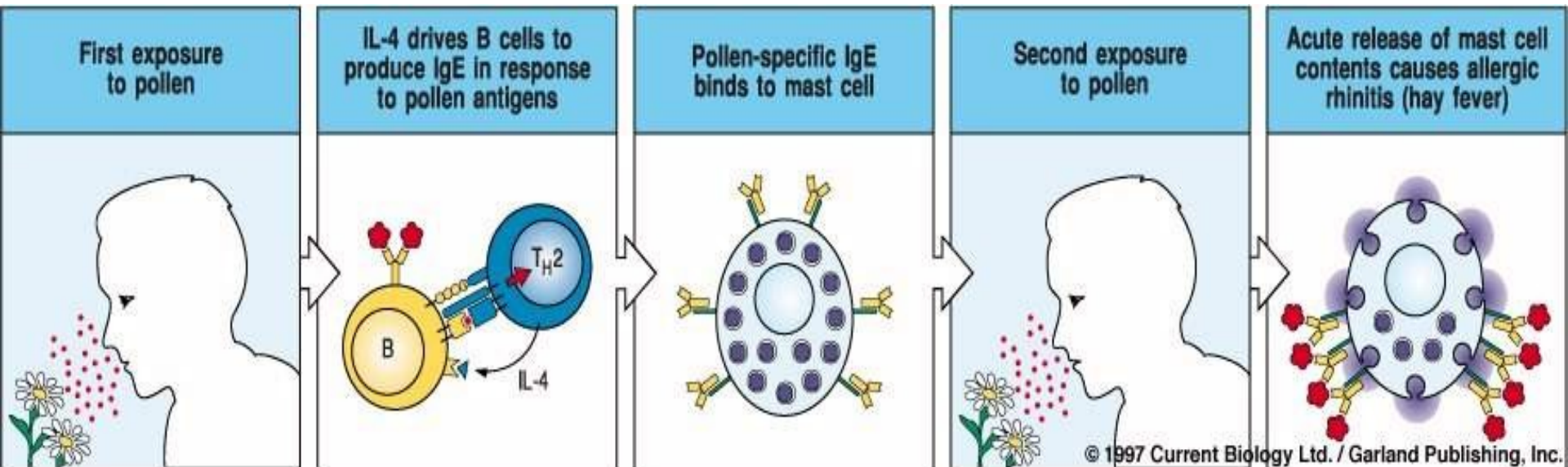
# Imunopatologické reakce humorální - s účastí IgE protilátek

- **Atopie – reakce typu 1 nebo též přecitlivělost časného typu**
- K reakci dochází velmi rychle po setkání s Ag (minuty)
- Spojen s tvorbou IgE proti některým antigenům alergenům z vnějšího prostředí:
  - složky pylových zrněk
  - antigeny roztočů z domácího prachu
  - potravinové antigeny
  - zvířecí srst
  - Většina alergenů proteiny nebo glykoproteiny s enzymatickou aktivitou

# Rozvoj senzibilizace

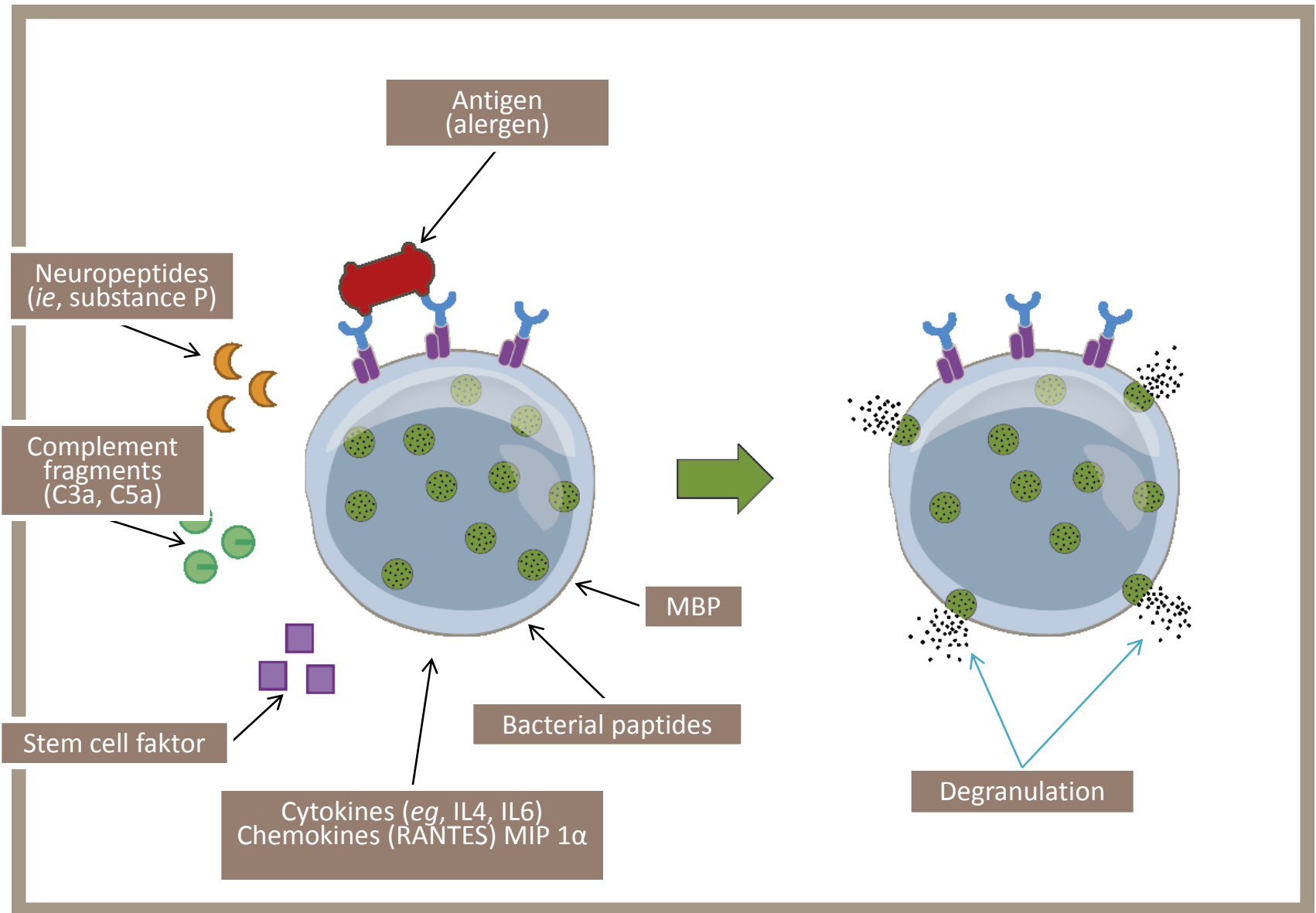
- Na sliznicích dýchacího nebo zažívacího traktu
- Alergen pronikne do hlenové vrstvy
- Kontakt s epitelem a APC buňkami
- Dendritické bb. – preferenční reakce typu Th2
- Stimulace B-lymfocytů k produkci IgE
- IgE se váže na vysoce afinitiní receptory žírných buněk a bazofilů
- → senzibilizace pacienta – probíhá bez klinických projevů
- Při dalším setkání s alergenem – rozvoj zánětu

# Type-I hypersensitivity



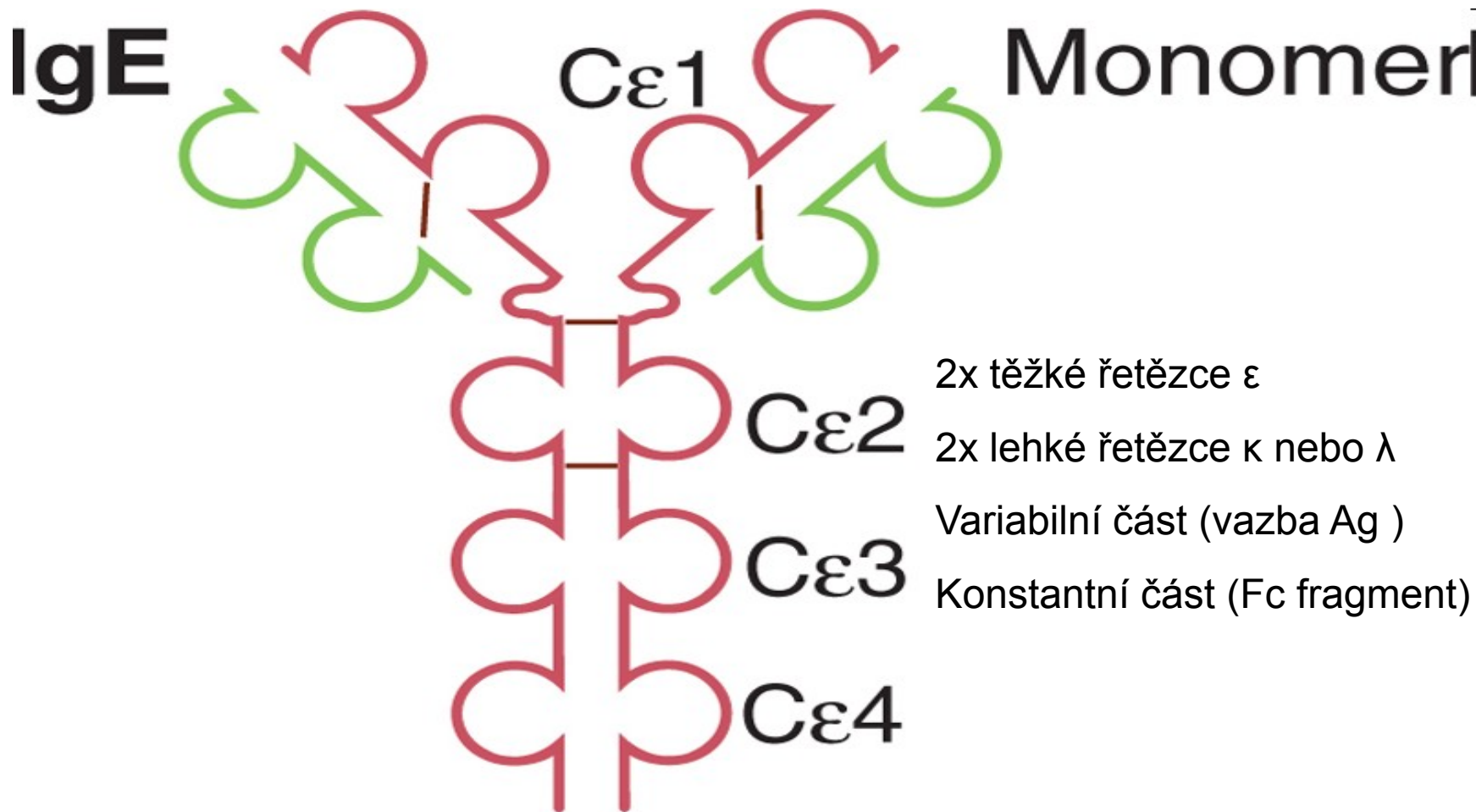


# Ways of Activation of Mast Cells



## Patofyziologie

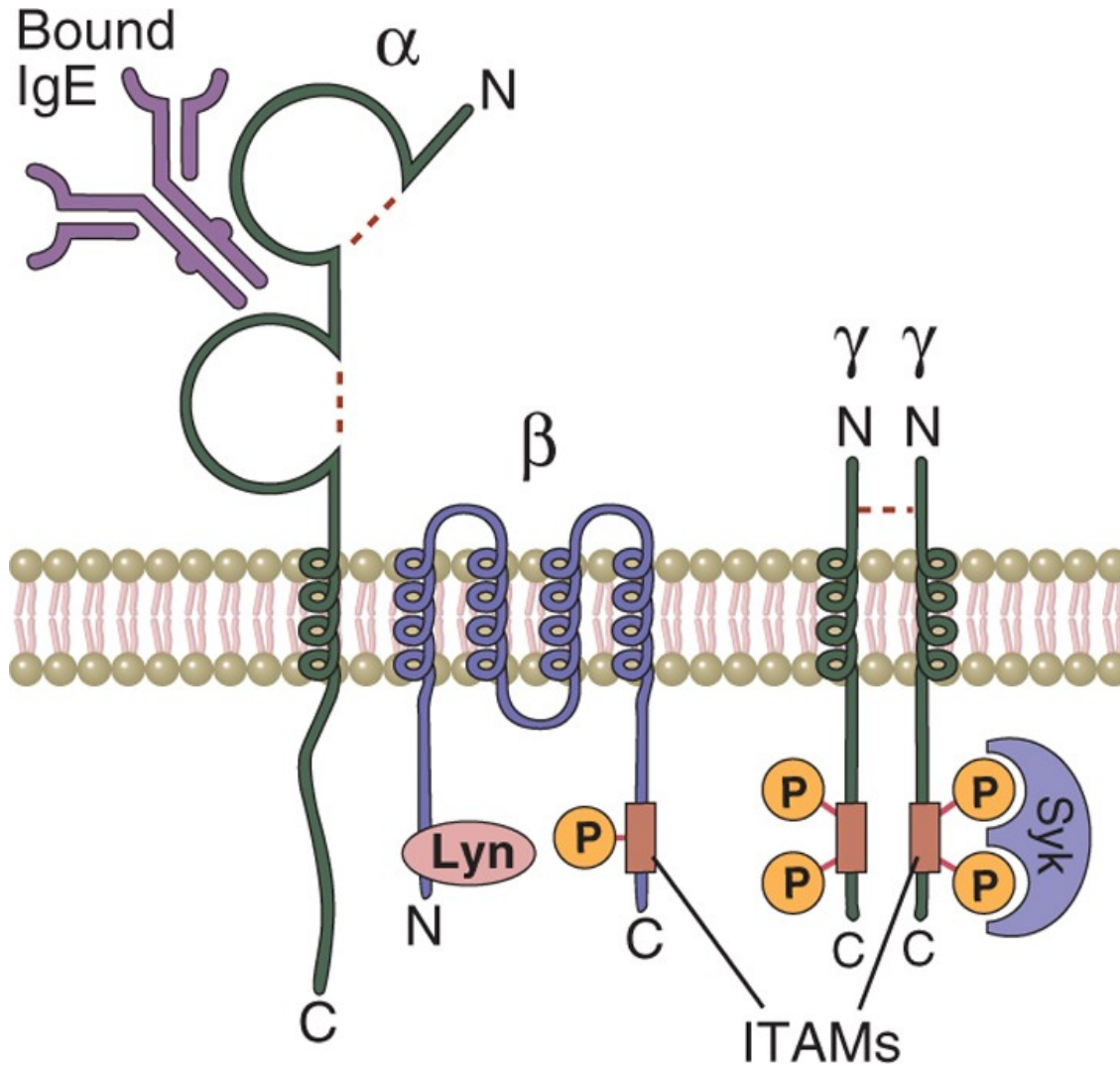
### Mechanismus IgE mediovaných alergických reakcí



# Regulace tvorby IgE:

- Tvorby zvyšují zejména IL-4 a IL-13 - produkty TH2 lymfocytů
- Tlumivě působí zejména IFN $\gamma$  - produkt TH1 lymfocytů

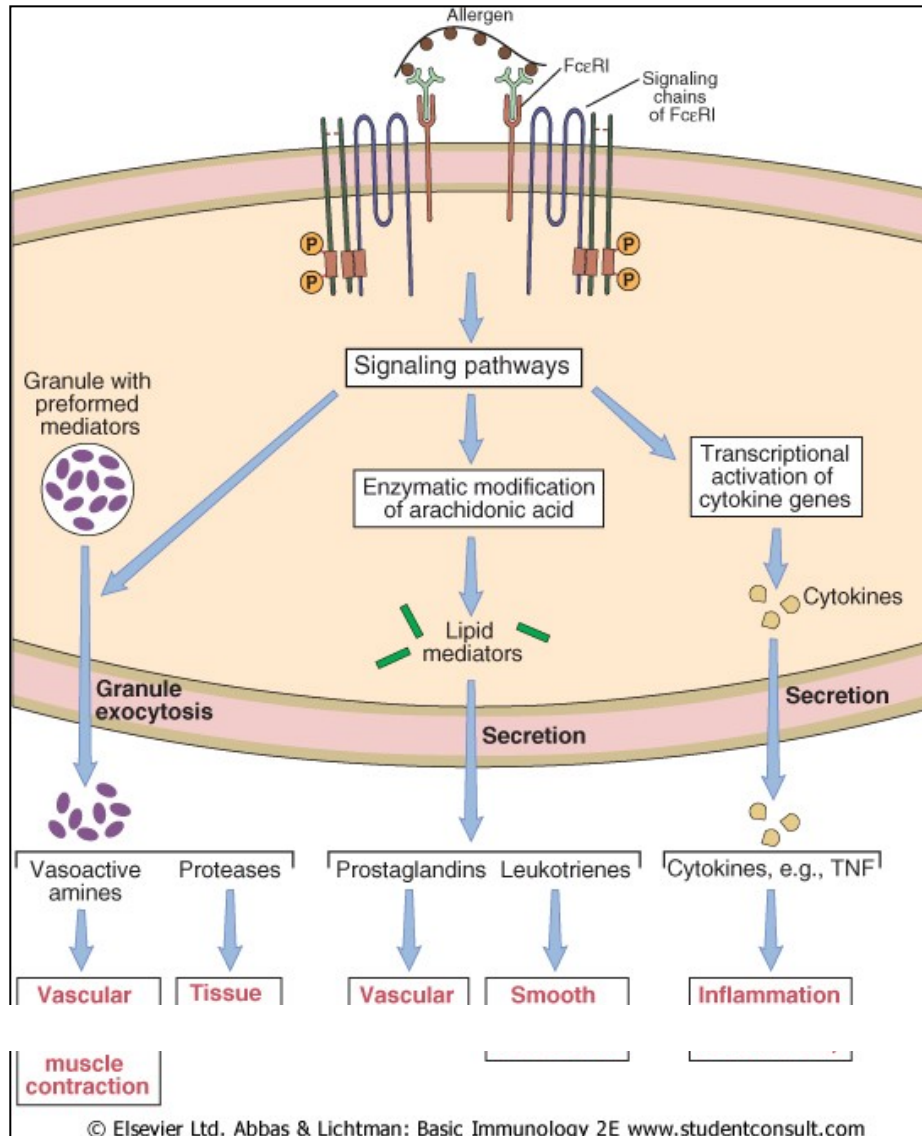
# Patofyziologie Fcε1 receptor



# Mediátory žírných buněk

- Preformované: Histamin, heparin, chondroitinsulfát, chymáza, tryptáza, faktor chemotaktický pro eozinofily
- Nově syntetizované: leukotrieny, prostaglandiny, PAF
- Cytokiny: TNF- $\alpha$  (aktivace fagocytů), TGF- $\beta$  (fibrotizace stěny bronchů), IL-5 (stimulace tvorby eozinofilů), IL-6 (mj stimulace tvorby imunoglobulinů, včetně IgE).

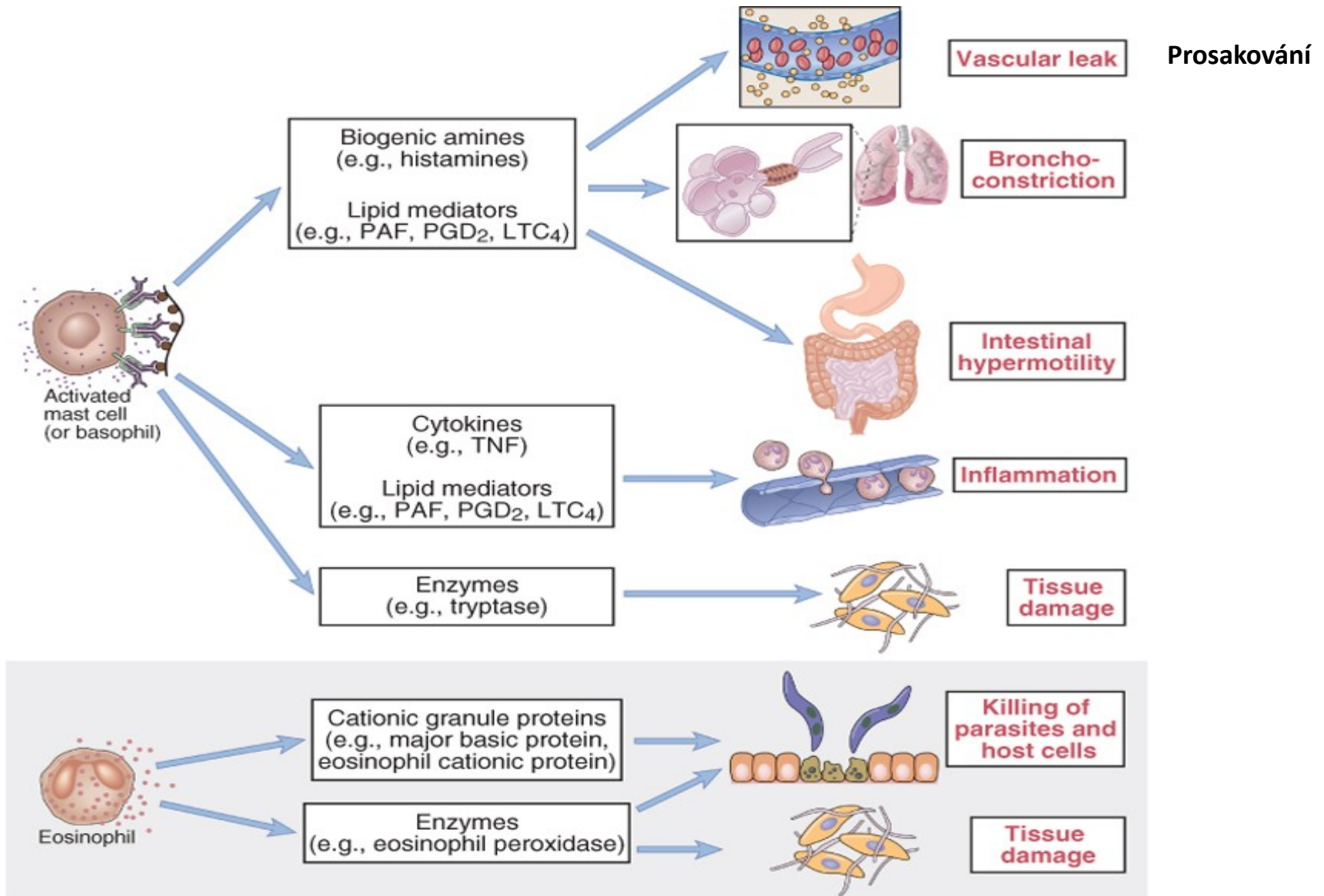
# Následky aktivace žírné buňky



# Mediátory pozdní fáze alergického zánětu

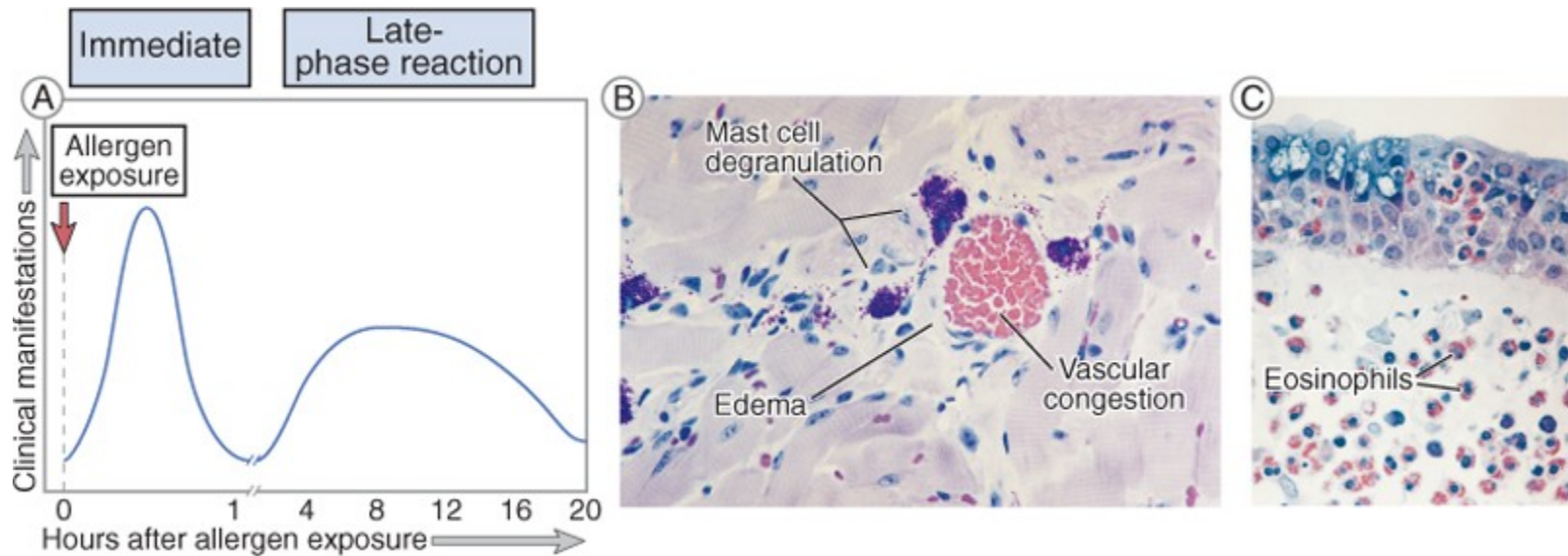
- Prostaglandiny:  $\text{PGD}_2$  - zarudnutí, zvýšená permeabilita kapilár, bronchokonstrikce
- Leukotrieny:  $\text{LTB}_4$ : chemotaxe granulocytů
- $\text{LTC}_4$  a  $\text{LTD}_4$ : kontrakce hladké svaloviny cév, spasmus průdušek
- Destičky aktivující faktor (PAF): stimulace makrofágů k tvorbě IL-1 a  $\text{TNF-}\alpha$ . Aktivace destiček, neutrofilů a eozinofilů. Nejúčinnější chemoatraktant pro eozinofily.
- RANTES - produkován T-lymfocyty. Působí chemotakticky na lymfocyty a eozinofily.

# Následky aktivace žírné buňky a eosinofilů





# Patofyziologie – okamžitá a pozdní reakce



B - Degranulace, otok, cévní překrvení

C - Zvýšení koncentrace eozinofilů

# Průběh pozdní fáze

- Autonomně – chronický zánět bez závislosti na vyvolávajícím antigenu
- Přejchod do atopického ekzému
- Chronického astmatu
- Přejchod do patologické reakce zprostředkované buňkami – reakce oddáleného typu IV.

# Buňky účastníci se zánětu při alergické reakci

- Dendritické buňky – prezentace alergenu

## 1. fáze

- Th2 lymfocyty (regulace tvorby IgE)
- B lymfocyty – produkující IgE

- Bazofily – produkce histaminu a heparinu

- Žírné buňky - produkce histaminu a mediátorů pozdní zánětlivé reakce

## Přechod

- Eozinofily - produkce leukotrienů, PAF, Th2 cytokinů, toxických produktů, TGF- $\beta$

- Neutrofilly - tvorba kyslíkových radikálů, cytokinů, chemokinů

## 2. fáze

- Makrofágy - tvorba zánětlivých cytokinů, ale i TGF- $\beta$  a dalších růstových faktorů pro fibroblasty

- Epiteliální buňky - mj. produkce eotaxinu

- Fibroblasty - fibrotická přestavba zánětlivé tkáně

# Bazofily

- Produkce histaminu a heparinu
- Ovlivňují proudění krve a prostupnost krevních kapilár
- Heparin zabraňuje srážení krve
- Histamin – relaxační účinek na svalovinu cév – dochází k rozšíření cévy
- Reakce na obě látky se projeví – zarudnutím, slzením, rýmou

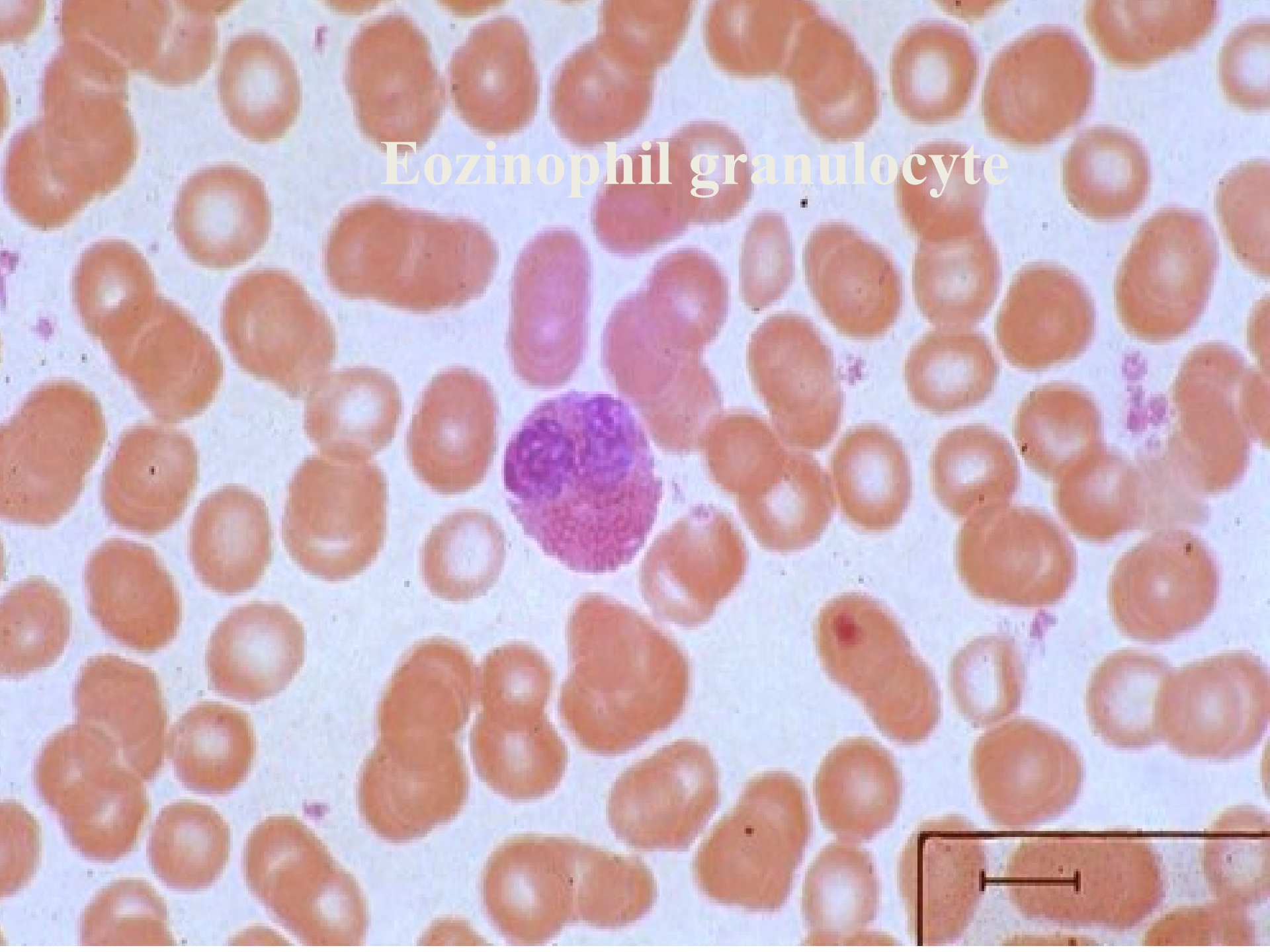
# Žírné buňky

- **1. fáze stimulace – preformované mediátory:** Histamin, heparin, chondroitinsulfát, chymáza, tryptáza, chemotaktický faktor pro eozinofily
- **2. fáze stimulace - syntéza nových mediátorů:**  
leukotrieny, prostaglandiny, PAF  
*cytokiny:* TNF- $\alpha$  (aktivace fagocytů), TGF- $\beta$  (fibrotizace stěny bronchů), IL-5 (stimulace tvorby eozinofilů) , IL-6 (mj. stimulace tvorby imunoglobulinů včetně IgE).

# Eozinofilní granulocyty

- Jejich produkce je stimulována IL-5 a IL-3.
- Pozitivně chemotakticky na ně působí zejména, PAF, RANTES, C5a, LTB<sub>4</sub>, eotaxin.
- Toxické produkty: major basic protein (MBP), eosinophil cationic protein (ECP), eosinophil-derived neurotoxin (EDNT), eosinophil peroxidase (EPO) - jedná se o proteiny toxické pro řadu buněk, včetně epitelii dýchacích cest.
- Produkce cytokinů: IL-1, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, TGF-β, RANTES

Eozinophil granulocyte



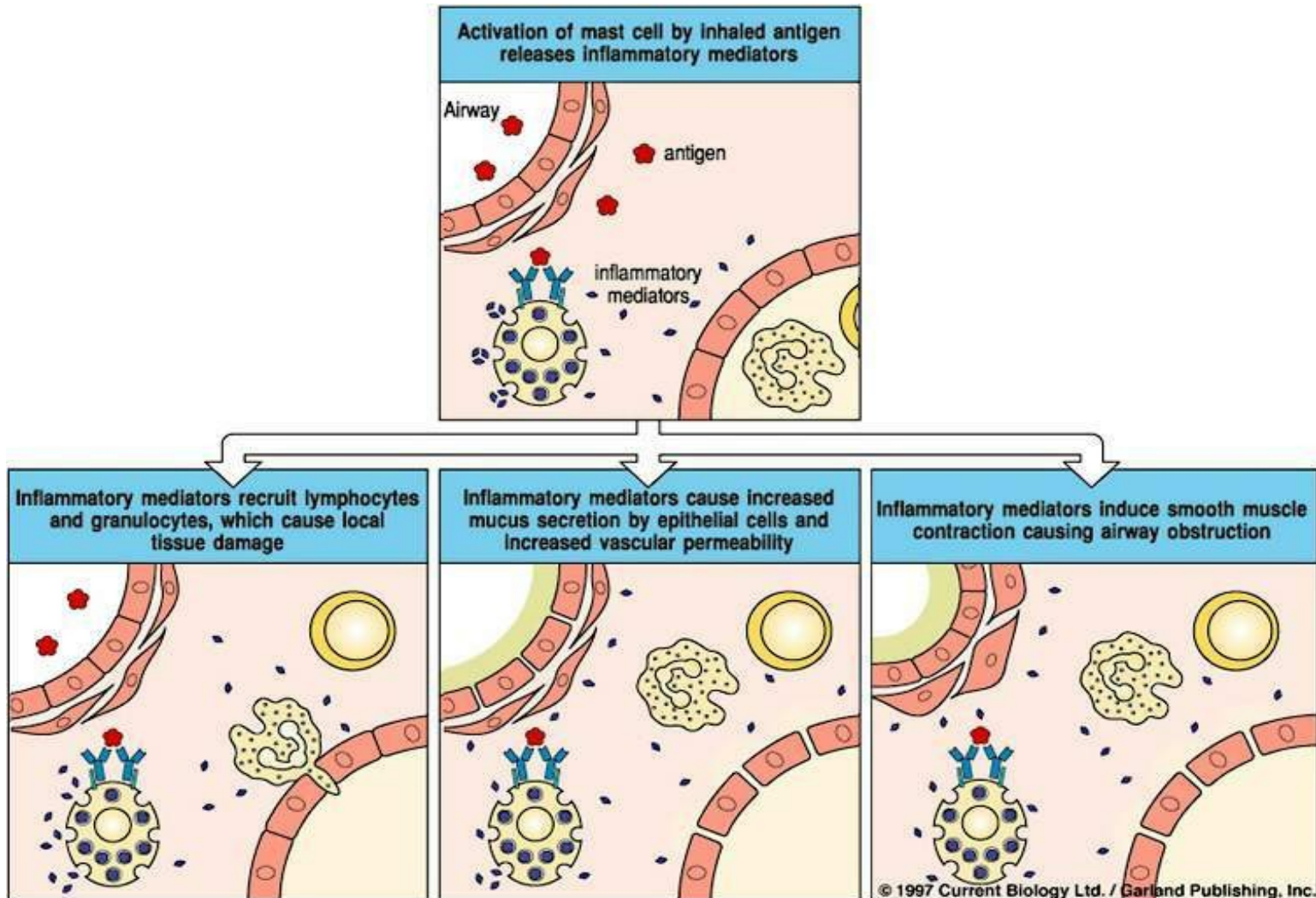
# Alergické choroby



# Alergická rýma

- Vodnatá rýma
- Nosní obstrukce
- Svědění nosu
- Příznaky trvající po dobu přítomnosti alergenu v ovzduší (tj obvykle déle než několik týdnů)
- Doprovodné příznaky: alergické konjunktivitidy, sinusitidy

# Allergic reaction in bronchi





# Astma bronchiale

- Zvýšená reaktivita průdušek projevující se reverzibilní obstrukcí.
- Projevem jsou záchvaty dušnosti především expiračního charakteru. Někdy může být příznakem pouze dráždivý kašel.
- Postupně dochází k remodelaci bronchiální stěny.
- Patofyziologickým podkladem je chronický, především eozinofilní zánět.
- Častou, ale ne výlučnou, příčinou astmatu je atopický typ alergie.

# Astma bronchiale epidemiologie

## Prevalence ČR

- celková 8%, u dětí 11-15%
- vzestup (postihuje osoby všech věkových kategorií, nelze jej vyléčit)

Astma v naší populaci postihuje až 800 000 lidí

→ správně rozpoznáno (a léčeno) méně než 50% astmatiků (GB 40%)

◀ variabilita nemoci, obtížnost objektivního zachycení všech projevů

- **2/3 případů diagnostikovány v dětském věku**
- **v dětství převaha chlapců : = 2:1**
- **v pubertě ústup příznaků častěji u chlapců**
- **nad 40 let věku převaha žen**

**Na světě cca 300 milionů nemocných s AB**

# Rozpoznání astmatu

- Pískoty (wheeze)
- Dušnost (dyspnoe)
- Tíseň na hrudníku (chest tightness)
- Kašel
- Déle trvající rýma
- Specifickým znakem těchto symptomů je:

**PROMĚNLIVOST**

-dočasnost

-zhoršení v noci a při kontaktu se spouštěčem

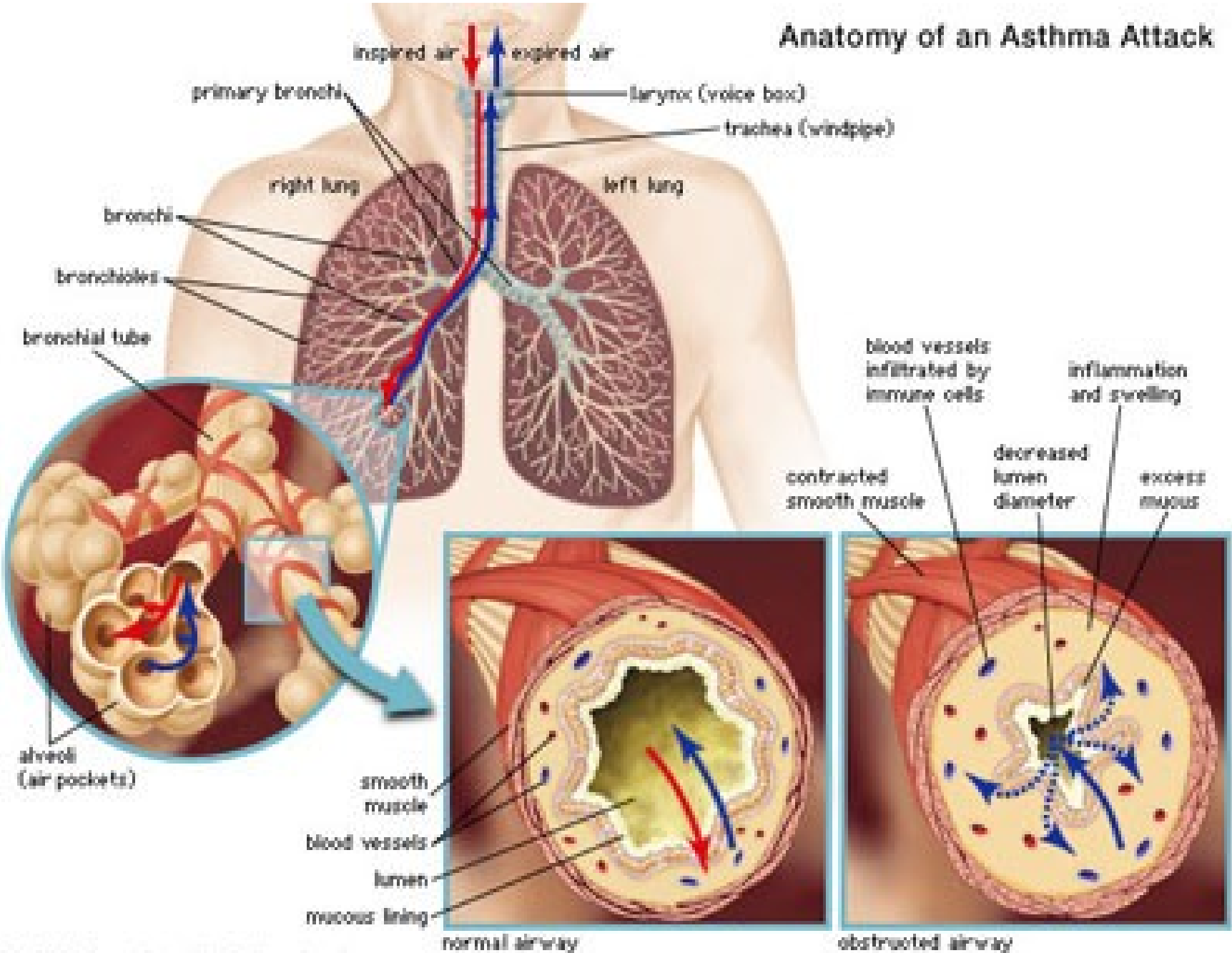
# Etiopatogeneze

## Buňky:

- Eozinofily: produkce mediátorů může přispívat k poškození tkání dýchací soustavy
- Mastocyty: akumulované hlavně v blízkosti povrchu sliznice u astmatiků, produkce cytokinů
- Monocyty: prezentace Ag Th-2 lymfocytům
- Dendritické buňky
- T regulační lymfocyty

Metabolity: IL-4, IL-5 a IL-13, Leukotrieny

# Anatomy of an Asthma Attack





# Výsledek: zúžení bronchů

Procesy:

1. Kontrakce hl. svalů dolních cest dýchacích
2. Ztluštění sliznice d.c. –zánětovým edémem nebo infiltrace zánětotvornými buňkami, ztluštění bazální membrány
3. Zvýšení množství a/nebo změna kvality hlenu
4. Hypertrofie hladkých svalů a zmnožení pojivového tkaniva dolních dýchacích cest
5. Zvýšená vaskularizace a angiogeneze

# FORMY:

## 1. Akutní astmatický záchvat

- a) klidové údobí
- b) záchvatové údobí
- Projevy: nepřetržitá dýchavičnost, silná cyanóza, vyčerpanost, rychlé povrchní dýchání, tachykardie  
příznaky přetížení pravého srdce, poruchy vědomí

## 2. Status asthmaticus:

Těžká exacerbace bronchiálního astmatu

## 3. Chronické astma bronchialis

# Vyšetření:

labor. - KO - eosinofilie, IgE celk., IgE spec., ECP, krevní plyny

- funkční testy - spirometrie, bronchodilat. a bronchokonstrikční testy
- sputum - přítomnost eosinofilů, vyloučení infekce
- vydechovaný vzduch - koncentrace feNO koreluje s kompenzací asthmatu
- výdechový koncentrát - detekce leukotrienů B4/C4/D4/E4  
- cytokiny
- rtg plic (CT-HRCT při susp. na postižení bronchiolů)
- ORL - polypy, chron. záněty, anatom. změny
- alergologické vyšetření

# Analyzátor NO- Hypair Fe<sub>NO</sub>

Oxid dusnatý (NO) - důležitý ukazatel probíhajícího zánětu u astmatu

Největší význam: hodnocení účinnosti terapie

= neinvazivní způsob monitorování zánětu dýchacích cest pomocí měření vydechovaného NO

# Výskyt atopických chorob

- 20-30% populace jsou atopici
- Astma bronchiale v celé české populaci: 5-6%
- Astma bronchiale u dětí v ČR: asi 10%
- Mortalita na astma v ČR v roce 1999: 128
- Atopický ekzém u předškolních dětí: asi 10%
- V Evropě zemře každoročně asi 100 osob na anafylaktickou reakci po bodnutí blanokřídlým hmyzem.

# Genetické aspekty atopických chorob

- Pravděpodobnost atopie u dítěte :
  - jsou-li oba rodiče atopici je asi 80%,
  - je-li jeden atopikem: 50%,
  - není-li nikdo atopik: 15%.
- Konkordance astmatu u monozygotních dvojčat je pouze 50-69%

# Co je atopický ekzém

- Ekzém alergického původu
- Postihuje děti i dospělé
- Projev – kožní vyrážka
- Velmi svědivý

# Příčiny ekzému a souvislosti

- Dědičné onemocnění
- Často součást senné rýmy, astmatu či potravinové alergie
- Na podzim dochází k zhoršení
- Silné svědění vyvolává propocení



# Co vyvolává atopický ekzém

- Nejčastější alergen - **potravin**y
- Nepříznivě působí kosmetické a hygienické prostředky, chemikálie, oděv
- Nedostatek spánku a odpočinku
- Hormonální změny u žen

# Kojenecká forma atopického ekzému

- Začátek – 3. měsíc, zhoršení ekzému – 10. měsíc
- Lokalizace – tváře, brada, čelo
- Vyvolávající faktory – potravinové alergen y (kravské mléko, citrus. plody, kakao)



# Kojenecká forma atopického ekzému

- V některých případech vymizí
- Častý přesun ložisek ekzému
- Škrabání zhoršuje průběh ekzému – v důsledku zanesení infekce

# Diagnostika atopické přecitlivělosti

- Anamnéza
- Celkový a specifický IgE
- Eosinofilie
- Specifické IgE
- Test aktivace bazofilů
- Eosinofilní kationický protein v séru
- Kožní testy
- Provokační a eliminační testy
- Vyšetřování NO ve vydechovaném vzduchu

# Léčba atopické přecitlivělosti

- Eliminace antigenu
- Antihistaminika
- Stabilizátory žírných buněk
- Glukokortikoidy – především podávané lokálně
- Antileukotrieny
- Úlevové léky- dekonescencia,  $\beta$ -2-mimetika, parasimpatolytika
- Alergenová imunoterapie

# Prevalence potravinové alergie

2-3,2% (prevalence bez zohlednění věku)

Zohledňujeme:

věk, zeměpisné rozšíření a tradice, původ  
potraviny

# Potravinová alergie

- Ořechy (lískové, burské, vlašské)
- Ryby (ve světě treskovité, u nás „bílá“ ryba sladkovodní)
- Měkkýši, korýši
- Sója, mouka, sýry, mák, aditiva

# Diagnostika

- Anamnéza
- Dvojitě zaslepený placebem kontrolovaný expoziční test
- Otevřené expoziční testy
- Specifické IgE
- Kožní prick testy
- Endoskopie a biopsie jícnu, žaludku, střev..



# Léčba potravinové alergie

- Eliminační dieta
- Léčba alergie na bílkovinu kravského mléka (kojenci, batolata) : hydrolýza
- Medikamentózní léčba: antihistaminka, kromoglykát sodný, symptomatická léčba, střevní eubiotika

# Neimunologické reakce (farmakologický mechanismus)

- Histaminoliberátory: jahody, čokoláda, alkohol...
- Histamin: ryby, rajčata, ementálský sýr....
- Serotonin: banán, ananas, avokádo...
- Tyramin: sýry, citrusové plody, pivo, makrela, sledi...
- Tryptamin: salámy, šunka, feferonky...
- Kapsaicin: papriky
- Fenyletylamin: sýry, kakao, čokoláda..
- Jiné vazoaktivní peptidy: avokádo, citrusové plody, vše z kvašení...
- Lektiny: luštěniny
- Tartrazin (žluť): nápoje, výrobky z ovoce
- Plísně: sója, kukuřice, obilí, víno, pivo, sýry, kakao
- Éterické oleje: cibule

# Alergie na léky

Alergie – imunopatologický mechanismus vzniku

# Diferenciální diagnostika lékové alergie

- Toxicita
- Intolerance
- Idiosynkrazie – intolerance na podkladě jiného defektu
- Jiné vedlejší účinky léků
- Symptomy probíhajícího onemocnění

## Anafylaxe definice

- Anafylaktická reakce (anafylaxe) je akutní alergická reakce, vznikající na podkladě imunopatologické reakce I.typu mediované protilátkami IgE.
- Nejtěžší, život ohrožující formou anafylaktické reakce je anafylaktický šok.
- Potraviný, léky, hmyzí jedy, diagnostické a léčebné alergenové extrakty (vakcíny), latex...

# Prevalence anafylaxe

- Prevalence 3 až 30 případů na 100 000 obyvatel, ČR 500-3000 případů ročně (odhad)
- 33-36% potraviny
- 15% hmyzí bodnutí
- 17% léky
- 7% námaha
- idiopatická anafylaxe
  
- 20% anafylaxí proběhne dvoufázově
- 37% postižených má zkušenost s předchozí anafylaxí
- Fatální případy 0,5% (u potravin 5%)

## Klinický obraz anafylaxe

- Závisí na typu alergenu, jeho alergenové potenci, způsobu a místě vstupu do organismu a stupni senzibilizace postiženého.
- Rozlišujeme projevy místní a celkové.

# Místní projevy anafylaxe

- **oběhový systém: bledost, studený pot, nitkovitý puls, tachykardie, hypotenze, arytmie**
- kůže: pruritus, erytém, exantém, urtikárie, edém
- dýchací trakt: rýma, chrapot, kašel, dušnost, astmatický záchvat
- zažívací trakt: nauzea, bolest břicha, zvracení, průjem
- urogenitální systém: spazmy dělohy, močového měchýře, renální kolika
- nervový systém: nervozita, strach, neklid, bolesti hlavy, porucha vědomí



## Celkové projevy anafylaxe

Vystupňování a kombinace projevů místních, dochází k rozvoji šokového stavu (bezvědomí, křeče, povolení svěračů) a k selhání respiračního a kardiovaskulárního systému.

## Terapie anafylaxe

- Lékem první volby je adrenalin (Adrenalin Léčiva inj., Adrenalin 1:1 000 Jenafarm inj)
- injekční antihistaminikum, např. Dithiaden
- Kortikosteroid
- Plasmaexpandéry, volumexpandéry
- Inhalační beta-2 mimetikum

# Protišokový balíček

- Adrenalin (např. autoinjektor EpiPen 0,3mg pro dospělé, EpiPen Junior 0,15 mg pro děti)
- Perorální nebo rektální kortikosteroid (např. Prednison forte, Medrol, Rectodelt)
- Perorální antihistaminikum (např. Dithiaden tbl, Zyrtec gtt a pod.)
- Inhalační beta-2 mimetikum ( např. Ventolin, Berotec aerosol)
- Škrtidlo, event. dezinfekce, jehla, injekční stříkačka
- Návod k použití

## Anafylaktoidní reakce

Pokud podstatou obtíží není imunologická reakce zprostředkovaná protilátkami IgE, ale jiným typem protilátek (např. IgG), imunokomplexy či anafylatoxiny, nebo se vůbec nejedná o imunitní mechanismus, mluvíme o reakci anafylaktoidní.

# Anafylaktoidní reakce mechanismy vzniku

- **přímé uvolnění mediátorů z žírných buněk a bazofilů**
- - léky, fyzická zátěž, fyzikální faktory (chlad, sluneční záření), neznámá příčina
- **poruchy metabolismu kyseliny arachidonové**
- - aspirin, nesteroidní protizánětlivé léky
- **imunní agregáty**
- - séra, imunoglobulíny (i.v., i.m.), transfúze krve ( IgG-antilgA), dextran, albumin
- **ostatní mechanismy**
- - radiokontrastní látky, polysacharidy, opiáty,

# Diagnostika alergie

- Důkladná anamnéza
- Fyzikální vyšetření
- Alergologické testy: in vivo / in vitro  
provokační / eliminační

„Zlatý standard“ kožní test poprvé byl proveden Charles Harrison Blackleym (\*5.4.1820, †4.9.1900) roku 1870.



*Blackley, C. H. (1873)*

*Experimental Researches on the Causes and Nature of Catarrhus Aestivus (Hay-Fever or Hay-Asthma).*

*Blackley, C. H. (1880).*

*Hay Fever: Its Causes, Treatment, and Effective Prevention.*

# Alergeny mohou způsobovat různou reakci

- Většina alergenů proteiny nebo glykoproteiny s enzymatickou aktivitou
- Komplexní organické sloučeniny – protilátková odpověď
- Anorganické látky (kovy) – buněčná odpověď

# Diagnostika alergie

## Alergie diagnostika in vivo

Princip : zavedení malého množství dobře charakterizovaného alergenového extraktu do epidermis.

Žírné buňky 5-12 000/mm<sup>3</sup> v závislosti na lokalizaci, věku

+ reakce : Alergenové přemostění alergen-specifických molekul IgE na povrchu kožních žírných buněk → indukce signálu → degranulace, uvolnění histaminu + novotvorba dalších mediátorů (vazodilatace, ↑cévní permeability)

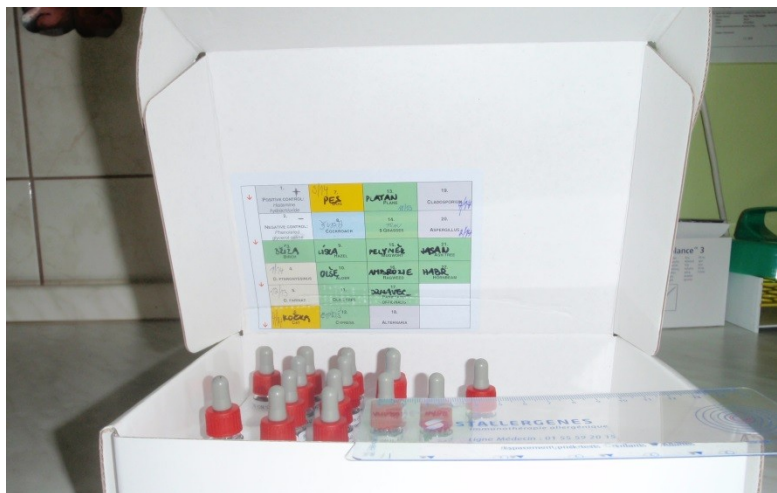
→ tkáňový otok, pupen

- Prick test (inhalační alergen, potravinové alergen)
- Intradermální test (hymenoptera)



# Diagnostika alergije

## Alergie diagnostika in vivo



# Diagnostika alergije

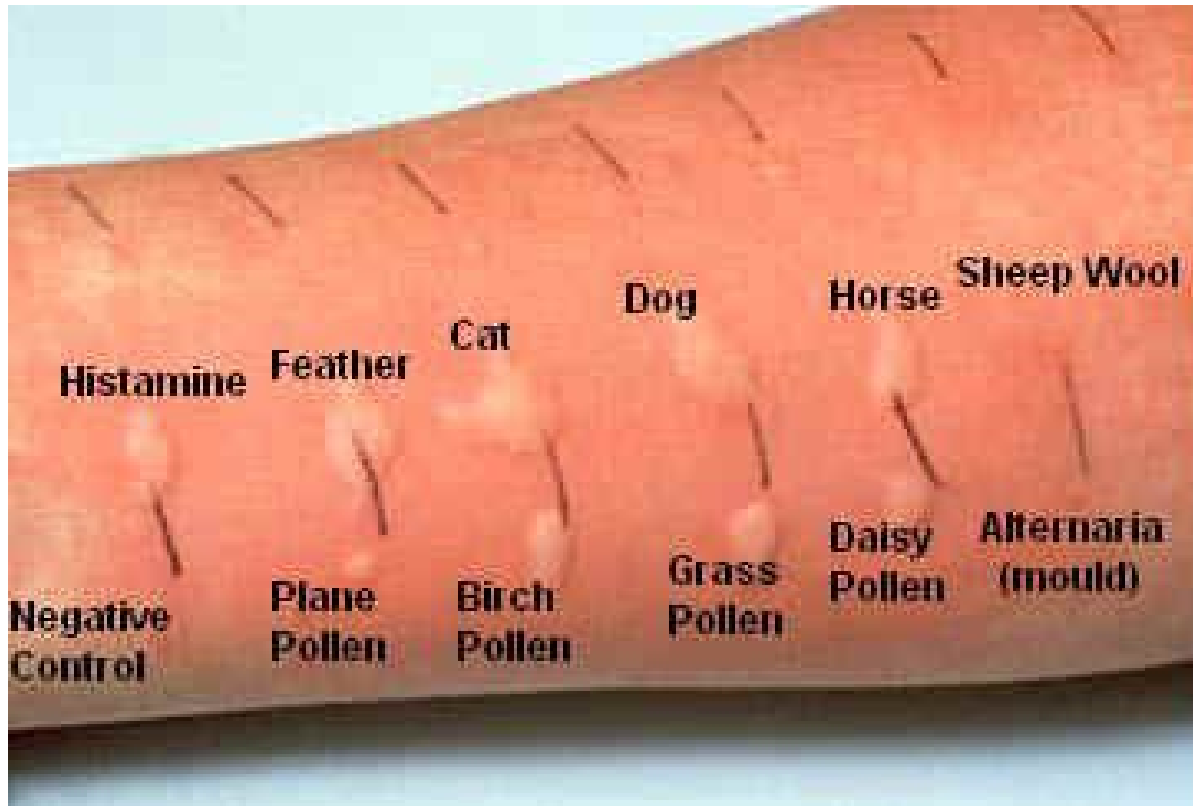
## Alergie diagnostika in vivo



Zdroj [www.allergyclinic.co.uk](http://www.allergyclinic.co.uk)

# Prick

Hodnocení: za 15 min, mm pupen/erytém, + vnik intradermálního pupenu >3mm u dospělých, u dětí je často výraznější erytém než pupen



Zdroj: [www.allergyclinic.co.uk](http://www.allergyclinic.co.uk)

# Diagnostika alergie

## Alergie laboratorní diagnostika

- Stanovení celkového a specifického IgE
- Eozinofilie v KO
- Test aktivace bazofilů
- Testy uvolnění mediátorů
- Testy aktivace a transformace lymfocytů po stimulaci alergenem

# Provokační testy, eliminační testy

- Bronchoprovokační testy
- Nazální provokační testy
- Konjunktivální provokační testy
- Expoziční potravinové testy, eliminační dieta

# Terapie alergie

- Eliminace alergenů
- Farmakoterapie úlevová/profylaktická terapie
- Imunoterapie alergenem = jediná kauzální léčba alergie



Terapie alergie: chorobu modifikující léky  
alergenová imunoterapie, desenzibilizace,  
hyposenzibilizace AIT: formy AIT

- SCIT (s.c injekce)
- SLIT (kapky)

# Contact dermatitis due to nickel hypersensitivity



Zdroj obrázku: Allergy Capital: *Contact dermatitis*. Australian Allergy, Asthma and Immunology Information. 13 February 2010.

[http://www.allergycapital.com.au/allergycapital/Contact\\_dermatitis.html](http://www.allergycapital.com.au/allergycapital/Contact_dermatitis.html)



# Contact dermatitis due to nickel hypersensitivity

Copyright © 2000. All Rights Reserved.



UBC Dermatology <http://www.derm.ubc.ca>

Immunology Information. 13 February 2010.

[http://www.allergycapital.com.au/allergycapital/Contact\\_dermatitis.html](http://www.allergycapital.com.au/allergycapital/Contact_dermatitis.html)

# ALERGICKÁ PŘECITLIVĚLOST (2)

## Nezprostředkovaná IgE

T-lymfocyty (kontaktní dermatitida)

Eosinofilní leukocyty (gastroenteropatie)

IgG (alergická alveolitida)

jiné imunologické mechanismy

# Alergeny vyvolávající pozdní typ přecitlivělosti

- Reaktivní chemikálie obsažené v léčích, kosmetických výrobcích, nátěrových hmotách, soli některých kovů silice rostlin
- Vznik kontaktní alergie – diferenciaci do Th1 lymfocytů

# Panalergeny

- Vyskytují se současně v různých přírodních zdrojích
- Shoda AK sekvencí 90%
- Častá příčina „ zkřížené alergie“
- Např. profylin:  
Obsažen – pyl břízy, arašídů, celer, jablka, hrušky, peckoviny

# Nejčastější alergen

- Inhalační:
  - Pyly – traviny, stromy, plevele
  - Roztoči domácího prachu
  - Zvířecí alergen
  - Plísně
- Potravinové
  - Mléko
  - Vejce
  - Ořechy
  - Mořské plody
- Léky
  - Penicilinová antibiotika, lokální anestetika
- Injekční
  - Jed blanokřídlého hmyzu

# ALERGENY-taxonomie

*první tři písmena=rod    další písmeno=druh*

*arabské číslo=identifikační pořadí*

Phl p 1-13    Phleum pratense (bojínek, timotejka)

Bet v 1-7    Betula verrucosa (bříza)

Asp f 1-34    Aspergillus fumigatus

Der f 1-22    Dermatophagoides pteronyssimus -  
(roztoči)

Fel d 1-7    Felis domesticus

Api m 1-10    Apis mellifera (Celer)

Ara h 1    Arachis hypogaea (burský ořech)

# Imunopatologické reakce II. Typu

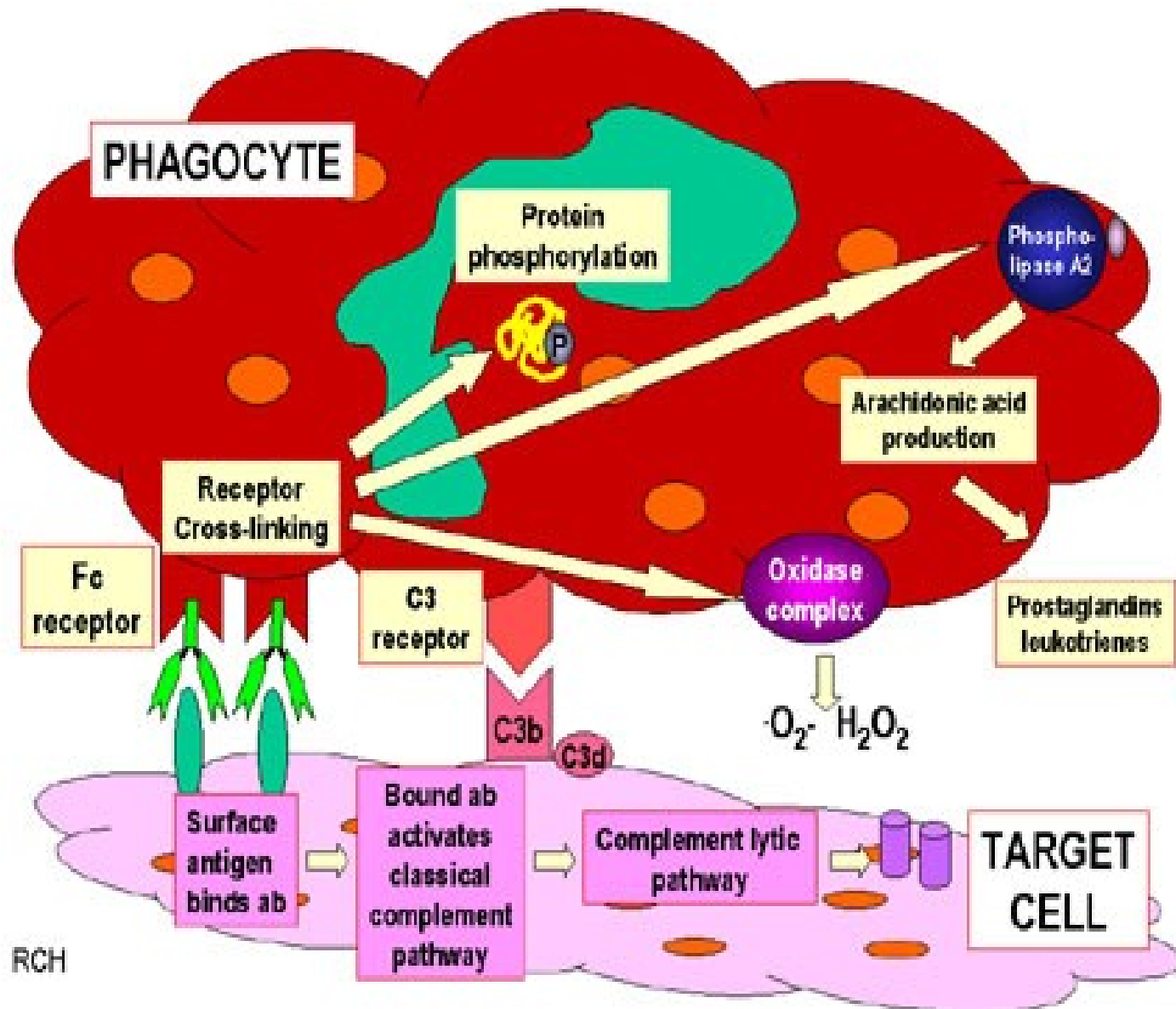
- Je způsobena protilátkami
- Cytotoxický typ přecitlivělosti
- Vazba protilátky na membránový receptor

# Imunopatologické reakce II. typu cytotoxický typ přecitlivělosti

- IgG nebo IgM protilátky
- Cytotoxicita je způsobena
  - aktivací komplementového systému
  - mechanismem ADCC - na protilátkách závislá buněčná cytotoxicita
  - opsonizace



# Type-II hypersensitivity



# Imunopatologické reakce II. typu (cytotoxický typ přecitlivělosti)

- Uplatňuje se :
- Autoimunitní choroby (cytotoxický efekt autoprotilátek)
- Hemolytické reakcí způsobených protilátkami proti krevním skupinám
- Patogenetický účinek antireceptorových protilátek např. u myasthenia gravis)

# Cytotoxický typ přecitlivělosti

- Fagocyty a NK buňky – na svém povrchu Fc receptory
- Vazba IgG
- Rozpoznání buněk označených těmito protilátkami → - přiblížení těchto buněk
- Jejich likvidace cytotoxickými mechanismy

# Cytotoxický typ přecitlivělosti

- Uplatnění u autoimunitních chorob
- Imunitní reakce namířena proti autoantigenům specifickým pro určitou buněčnou linii nebo tkáň
- Autoimunitní cytopenie - poškození erytrocytů, granulocytů, trombocytů
- Poškození tkání – kůže (pemphigus), atd..

# Druhy onemocnění u cytotoxického typu přecitlivělosti

## Transfuzní reakce

- B lymfocyty tvoří přirozené protilátky třídy IgM, které mají schopnost vázat se povrchové antigeny spojené s oligosacharidy určujícími krevní skupiny – A , B, O
- V krvi jednice vždy přítomny protilátky proti povrchovým antigenům krevních skupin, které se v těle daného člověka nevyskytují (jedinec se skupinou B má přítomny anti –A protilátky)
- Při neotypizované transfuzi – tvorba protilátek proti nově přítomnému antigenu, aktivace komplementu klasickou cestou

# Transfuzní reakce

- Vznik protilátek při opakovaných transfuzích proti
  - povrchovým antigenům neutrofilů (např. Fc receptor CD16)
  - povrchovým antigenům
- Hemolytická nemoc novorozenců
  - protilátky proti RhD antigenu
  - matka RhD-, dítě RhD+ - u matky se začnou anti RhD pl. – nebezpečné při dalším těhotenství

# Imunopatologická reakce II. typu anti-receptorové protilátky

- Autoprotilátky neničí cílovou strukturu, ale stimulují její funkci:
  - Protilátky proti TSH (hormon stimulující tyreoideu) u Gravesovy – Basedowovy nemoci (tyerotoxikóza)

# Imunopatologická reakce II. typu antireceptorové protilátky

- Autoprotilátky neničí cílovou strukturu, ale inhibují její funkci:
  - vazba autolg na acetylcholinový receptor, blokování nervosvalového přenosu u myasthenia gravis
  - Autolg proti tyreoidálním hormonům – hypotyreóza
  - Autolg proti receptoru pro inzulin – vzácná forma diabetu
  - Autolg proti fosfolipidům( kardiolipin, fosfatidylserin....) – autofosfolipidový syndrom – pl. zasahují do procesu srážení krve, způsobují tromboembolie, recidivující aborty..

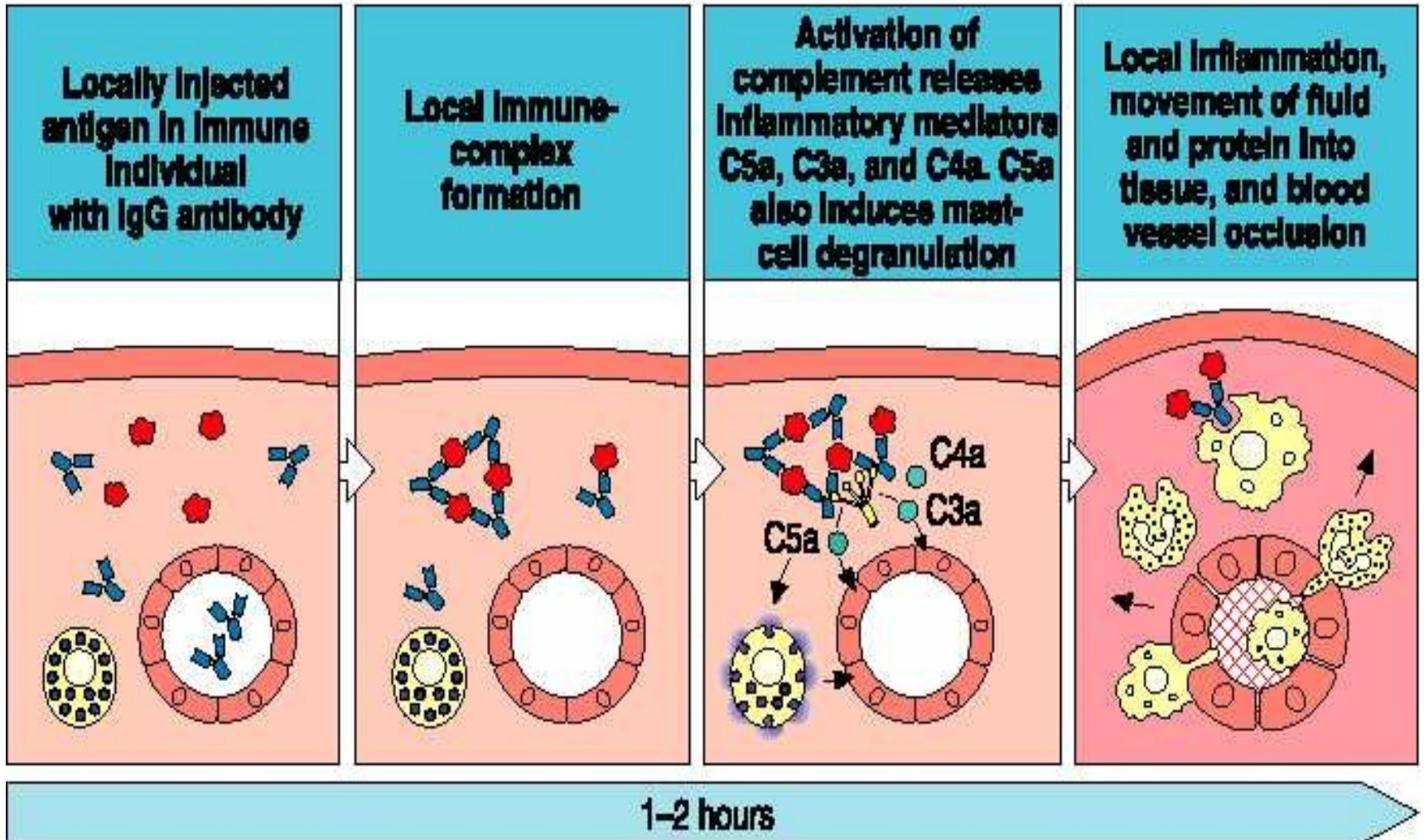


# Imunopatologická reakce s tvorbou komplexů: III. typ hypersenzitivity

- Vznik
  - při nadměrné dávce antigenu
  - při přetrvávání antigenu (autoantigeny)
  - při nadměrné tvorbě protilátek
- Velké imunokomplexy jsou nefagocytovatelné!
- Usazují se:
  - v ledvinách - glomerulonefritidy
  - na povrchu endoteliálních buňkách cév - vaskulitidy
  - v kloubních synoviích - artritidy

# Type III hypersensitivity

Figure 10.29



# Imunokomplexy

- Protilátky s Ag (auto nebo exo Ag) – tvorby imunokomplexů
- V závislosti na množství, struktuře a fyzikálně chemických vlastnostech může dojít k ukládání do tkání.
- Vazba na Fc receptory fagocytů, především neutrofilů, aktivace žírných buněk a aktivace komplementu
- Vznik zánětu

# Imunokomplexy

- Velké imunokomplexy jsou nefagocytovatelné!
- Ke vzniku nedochází ihned ale až za 10-14 dní
- Závisí na množství vytvořených protilátek
- Fyziologický mechanismus k odstraňování inf. agents
- Provázejí řadu akutních infekcí – bolesti svalů, kloubů...

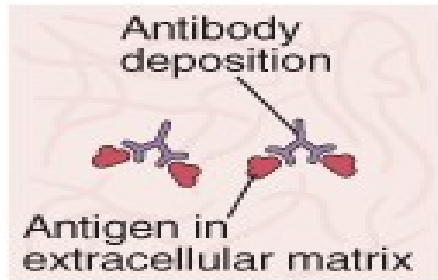
# Imunokomplexová onemocnění způsobená ukládáním cirkulujících imunitních komplexů

- Obvykle dochází k ukládání imunokomplexů ve stěny cév (vaskulitidy) a/nebo glomerulů (glomerulonefritidy)
- Nejprůkaznějším laboratorním vyšetřením je imunofluorescenční průkaz imunokomplexů deponovaných v postižené tkáni.
- V séru pacientů lze prokázat „cirkulující imunokomplexy“, jejich diagnostický přínos závisí i na metodice ( CIK-PEG, CIK-C1q)

**Mechanism of antibody deposition**

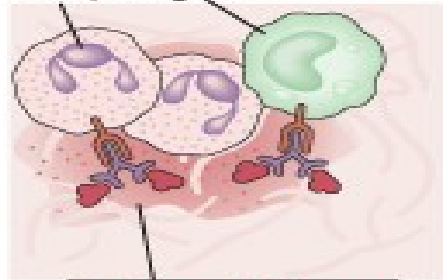
**Effector mechanisms of tissue injury**

**A Injury caused by anti-tissue antibody**



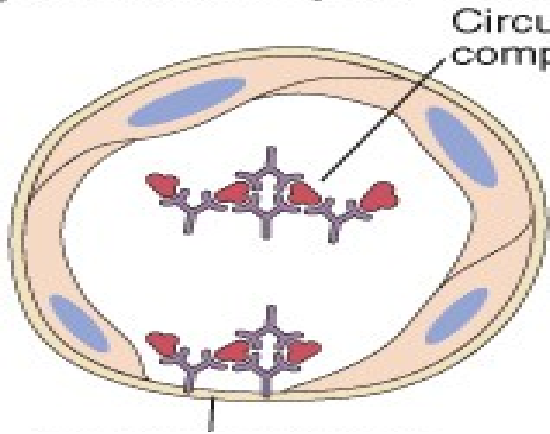
Complement- and Fc receptor-mediated recruitment and activation of inflammatory cells

**Neutrophils and macrophages**

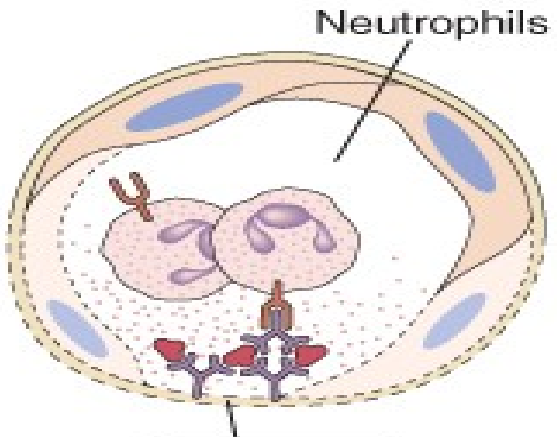


**Tissue injury**

**B Immune complex-mediated tissue injury**



Complement- and Fc receptor-mediated recruitment and activation of inflammatory cells



immune complexes

Imunokomplexová onemocnění způsobená  
ukládáním cirkulujících imunitních komplexů  
(III. typ imunologické přecitlivělosti)

*Je porušen fyziologický transport a odstraňování  
imunitních komplexů, důsledkem je lokální zánět*

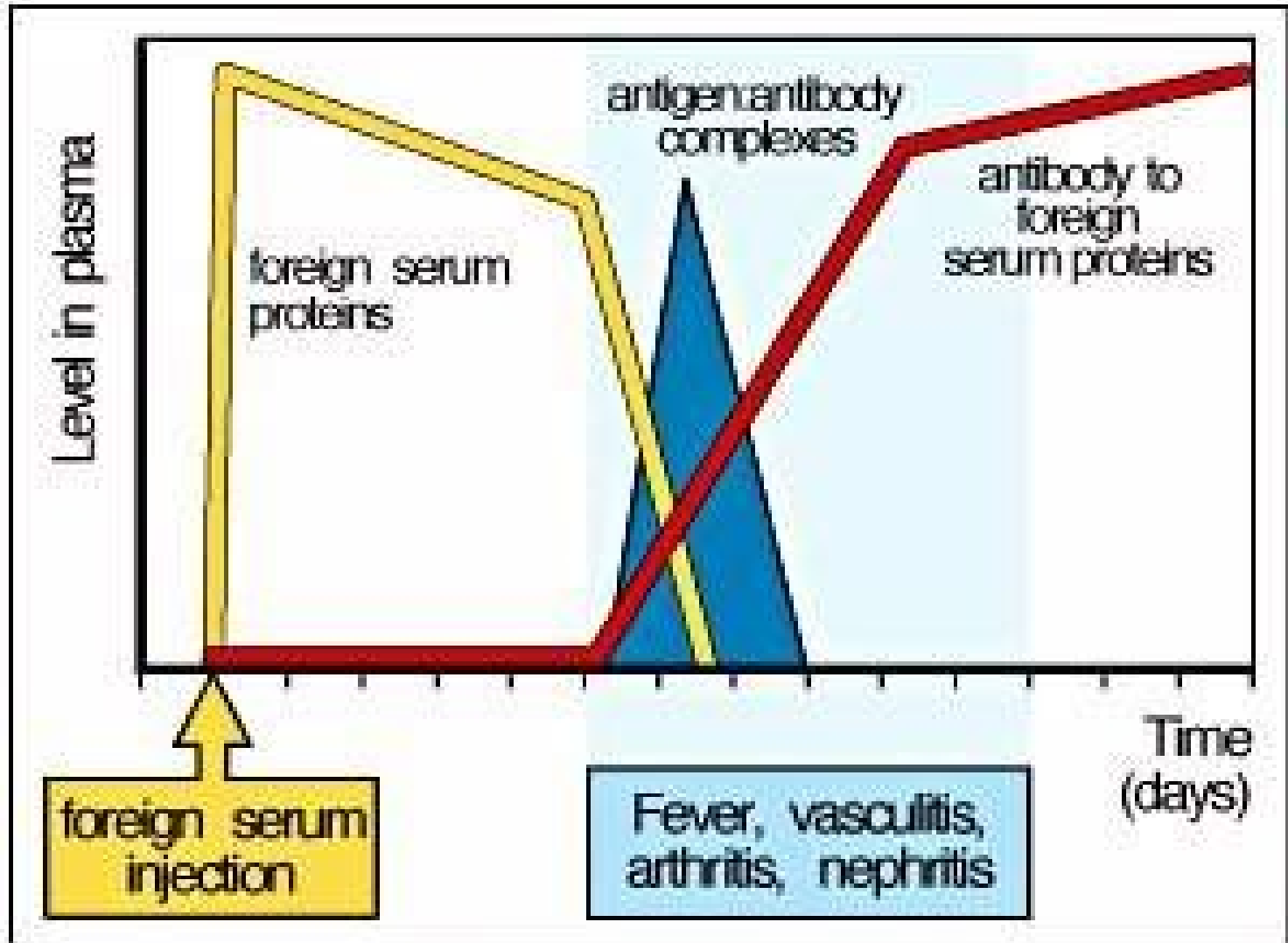
- 1) Typ sérové nemoci (nadbytek antigenu)  
např. u některých autoimunitních chorob, SLE
- 2) Typ Arthusovy reakce (nadbytek protilátek)  
např. u extrinzních pneumonitid, tzv. farmářské plíce

# Sérová nemoc

- Objevuje se asi 8-12 dní po podání xenogenního séra.
- Kopřivka, horečka, artralgie, lymfadenopatie
- Albuminurie
- Histologicky lze prokázat depozita imunokomplexů v cévách.
- Stav spontánně ustupuje, je možno podat antihistaminika, někdy steroidy.



# Sérová choroba



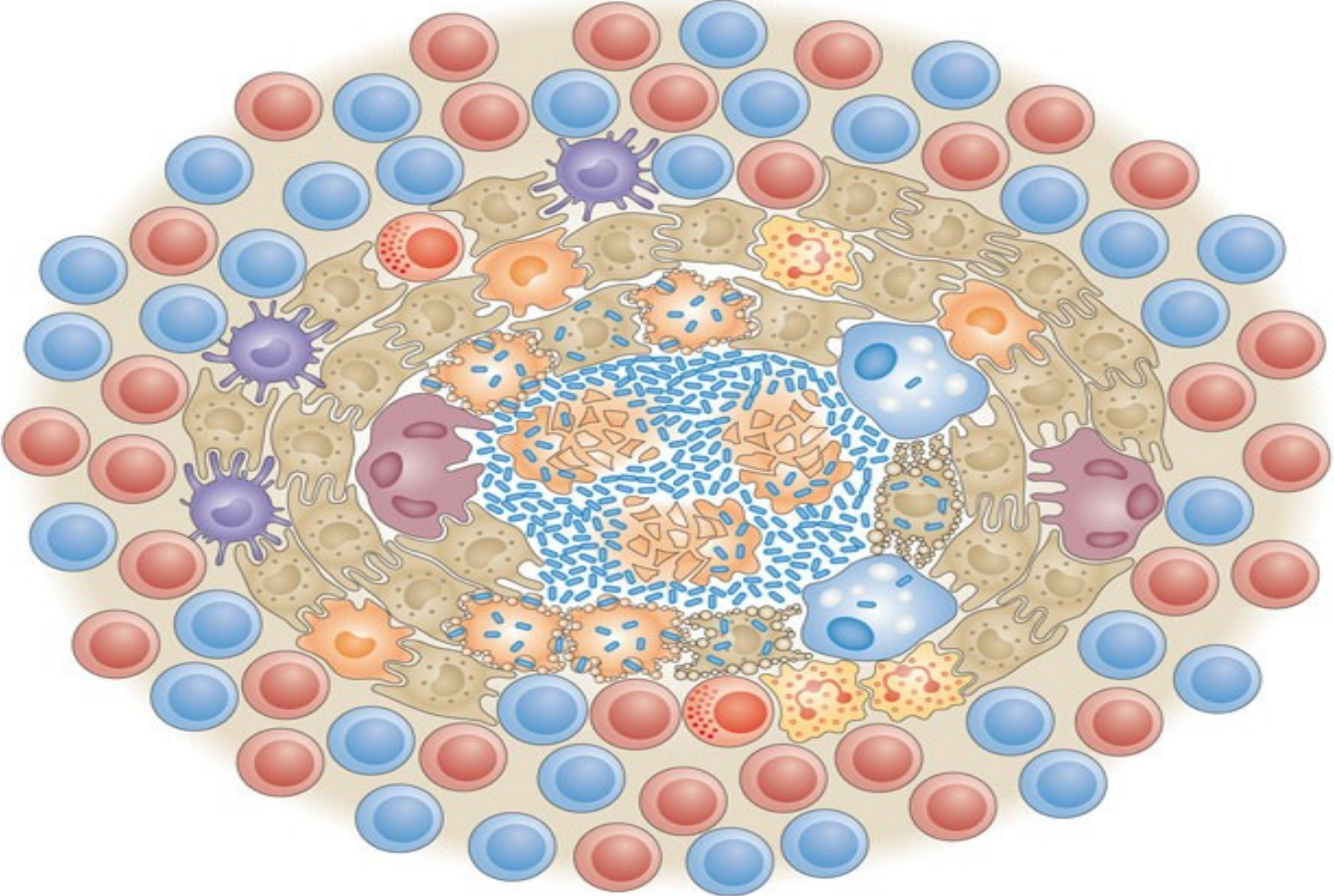
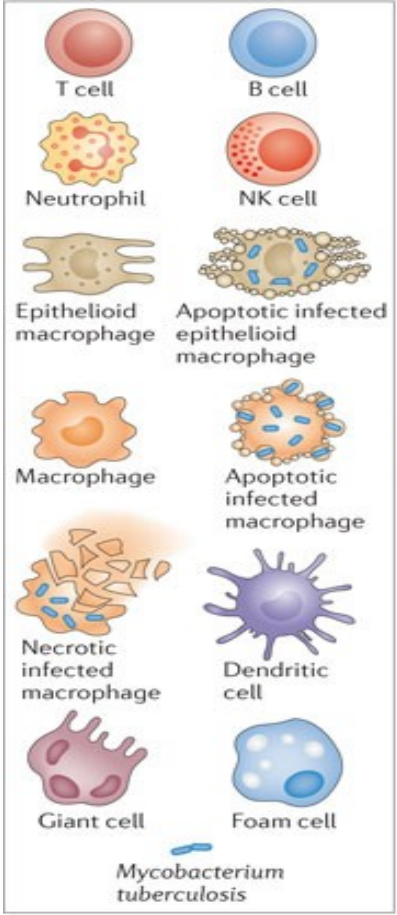
# Přecitlivělost oddáleného typu IV. závislá na Th buňkách

- Lokální reakce závislá na Th1 buňkách
- Umělá imunizace zvířete intradermálně Ag (usmrcené mykobakterie)
- Vznik Ag spec Th1 buněk
- Po několika týdnech opětovná injekce stejného Ag
- Do místa vpichu putují Th1 lymfocyty a makrofágy, vzájemná stimulace IFN $\gamma$
- 24-72 hod– lokální reakce- tvrdý otok způsobený buněčnou infiltrací
- Reakce je fyziologicky namířená proti intracelulárním parazitům
- Zároveň dochází k poškození tkáně, později k nekrotám

# Přecitlivělost oddáleného typu IV. závislá na Th buňkách

- Reakce oddáleného typu je podstatou tuberkulinové reakce - zjišťování stavu imunity proti tuberkulóze
  - poškození tkání během mykobakteriálních infekcí
  - vznik granulomu, sarkoidózy, granulomatózních vaskulitid

# Granuloma



Th1, Th 17 lymphocytes

# Příklady chorob, v jejichž patogenezi se uplatňují Th1 lymfocyty a IFN $\gamma$

- Kontaktní ekzém
- Některé typy vaskulitidy
- Sclerosis multiplex

# Přecitlivělost oddáleného typu IV. Závislá na Tc buňkách

- Odstraňování např. virem napadených buňk aktivovanými Tc lymfocyty
- Uplatnění prozánětlivých cytokinů IL-17
- Fyziologická reakce x dochází ke tkáňovému poškození např. játra při hepatitidách – odstranění infikovaných hepatocytů
- Bývá kombinovaná s Th1 reakcí
- Vyvolává akutní rejekci transpl. orgánu

# Autoimunitní choroby

# AUTOIMUNITNÍ CHOROBY

- onemocnění, při kterém **autoprotiátky** nebo **autoreaktivní T-lymfocyty** vedou k poškození vlastních buněk nebo tkání
- postihují 5-7% populace, především ženy



# Indukce autoimunitní imunopatologické reaktivity

- **Vnitřní faktory**
- Genetická dispozice spojená s HLA
- Polymorfismy v genech kodující cytokiny, např. TNF $\alpha$ , chemokiny
- Geny regulující apoptózu Degranulovaná apoptóza
- **Vnější faktory**
- Infekční podněty
- Enviromentální podněty
- Neuroendokrnní reguace

# IMUNOPATOGENEZE

## Molekulární mimikry

Streptococcus pyogenes A- protein M -  
antigeny srdečních chlopní,

Coxsackie-virus, cytomegalovirus – glutamát-  
dekarboxyláza v pankreatu,

Klebsiella – HLA B27 – ankylosující  
spondylitida

Poliovirus – receptor pro acetylcholin –  
myasthenia gravis

# IMUNOPATOGENEZE

## Rozšiřování epitopů (v průběhu procesu)

SLE, roztroušená skleróza, Crohnova choroba...

## Skryté epitopy antigenních molekul

konformační změny IgG po reakci s antigenem –  
expozice cukerných

struktur na Fc-fragmentu IgG – protilátky /RF/

Apoptóza- antinukleární protilátky

Sekvestrované antigeny – normálně nejsou ve styku  
s buňkami IS (oční čočka, spermie..). Při úrazech –  
rozeznány IS jako cizí – nastartování reakce

# IMUNOPATOGENEZE

## Neoantigeny-

**1.** antigen nově vzniklý modifikací antigenu původního, např. navázáním části jiné molekuly, např. léku či části infekčního agens.

Může být jedním z mechanismů vzniku autoimunity

**2.** nádorový antigen u buněk transformovaných viry (adenoviry, papovaviry)

# Mechanismy poškození tkání u autoimunitních chorob

## **Imunoglobuliny:**

Komplement-dependentní lýza (hemolytické choroby)

Cytotoxicita závislá na protilátkách (u orgánově specifických autoimunitních chorob)

Interakce s buněčnými receptory (myasthenia gravis, thyrotoxikóza)

Depozice imunokomplexů (SLE)

Penetrace do živých buněk (?)

# Mechanismy poškození tkání u autoimunitních chorob

## Lymfocyty T:

CD4+T lymfocyty do Th1, Th17, prostřednictvím cytokinů (revmatoidní arthritida, roztroušená skleróza, diabetes I. typu)

CD8+Tc lymfocyty způsobují přímou cytolýzu - hepatitidy

# Mechanismy poškození tkání u autoimunitních chorob

## **Zánětlivá reakce:**

Infiltrace autoimunitních lézí zánětlivými leukocyty  
(např. u synovitid)

# AUTOIMUNITNÍ CHOROBY

**SYSTÉMOVÉ**

**ORGÁNOVĚ SPECIFICKÉ**

Řada onemocnění má intermediární charakter s postižením několika orgánů.



# SYSTÉMOVÉ CHOROBY

- **Systémový lupus erythematosus (SLE)**
- **Revmatoidní artritida (RA)**
- **Dermatopolymyositida**
- **Sjögrenova choroba**
- **Systémová sklerodermie**
- **Smíšená choroba pojiva**
- **Antifosfolipidový syndrom**
- **Některé vaskulitidy**

# ORGÁNOVĚ SPECIFICKÉ CHOROBY

- **Ulcerózní kolitida**
- **Crohnova choroba**
- **Celiakie**
- **Autoimunitní hepatitida (typ I, II, III)**
- **Primární biliární cirhóza**
- **Primární sklerozující cholangitida**
- **Inzulinentní DM**
- **Hashimotova thyreotidita**
- **Graves-Basedowova choroba**
- **Adisonova choroba**
- **Atrofická gastritida a perniciózní anémie**
- **Myasthenia gravis**
- **Periferní demyelinizační neuropatie**
- **Roztroušená skleróza**
- **Hemolytická anémie, trombocytopenie, neutropenie**
- **Pemphigus**
- **a další**

# Prevalence autoimunitních chorob

(Mackay IR, BMJ 2000; 321: 93-96)

<i>Choroby štítné žlázy:</i>	> 3% dospělých žen
<i>Revmatoidní artritida:</i>	1% celkové populace, převaha žen
<i>Primární Sjögrenův syndrom:</i>	0,6-3% dospělých žen
<i>Systémový lupus erythematosus:</i>	0,12% celkové populace, převaha žen
<i>Roztroušená skleróza:</i>	0,1% celkové populace, převaha žen
<i>Diabetes I. typu:</i>	0,1% dětí
<i>Primární biliární cirhóza:</i> věku	0,05-0,1% žen středního a staršího věku
<i>Myasthenia gravis:</i>	0,01% celkové populace, převaha žen

# Diagnostika AIO obecně

Klinika

Nález autoprotilátek

Histologický nález

# Autoprotilátky v diagnostice autoimunitních chorob

- Poměrně často se setkáváme se stavem, kdy autoprotiátky protiátky diagnosticky využívané jsou odlišné od autoprotiátek patogenetických.
- Přítomnost řady autoprotiátek v nízkých titrech nacházíme poměrně běžně.
- Autoimunitní choroba musí mít klinické příznaky, samotná přítomnost autoprotiátek nikdy nestanoví diagnózu!

# Autoprotilátky - RF

- Revmatoidní faktory – rozpoznávají epitopy na Fc části molekuly IgG
- Immunopatologická zánětlivá reaktivita v kloubech
- Vytváření komplexů s autologními IgG, vazba na Fc fragment na makrofázích, tvorba prozánětlivých cytokinů – zánět
- Podobné stafylokokovému proteinu A

# Antinukleární autoprotilátky (ANA)

- Reagují a molekulovými terči přítomnými v jaderném aparátu buňky
- Výskyt u systémových nemocí
- Infekce EBV, CMV
- Výskyt roste asymptoticky s věkem
- Většinou imunofluorescenční stanovení na Hep-2 buňkách – buněčná linie odvozená od lidského karcinomu

# ANA

- ENA extrahovatelné nukleární antigeny
  - jaderné struktury s vyšší molekulovou hmotností
  - SSA/Ro, SSB/La, Scl-1, histony, Jo-1, U-RNP
- protilátky proti dsDNA
- ssDNA
- Mitotický aparát
- Centromery



# ANCA

- Antibodies against Neutrophil Cytoplasmic Antigens
- v průběhu aktivace granulocytů – translokace cytoplazmatických proteinů (MPO, PR-3) na povrch buňky
- Vzniklé protilátky zesilují poškozující zánět vedoucí k další degranulaci neutrofilů
- Wegenerova granulomatóza

# Antifosfolipidové protilátky

- Vznikají při infekčním poškození vlastních tkání
  - odhalují se fosfolipidové struktury, které by byly normálně nedostupné – charakter autoAg
- Protilátky vznikají proti:
  - Kardiolypinu
  - Fosfatidylserinu
  - Etanolaminu
  - Kys fosfatidové
  - $\beta$ 2 glykoprotienu

# Antifosfolipidové protilátky

- Přítomny i u nemocných s virovými infekcemi (EBV, HSV)
- Bakteriální infekce – lues, lymfská borelióza, tuberkulóza

# Laboratorní diagnostika autoimunitních chorob

- ***ELISA***
- ***NEPŘÍMÁ IMUNOFLUORESCENCE***
- ***IMMUNOBLOTTING***

# Serologická diagnostika autoimunitních chorob

- Vnitřní stimulace imunitního systému
- V jejím důsledku vznikají autoprotilátky
- Jsou zaměřeny proti tělu vlastním tkáním
- Způsobují zánětlivou reakci
- Protilátky jsou zaměřeny proti:
  - Orgánům
  - Tkáním
  - Trombocytům

# Klasifikace autoimunitních chorob

- Orgánově specifické:  
Hashimotova choroba, Perniciózní anémie,  
Addisonova choroba
- Přechodný typ:  
Myastenia Gravis, Idiopatická leukémie,  
Juvenilní Diabetes
- Systémová:  
Lupus Erythematosus, Sklerodermie,  
Revmatoidní artritida

# Patogenetické mechanismy autoimunity

- Pět fází:
- Fáze predispozice
- Iniciací lokální imunologické reaktivity
- Nekontrolovaná produkce autoreaktivních T- a B-lymfocytů spojená s vytvořením autoprotilátek
- Efektorová fáze
- Udržování choroby

# Orgánově specifické autoimunitní choroby

- Autoimunitní onemocnění štítné žlázy:
- Autoprotilátky jsou zaměřeny proti Thyroglobulinu (TG), Thyroidní peroxidáze (TPO) a TSH receptoru (thyrotropin)
- Protilátky proti TSH receptoru – nahradí vazbu přirozeného ligandu – endokrinní buňky jsou abnormálně stimulovány – hyperthyreodismus



# Hashimotova thyreoiditida

- **Orgánově specifická choroba**
- Chronická lymfocytární thyreoiditida – hypothyreóza, štítná žláza může být zvětšená
- Pomalý začátek, málo vyjádřená symptomatologie poruchy paměti a koncentrace, zimomřivost, mravenčení nohou a rukou, svalová slabost.

# Gravesova-Basedowova choroba

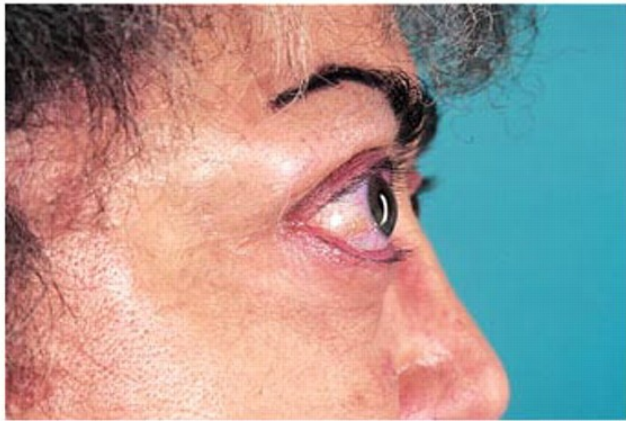
- **Orgánově specifická choroba**
- Autoprotilátky proti štítné žláze
- Nejčastější manifestace je mezi 30 – 50 rokem, může se vyskytovat i adolescentů a osob nad 70 let, je 5x častější u žen.
- U mladších typická symptomatologie hyperthyreózy, u starších bývá apatie, adynamie, myopatie.
- Endokrinní oftalmopatie v 60%.
- Průběh je s remisemi a exacerbacemi.

# Graves-Baseidowowa choroba





A



B



C



D

# Gravesova-Basedowova choroba

## Imunologie:

autoprotiátky proti receptoru pro TSH (TRAK, TSI) – v 80-90% +

autoprotiátky proti thyreoidální peroxidáze (anti TPO) – v 60-80% +

Biochemie: snížení TSH, zvýšení T3 a T4, v 15% případů izolované zvýšení T3!

Struma, oftalmopatie; zvýšení TK, tachykardie, fibrilace síní, zvýšené pocení, vypadávání vlasů, lomivé nehty

# Protilátky proti štítné žláze

- Protilátky proti TSH receptoru – nahradí vazbu přirozeného ligandu – endokrinní buňky jsou abnormálně stimulovány – hyperthyreodismus
- TPO protilátky: TPO – membránově vázaný enzym na povrchu folikulárních buněk štítné žlázy
- Vazba auto Ab TPO neinhibuje enzymatickou aktivitu TPO, ale je součástí poškozujícího zánětu

# Prevalence protilátek proti štítné žláze

Onemocnění	TSH	T3	T4	Anti-TPO	Anti-TG	Anti – TSH-R
Hashimotova thyreoiditida	↑	(↓)	↓	60-90%	30-40%	0%
Graves- Basedowova choroba	↓	↑	↑	60-70%	10-20%	80-100%
Normální populace	-	-	-	5-15%	4-8%	0%

Stanovení autoproti látek: ELISA – metody

# Autoimunitní gastritida (perniciózní anemie)

- **Orgánově specifická choroba**
- Deficience vitamínu B12 způsobená chronickou autoimunitní gastritidou (intrinsic factor)
- anemie (megaloblastová), neurologické příznaky
- protilátky proti parietálním buňkám žaludku podporují diagnózu - imunofluorescenčně
- asociace s jinými autoimunitními chorobami



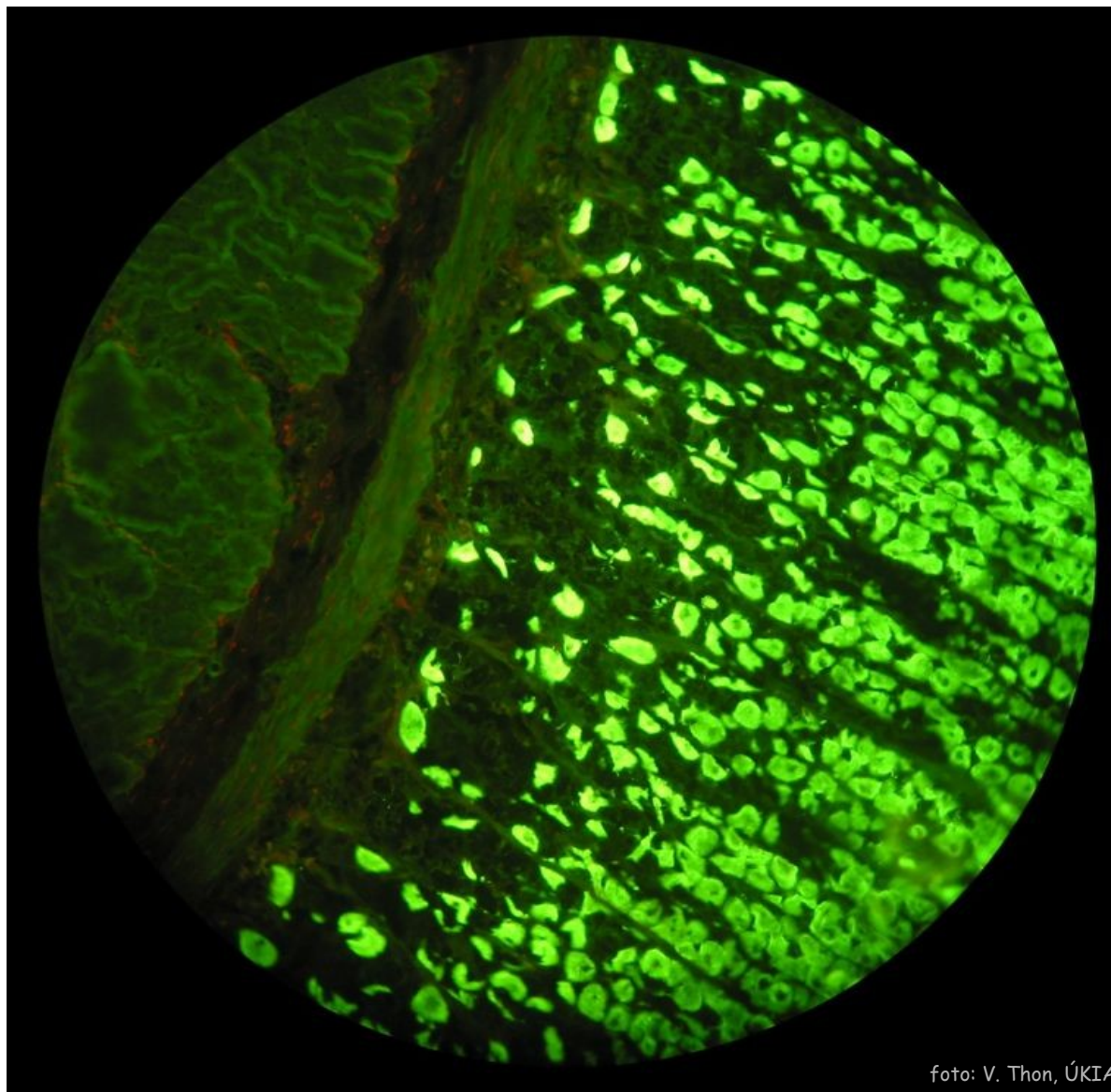
# Perniciózní anémie

- Způsobená deficiencí vitamínu B-12
- Jako důsledek autoimunitní gastritidy
- Charakterizovaná přítomností autoprotilátek proti parietálním buňkám žaludku – více než 90% nemocných
- Ab proti Intrinsic faktoru (glykoprotein nutný pro absorpci vitamínu B12)
- Vazba autoprotilátek vede k destrukci a ztrátě parietálních buněk nebo Ab v žaludeční šťávě blokuje vazebné místo pro Intrinsic faktor
- Vitamín B12 je nutný pro replikaci DNA -účastní se **přeměny methyl-THF (tetra hydrofolát) na THF za současné tvorby methioninu** (důležitý pro syntézu cholinu) z homocysteinu
- nejvíce jsou postiženy tkáně s rychlou proliferační aktivitou – kostní dřeň a trávicí trakt

# Perniciózní anémie

- Pozitivita anti- GPC
- Odlišení od jiných megaloblastických anémií
- Výskyt u atrofické gastritidy – 60%
- Dále u vředových a jaterních chorob
- Výskyt i u zdravé populace – až 16% nad 60 let, zejména u žen
- Stanovení Imunofluorescence na substrátu LKS (Liver Kidney Stomach)

# anti-GPC, žaludek



# Autoimunitní imunopatologická poškození ledvin

- Rozdělujeme na primární a sekundární:
- Primární nebo též idiopatické, nemoc je vázána pouze na ledviny
  - IgA nefropatie u žen, membranózní nefropatie, idiopatický nefrotický syndrom, postinfekční glomerulonefritida
- Sekundární – ledviny jsou jednou z postižených orgánů
  - Bazální membrána glomerulů, vaskulitidy malých cév, systémový lupus, Wegenerova granulomatóza, Goodpastureův syndrom a kryoglobulinémie

# Granulomatózní zánět

- Chronický zánět s přítomností specifické granulační tkáně
- Vzniká reakcí makrofágů na cizorodý materiál, který nedovedou odstranit (fagocytovat)
- T-lymfocyty stimulují tyto makrofágy k proměně v epiteloidní a obrovské mnohojaderné buňky

# Glomerulonefritida

- Zánětlivé onemocnění glomerulů podmíněné imunologickými procesy

# Rychle progredující glomerulonefritidy

- Typ I = antirenální s přítomností protilátek proti GBM – protilátky rychle destruují stěnu kapilár glomerulů
- Typ II = imunokomplexový – vysoká koncentrace imunokomplexů
- Typ III = paucinní- autoprotilátky lysozomálním enzymům neutrofiů – stimulace neutrofilů k produkci kyslíkových radikálů a sekreci lysozomálních enzymů vedoucí k poškození imunitní tkáně bez vzniku imunokomplexů

# Protilátky proti bazální membráně glomerulů (anti- GBM)

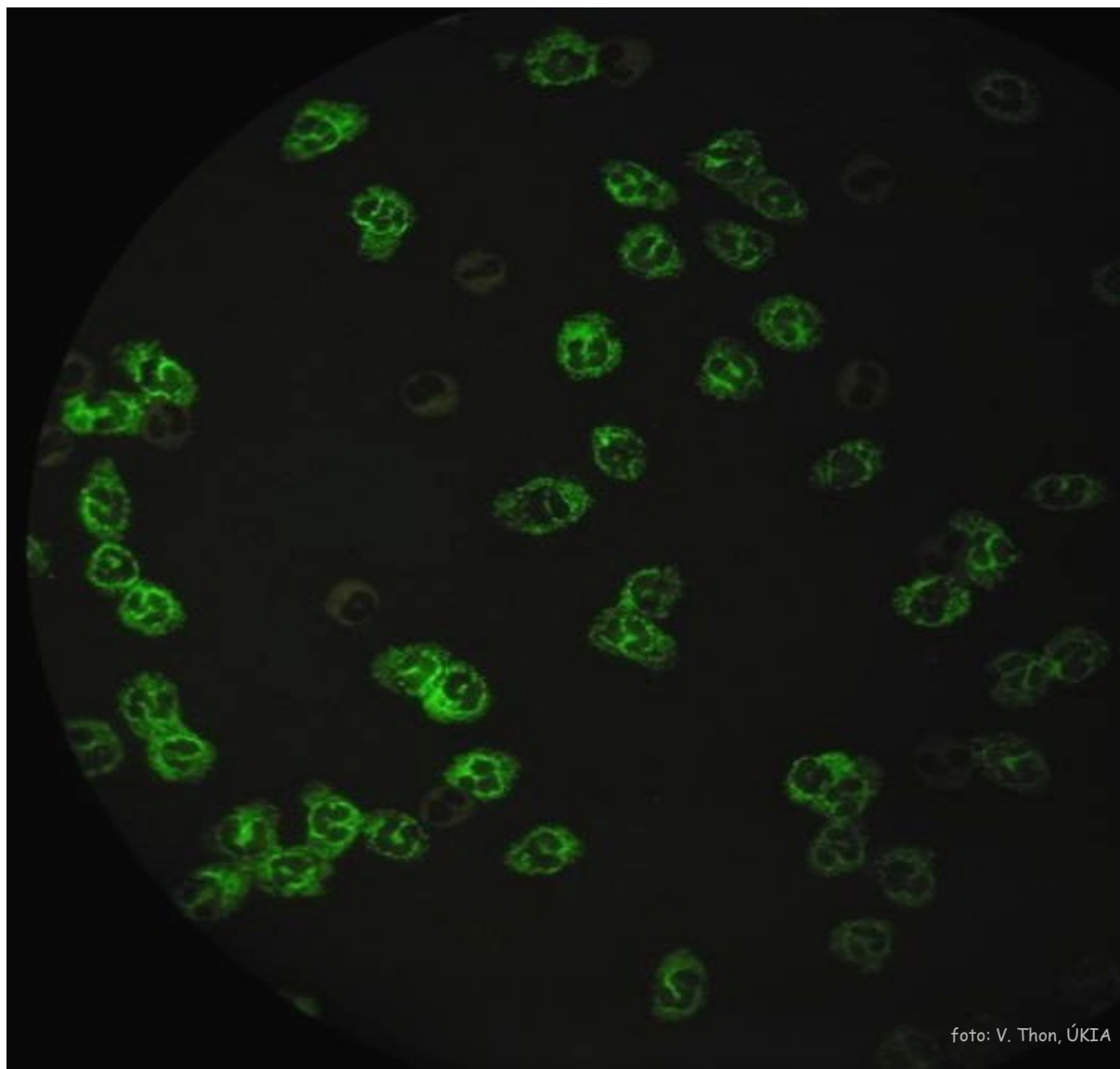
- Goodpastureův syndrom, ostatní formy rychle progredující glomerulonefritidy
- Protilátky jsou namířeny proti alfa-3. podjednotce kolagenu IV
- U náhlých renálních selhání
- Metoda ELISA



# Wegenerova granulomatóza

- Nekrotizující vaskulitida malých cév postihující:
- Dýchací ústrojí tvorbou granulomů
- Ledviny nekrotizující glomerulonefritidou
- Přítomny c ANCA protilátky (proteinkináza 3) – pozitivita ustupuje se snižující se aktivitou choroby
- Stanovení IF, ELISA

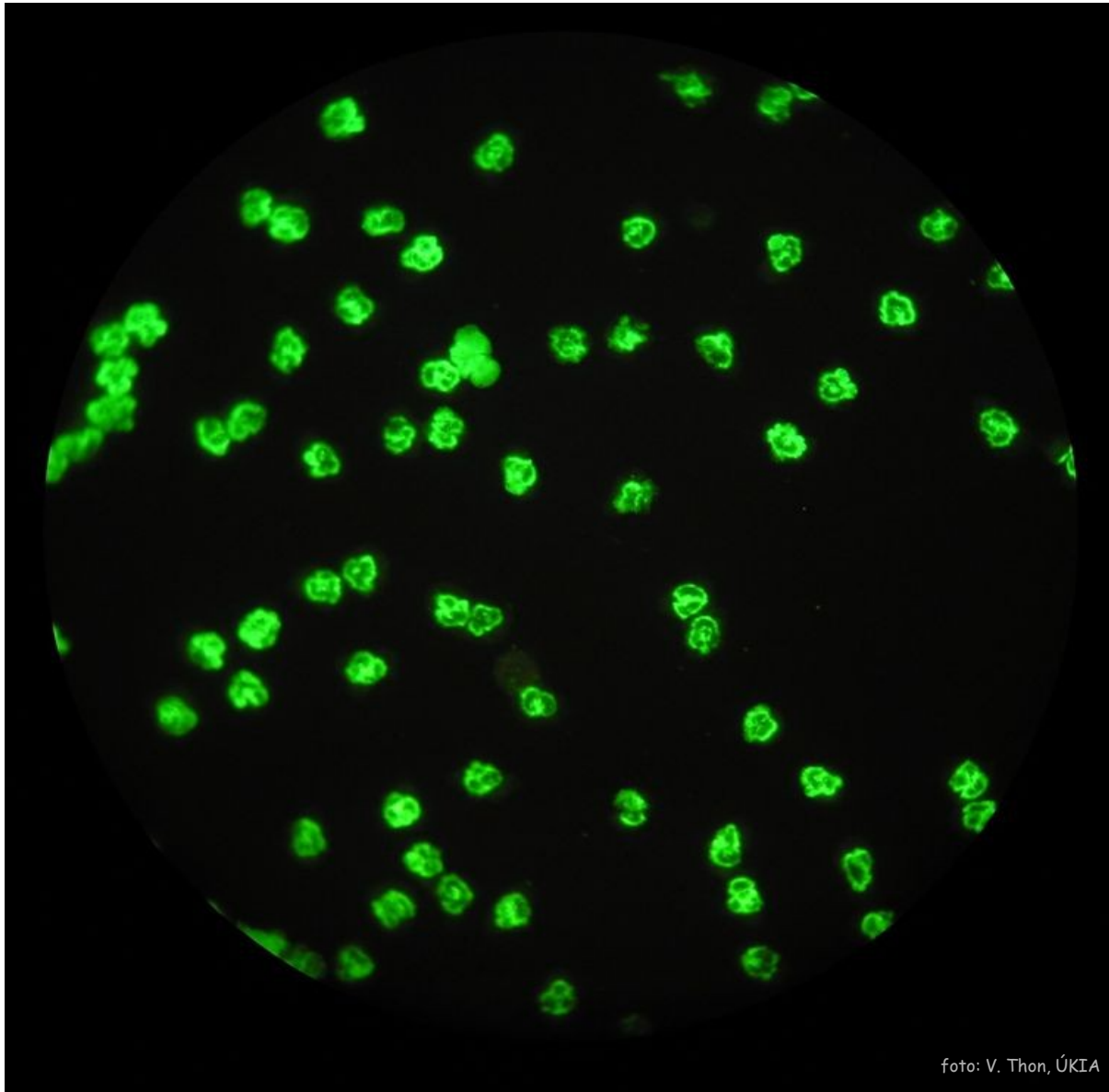
# c - ANCA



# p-ANCA

- pozitivita protilátky proti myeloperoxidáze je typická pro mikroskopickou polyangiitidu, různé druhy glomerulonefritid (nekrotizující glomerulonefritida, progredující glomerulonefritida), syndrom Churga-Straussové, Goodpasteurovův syndrom, nespecifické střevní záněty, SLE a jiné autoimunitní choroby
- Stanovení IF, ELISA – pl. proti MPO

# p-ANCA



# n-ANCA

- Taky a- ANCA, x- ANCA
- – způsobené především pozitivitou protilátek proti BPI ( bactericidal permeability-increasing protein), výskyt u pacientů s cystickou fibrózou, dále u zánětlivých komplikací způsobených Gram-negativními bakteriemi, u nespecifických střevních zánětů (ulcerózní kolitida, Crohnova choroba) a u jaterních autoimunitních onemocnění (primární biliární cirhóza, primární sklerotizující cholangitida)

# Anti-fosfolipidový syndrom

- Klinický projev hyperkoagulačního stavu – trombóza cév, a/nebo komplikace gravidity
- Spojen s přítomností antifosfolipidových protilátek
- Klinická manifestace
  - Hluboká žilní trombóza
  - Ischemická cévní mozková příhoda
- V důsledku tromboembolismu velkých cév nebo mikroangiopatie však může dojít k postižení různých orgánů a systémů, a tedy k pestré symptomatologii

# Laboratorní diagnostika

- založena na opakovaném průkazu antifosfolipidových protilátek.
- testy imunoenzymatické (k průkazu tzv. antikardiolipinových protilátek a protilátek proti beta2-glykoproteinu I),
- testy koagulační (k průkazu tzv. lupusového antikoagulancia).

# Anti-fosfolipidové protilátky

- Fosfolipidy nevyvolávají samy o sobě tvorbu anti-fosfolipidových protilátek
- Musí se vázat na  $\beta$ 2 glykoprotein-1, nebo další nosičské proteiny
- Po navázání se změní konformační struktura  $\beta$ 2 glykoproteinu-1 – objeví se imunodominantní epitopy na které se anti-fosfolipidové protilátky váží



# Vyšetření anti-fosfolipidových protilátek (ACLA, APA)

- anti-kardiolipin screen (ACLA) – IgM, IgG, IgA autoprottilátky proti kardiolipinu
  - Stanovení IgM protilátek je vhodným indikátorem pro počínající autoimunitní onemocnění, IgG protilátky se vyskytují u progresivních stádií. Stanovení IgA protilátek má zřejmě větší význam u trombózy a ztráty plodu.
- anti- $\beta$ 2-glykoprotein IgM, IgG –
  - Titr protilátek IgG dobře odpovídá klinickému stavu pacienta s trombózou, tromboembolismem a opakovanými ztrátami plodu. Protilátky ve třídě IgM mají výrazný vztah k trombóze a trombocytopenii.
- anti-fosfatidyl inositol IgM, IgG
- anti-fosfatidyl serin IgM, IgG

# REVMATOIDNÍ ARTHRITIDA

- **systemové autoimunitní onemocnění** primárně postihující kloubní synovii
- dochází k postižení i dalších orgánů
  - **kloubní projevy**
    - bazální a střední klouby rukou - postupně vřetenovitý tvar, postup centripetálně symetrický
    - bolesti, ztráty síly, ranní ztuhlost rukou
    - únavnost, subfebrilie, úbytek hmotnosti
  - **mimokloubní projevy**
    - vaskulitida, atrofie kůže a svalů, splenomegalie, osteoporóza, amyloidóza zejména ledvin

# Citrulinované peptidy

- Citrulín  
    nestandardní aminokyselina, která není inkorporována do proteinů během translace.
- vytvářena posttranslační modifikací (deiminací) argininu v proteinu pomocí enzymu, který se nazývá peptidylarginin deamináza (PAD).
- Biochemickým výsledkem tohoto procesu je konverze pozitivně nabitých argininů do polárních ale nenabitých citrulinů.
- Tyto změny v proteinu jsou zodpovědné za jeho nově získanou antigenicitu.

# Peptidylarginin deamináza (PAD)

- za normálních okolností přítomna intracelulárně ve formě inaktivního enzymu.
- Při zvýšené koncentraci extracelulárního  $\text{Ca}^{2+}$  (při odumírání buňky, při poškození buněčné membrány) dojde k jeho aktivaci.
- Aktivovaný PAD přeměňuje arginin na citrulin v různých proteinech (fibrin, vimentin, histony).
- Citrulinované proteiny jsou pak zpracovány imunitním systémem a u vnímavé osoby dojde za vhodných podmínek k tvorbě protilátek proti citrulinovaným peptidům.

# Anti- CCP

- Anti-CCP protilátky jsou tvořeny především v izotypu IgG. Hlavní podtřídou je IgG1, asi čtvrtina sér obsahuje také IgG4. IgG2 a IgG3 jsou vzácné
- Citrulinované peptidy mají vysokou specifitu a senzitivitu pro diagnostiku revmatoidní artritidy a identifikují závažnější formy s destruktivním průběhem. V malém procentu se pozitivita vyskytuje u nemocných se SLE, Sjörgenovým syndromem a polyartikulární erozivní formou psoritické artritidy.
- Kombinace revmatoidního faktoru RF s anti - CCP protilátkami potom zvyšuje jistotu diagnosy RA až na 97%.
- ELISA

# Laboratorní diagnostika revmatoidní artritidy

- Revmatoidní faktor (především IgM a IgG)
- Protilátky proti cyklickým citrulinovaným peptidům (anti CCP)
- Hypergamaglobulinémie
- Vysoká sedimentace, zvýšení CRP

# Diabetes mellitus I.typu

- Způsoben autoimunní destrukcí beta-buněk pankreatu.
- Ještě před nástupem klinických příznaků se vyskytují protilátky proti GAD (dekarboxyláza kyseliny glutamové), IA2 (proti tyrozinofosfatáze), IAA (proti insulinu) nebo ICA (proti ostrůvkům pankreatu).
- ELISA

# Diabetes mellitus I. Typu - Diagnostika

- Anti GAD je protilátka proti dekarboxyláze kyseliny glutamové a patří do skupiny protilátek proti Langerhansovým ostrůvkům pankreatu.
- V okamžiku diagnózy diabetu je prevalence protilátek proti GAD 70 - 90 %.
- Protilátky IA-2 se vyskytují u vysokého procenta čerstvě diagnostikovaných pacientů a jsou markerem rychlé progresy inzulitidy .
- IA-2 jsou vysoce specifické pro diabetes a ve srovnání s anti-GAD protilátkami se jen vzácně vyskytují u jiných autoimunních chorob



# Diabetes mellitus I. Typu - Diagnostika

- stanovení kombinace ICA + anti-GAD + anti-IA2 vede k závěru o autoimunním původu diabetu u 95 % případů.
- V rizikové populaci výskyt těchto protilátek předpovídá na 70 - 90 % riziko vzniku diabetu během následujících pěti let (predikce vzniku diabetu).

# Autoimunitní onemocnění jater

- Autoimunitní hepatitida
- Primární biliární cirhóza
- Progresivní sklerotizující cholangitida

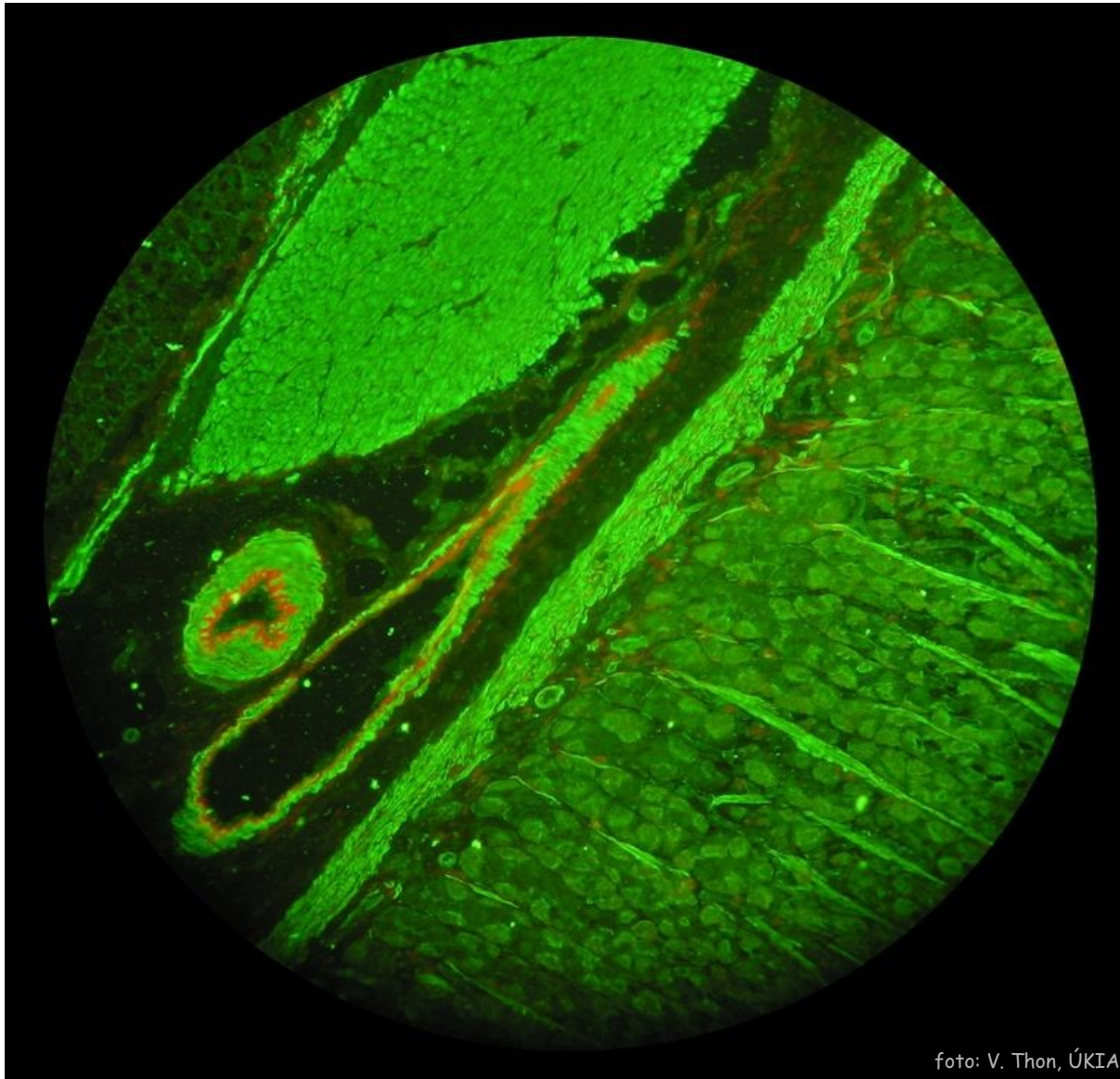
# Autoimunitní hepatitida

- Dělí se dle výskytu protilátek na tři typy:
- AH1 – typická přítomnost protilátek proti hladkému svalu (ASMA), a/nebo přítomnost ANA protilátek
- 80-90% pacientů – perinukleární protilátky proti cytoplazmě neutrofilů
- Třetina pacientů – pl. proti dsDNA

# ASMA, žaludek



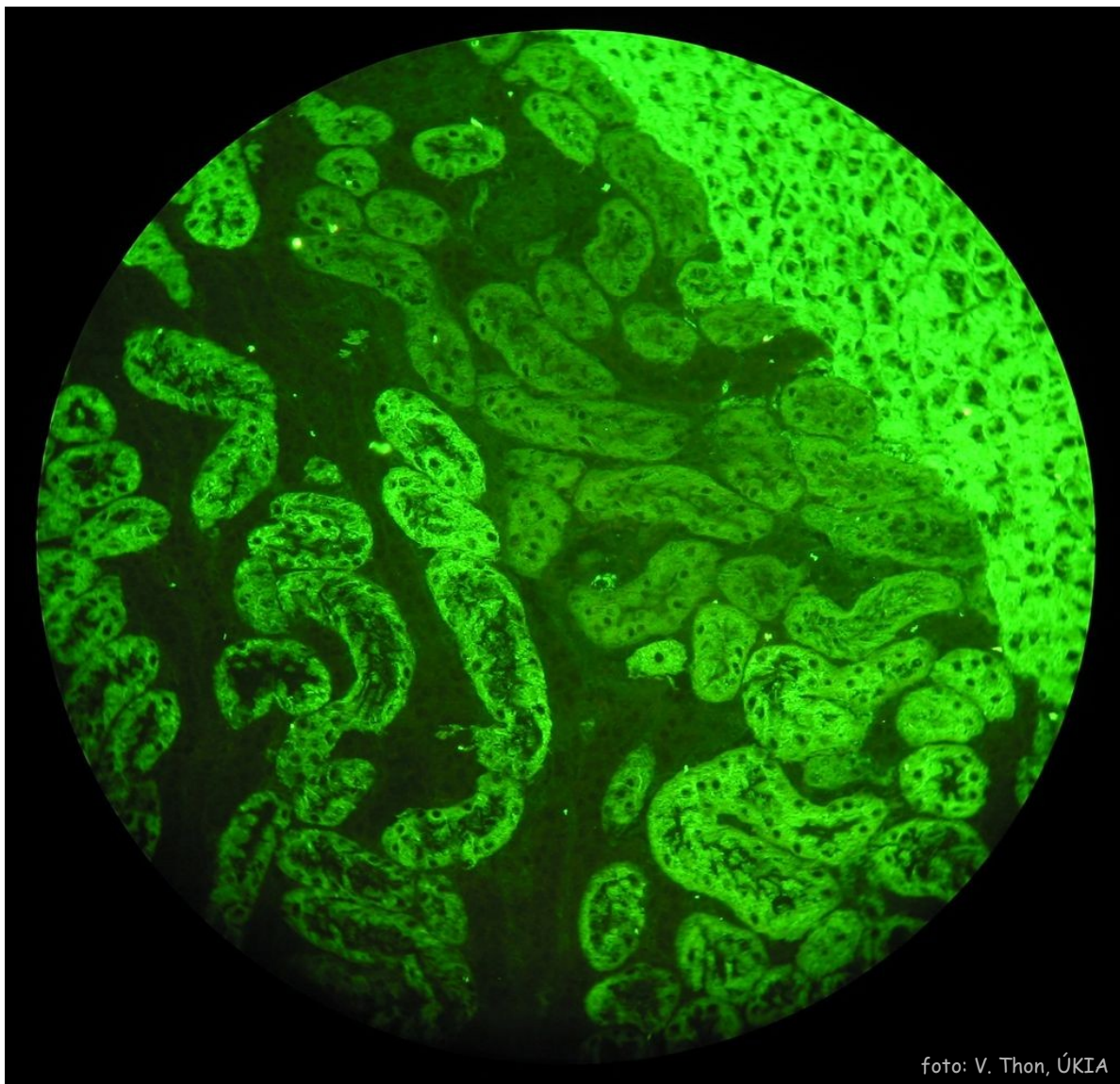
# ASMA, žaludek



# Autoimunitní hepatitida typu II.

- protilátky proti mikrosomům jater a ledvin (LKM-1) a/nebo protilátek proti jaternímu cytosolu (LC-1)
- podtyp IIa je autoimunitního původu, je často nacházen u mladých žen s hypergamaglobulinemií, nachází se u něj vysoký titr anti-LKM1 a dobře odpovídá na léčbu kortikosteroidy
- podtyp IIb se vyskytuje také u mužů, je spojen s infekcí virem hepatitidy C, protilátky anti-LKM1 jsou přítomny v nízkém titru a onemocnění příznivě reaguje na podávání interferonu
- klinicky závažnější průběh než AIH1, častěji se vyskytuje fulminantní průběh a progresse do jaterní cirhózy

anti LKM, ledvina, játra



# Autoimunitní hepatitida typu III.

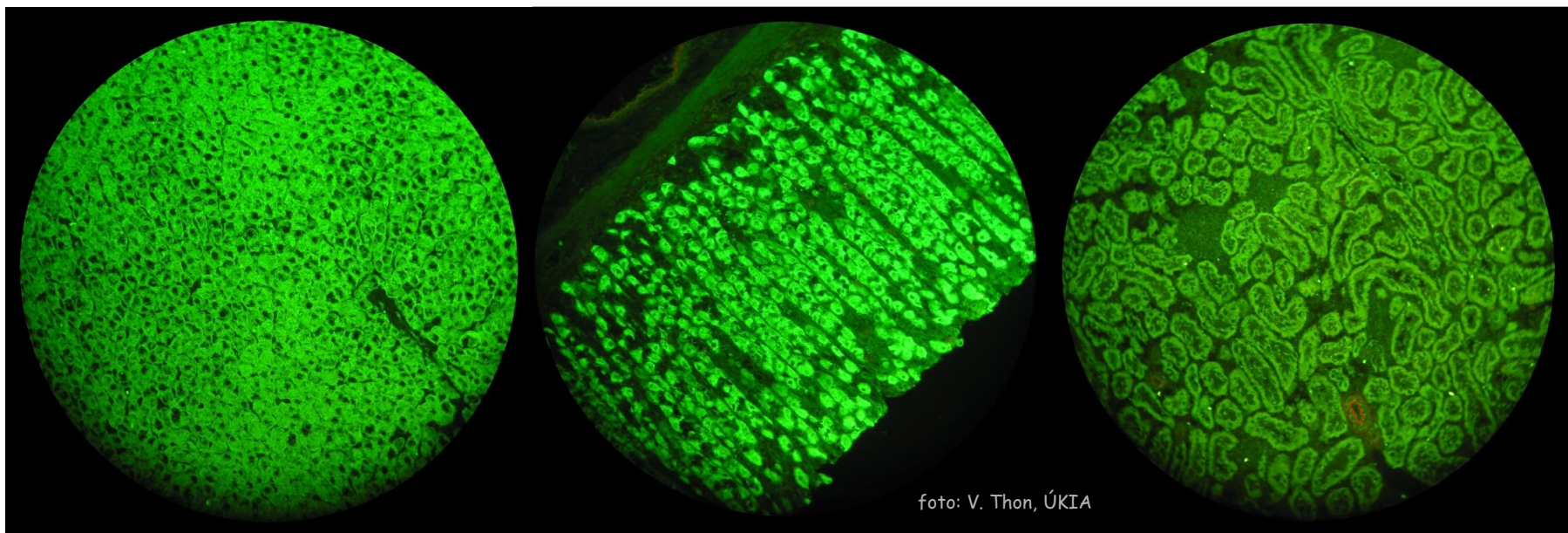
- Průkaz protilátek proti tzv. solubilnímu jaternímu antigenu (anti-SLA).
- Dle současných názorů se jedná pouze o variantu AIH 1.typu.



# Primární biliární cirhóza (PBC)

- chronické onemocnění jater charakterizované postižením intrahepatálních žlučovodů a cholestázou
- průkaz antimitochondriálních autoprotilátek (AMA - IF), u více než 95% pacientů s PBC
- ANA - IF - četné jaderné tečky (sp100) a póry v jaderné membráně (gp210)
- významné zejména u AMA negativních pacientů a ukazuje na horší prognózu onemocnění

# AMA



játra

žaludek

ledvina

# Progresivní sklerotizující cholangitida (PSC)

- chronický progresivní zánět žlučvodů s fibrózou a zúžením vývodných žlučových cest
- Výskyt- nejčastěji u mužů pod 45. rokem věku
- Atypická p-ANCA
- Souvislost s nespecifickými střevními záněty (Crohnova choroba, ulcerózní kolitida), které se vyskytují u více než 50% pacientů s PSC.

# Autoprotilátky u autoimunitních onemocnění jater

Onemocnění	ANA	AMA	ASMA	Anti-LKM	Anti-SLA	Anti-LC1	ANCA
AIH 1	+		+		+/-		+/-
AIH 2				+		+	+/-
AIH 3		+/-	+/-		+		+/-
PBC	+	+					
PSC							+

ANA, AMA, ASMA, ANCA – imunofluorescenčně

Zbytek ELISA

SLA – soluble liver Ag,

LC1 liver cytosolic Ag- protilátky jsou zaměřené na specifický jaterní enzym formiminotransferázu cyklodeaminázu.

# Protilátky proti mitochondriím (AMA)

- heterogenní skupina autoprotilátek namířeným proti antigenům vnější nebo vnitřní mitochondriální membrány.
- V současné době je popsáno devět tříd protilátek typu AMA (M1-M9)
- Nejčastější typ AMA2 – u 85-90% pacientů PBC
- Výskyt jednotlivých protilátek je charakteristický pro určitý typ onemocnění
- Jejich stanovení lze využít k diferenciální diagnostice různých hepatopatií.
- 20-30% pacientů s chronickou aktivní hepatitidou (CAH)
- 25% pacientů s kryptogenní cirhózou.
- Mohou se objevit rovněž u systémových onemocnění pojiva, syfilis, myokarditidy, polékového lupusu.

# ASMA - protilátky

- Proti hladkému svalu
- Reagují s antigeny cytoskeletu, zejména s aktinem, vimentinem, desminem, tropomyosinem nebo tubulinem
- F-aktin (polymerizovaná forma G-aktinu) je cílový antigen asociovaný s autoimunitní hepatitidou. G-aktin bývá asociován s alkoholovou cirhózou.
- ASMA – IF se nachází i u systémových imunopatologických onemocnění, infekčních nemocí, zánětlivých střevních onemocnění, myokarditidy, primární biliární cirhózy a chronické aktivní hepatitidy.
- Rovněž malá část zdravé populace vykazuje přítomnost ASMA pl. (2%)

# Protilátky proti mikrozomálnímu antigenu (LKM)

- LKM (liver-kidney microsomal antibodies) jsou protilátky proti mikrozomálnímu antigenu jater a ledvin.
- Vyskytují se u pacientů s různými typy autoimunitních hepatitid.
- Existují tři typy LKM protilátek, přičemž metoda IF neumožňuje jejich rozlišení.
  - LKM-1: autoimunitní hepatitida typu II a virová hepatitida C, cílový antigen je cytochrom monooxygenáza CYP450-II-D6.
  - LKM-2: protilátky se vyskytují u hepatitid indukovaných tienilovou kyselinou, cílovým antigenem je cytochrom CYP450-II-C9.
  - LKM-3: protilátky asociované s chronickou hepatitidou typu D (13%), méně často autoimunitní hepatitida typu II, cílový antigen je UDP-1 glukuronosyl transferasa.
- LKM protilátky u virových hepatitid mají nižší titer než u hepatitid autoimunitních.

# Protilátky proti rozpustnému jaternímu /jaterní-pankreatickému antigen (SLA)

- Jedná se o protein (50 kDa) v cytosolu jaterních buněk, který je zahrnut do regulace biosyntézy proteinů.
- Je nejpřesnější diagnostický marker pro AIH, přestože prevalence protilátek je jen 30%, predikční hodnota je 100%



# Protilátky proti cytosolovému jaternímu antigenu

- Antigenem je formiminotransferase-cyclodeaminase
- specifickými pro diagnostiku AIH
- ELISA

# Nespecifické střevní záněty

- Druhým nejčastějším chronickým onemocněním po revmatoidní artritidě
- Crohnova choroba (CN) – postihuje celou trávicí trubici
- Ulcerózní kolitida – zánětový proces je omezen na sliniční vrstvu, případně submukózu tlustého střeva a rekta

# Diagnostika

- **Vyšetření perinukleárních cytoplazmatických protilátek (pANCA - IF) a protilátek proti *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) má význam pro diferenciální diagnostiku nespecifických střevních zánětů.**
- **Ulecerózní kolitida UC zvýšená pozitivita pANCA (70 %) než u CN (18 %).**
- **Crohnova nemoc (CN) zvýšená pozitivita ASCA protilátek u 81 % nemocných, kdežto u nemocných s UC pouze u 22 % (9).**
- **Význam těchto protilátek v klasifikaci přechodné kolitidy nebyl potvrzen, stejně tak se neukázalo významným stanovení hladiny neopterin**
- **V současné době žádný z imunologických ukazatelů není schopen určit ani pravděpodobný průběh nemoci, ani terapeutickou odpověď.**
- **ASCA protilátky – proti mananům kvasinky Sach. cer. – nejde o autoprottilátky, ale jsou pro Crohnovu chorobu typické - ELISA**

# Celiakie -Definice

- **Céliakální sprue** (céliakie) je onemocnění spojené s permanentní intolerancí lepku (glutenu, resp. jeho složek); céliakie je označována jako gluten-senzitivní enteropathie
- Obiloviny obsahují zásobní proteiny (prolaminy), které se u pšenice označují termínem gliadiny

# Etiopatogeneze céliakie

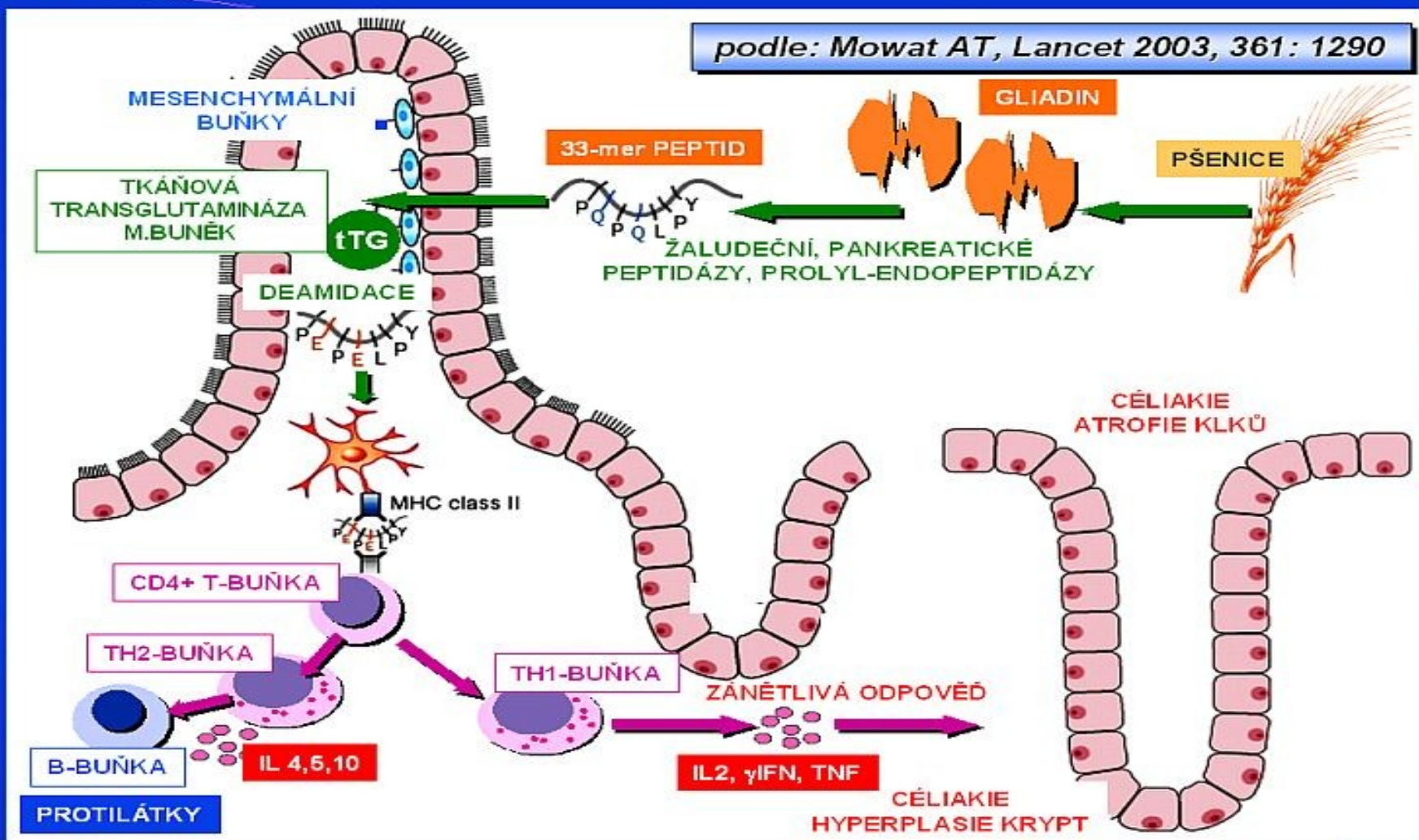
- Celiakie je onemocněním autoimunního charakteru s geneticky podmíněnou vazbou (HLA-DQ2/DQ8)
- více než 90 % všech postižených nachází určitá konstelace tzv. histokompatibilních antigenů (HLA II)
- ALE!! :25 % všech lidí ovšem tuto konstelaci HLA vlastní a asi 98 % z nich lepek snáší bez problémů

# Etiopatogeneze céliakie

- Ponaučení : Multifaktoriální onemocnění
- Vědecké výzkumy se zaměřují na další genetické znaky, ale také na infekce, jako možné spolupůsobící faktory (lidský adenovirus)

# Etiopatogeneze celiakie

podle: Mowat AT, Lancet 2003, 361: 1290



# Klinický obraz

- **Aktivní forma CS** je charakterizována klinickou manifestací různé intenzity, pozitivitou protilátek a patologickým nálezem na sliznici tenkého střeva při stravě s lepkem.
- ***Gastrointestinální projevy:*** chronický průjem a neprospívání po zavedení lepku v potravě - pouze u cca 5 % dětí s CS
- recidivující bolesti břicha, nauzea, zvracení, meteorismus, váhové neprospívání, zácpa
- ***Extraintestinální projevy:***
  - časté: únavový stav, dermatitis herpetiformis (Duhring), hypoplázie zubní skloviny definitivního chrupu, osteopenie/osteoporóza, menší vzrůst, pubertas tarda, anémie neodpovídající na terapii
  - méně časté: hepatopatie, artritida, epilepsie s okcipitálními kalcifikacemi



# Klinický obraz

- Další formy nejsou běžně diagnostikovány a tvoří téměř 80 % případů
- **Klinicky nemá (tichá) forma CS** je charakterizována přítomností protilátek, při enterobiopsii nalézáme charakteristické změny histologického obrazu céliakie. CS se sice klinicky nemanifestuje, ale celoživotní bezlepková dieta je plně indikována

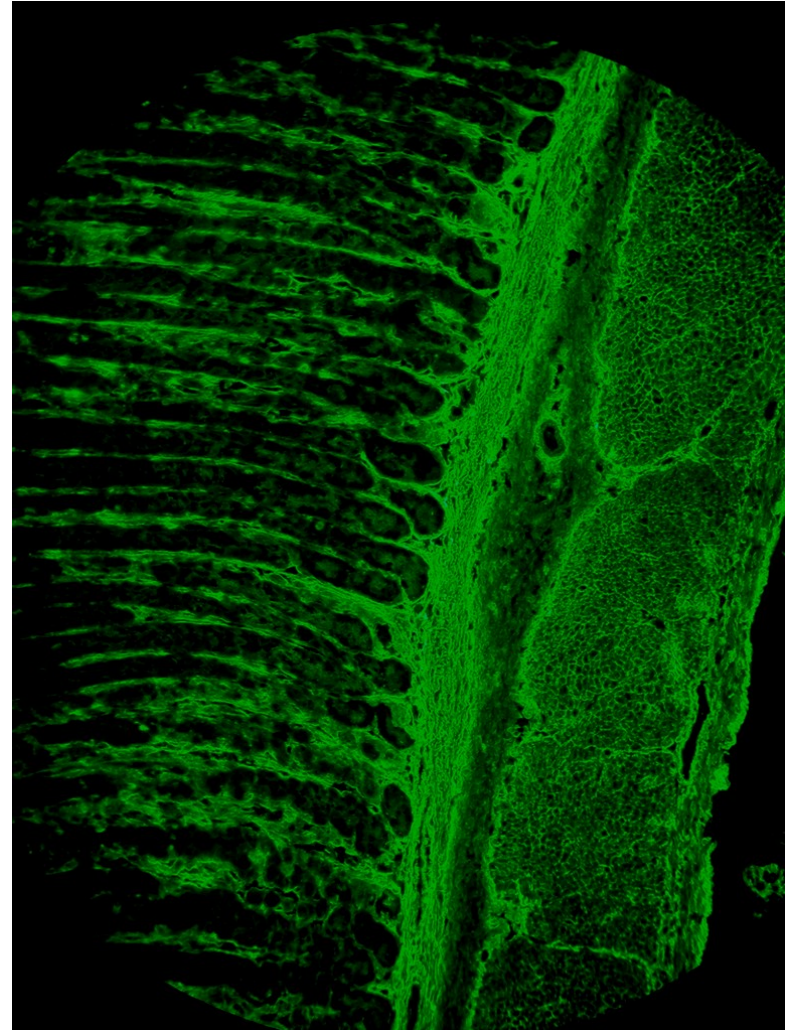
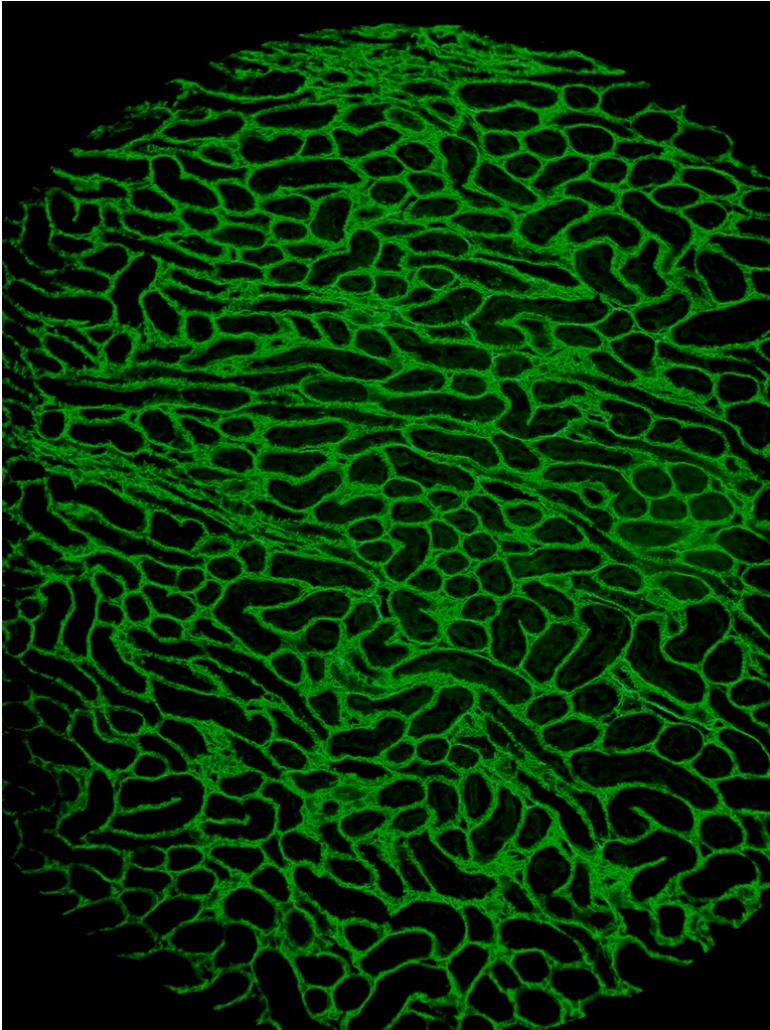
# Klinický obraz

- **Latentní forma** je charakterizována pouze pozitivními sérologickými testy, při enterobiopsii je nalezena normální architektura sliznice

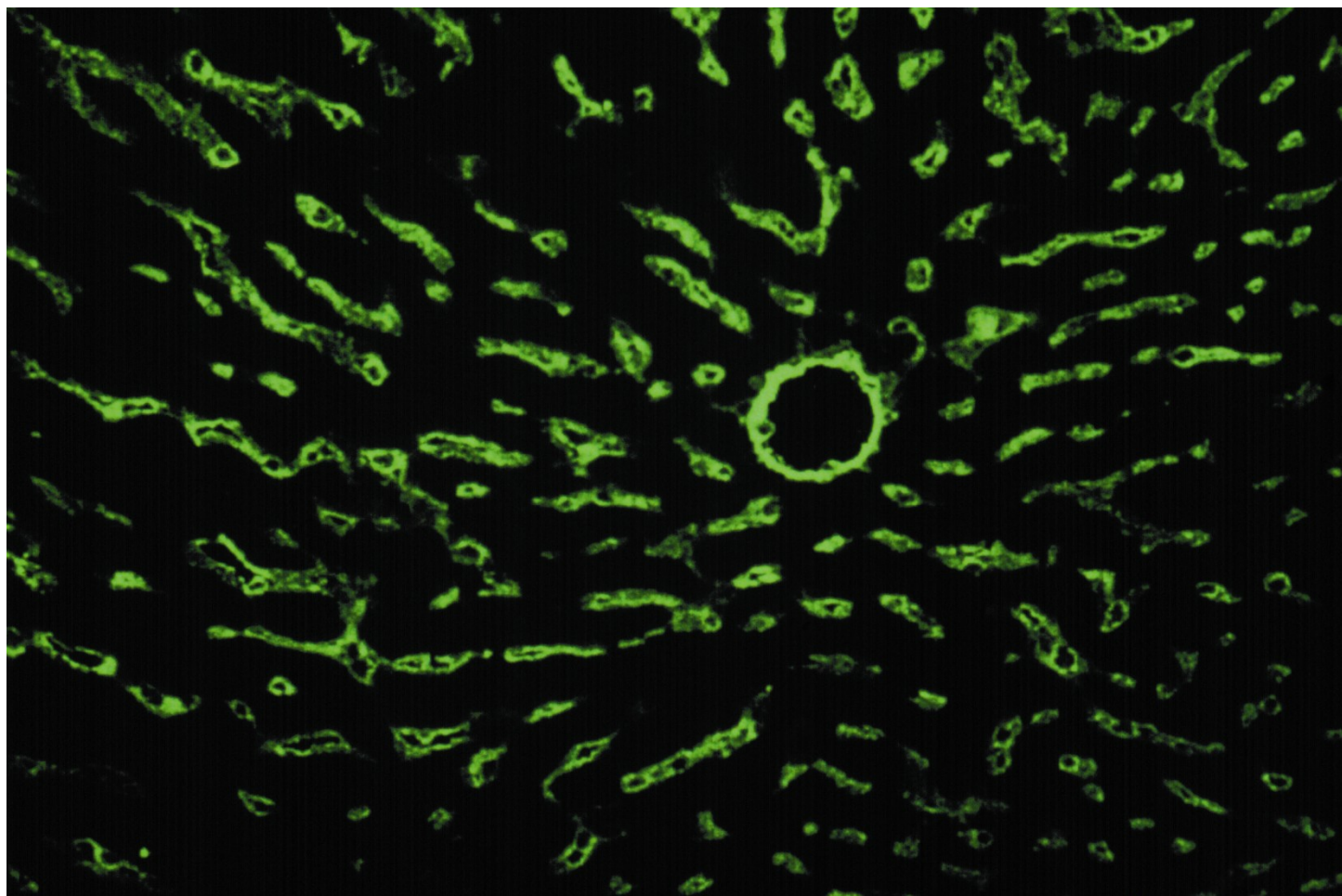
# Diagnostika

- 1. anamnéza a klinické projevy
- 2. stanovení celkového IgA v séru a (event. i IgG) protilátek proti gliadinu anti -Gliadin) a endomyziu (EMA), popřípadě protilátky proti tkáňové transglutamináze (AtTGA).
- 3. histologický nález biopsie sliznice tenkého střeva u dítěte před nasazením bezlepkové diety
- 4. klinická a sérologická odpověď na bezlepkovou dietu
- 5. vyloučení jiných chorob napodobujících CS
- 6. Pro definitivní diagnózu je nejdůležitější pozitivní střevní biopsie s příznivou odpovědí na bezlepkovou dietu (s výjimkou dětí do 2 let věku).

# anti RET, ledvina, žaludek



anti RET – typ Rs, játra



# anti RET - játra

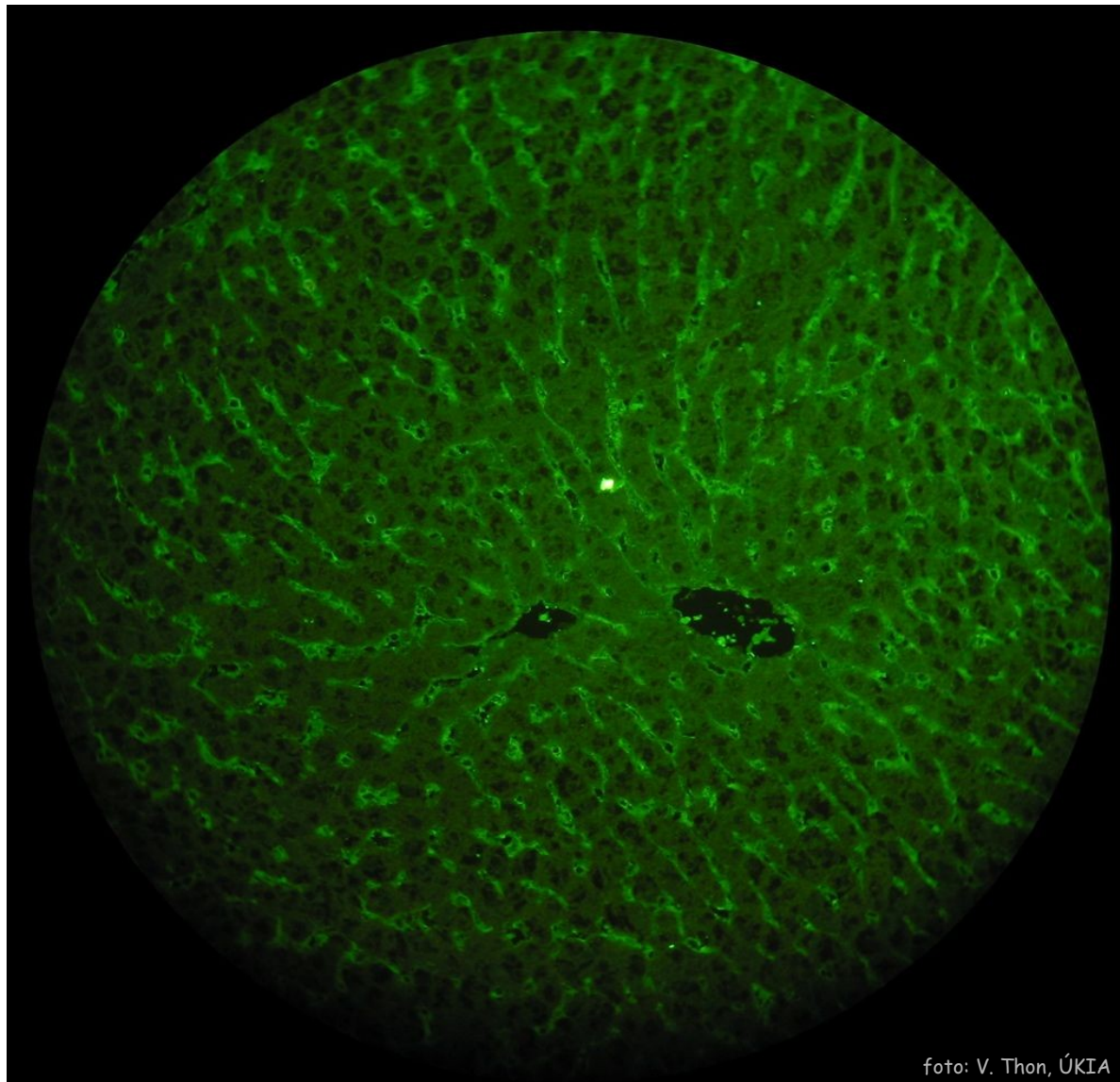


foto: V. Thon, ÚKIA

# EMA, opičí jícen

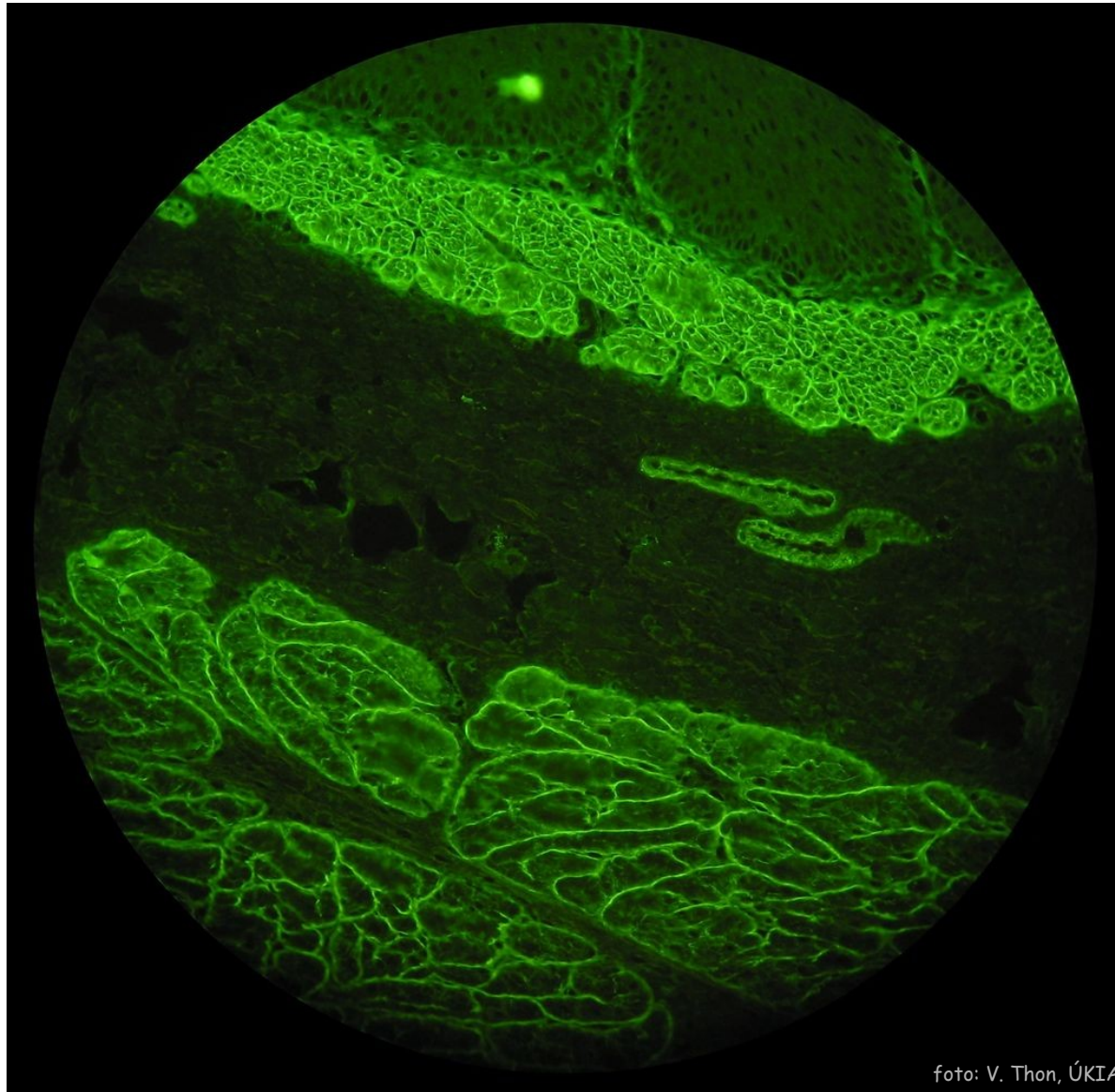
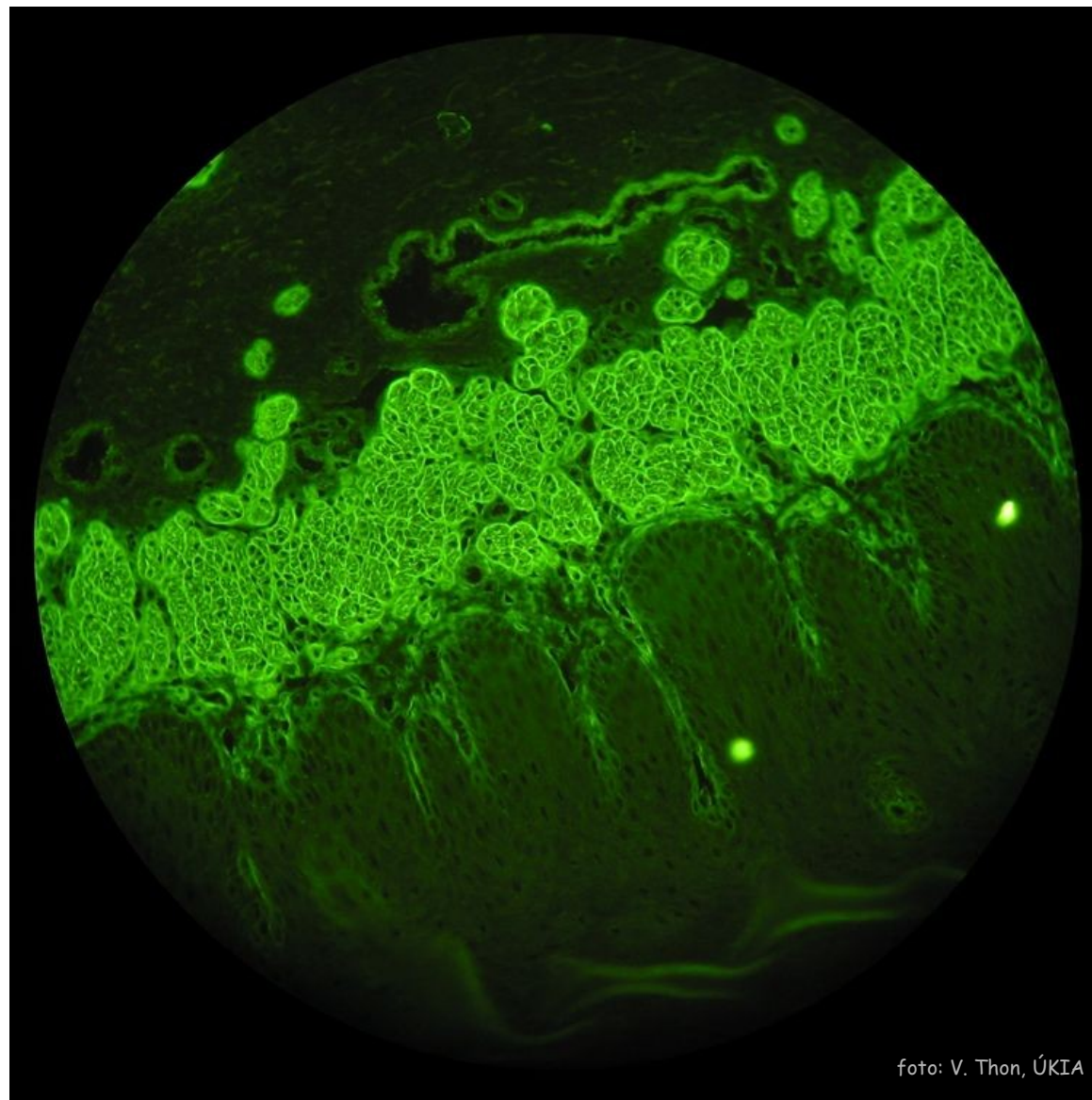


foto: V. Thon, ÚKIA

# EMA, opičí jícen





# Chyby při diagnóze

- 1. Nestanovení celkového IgA
- 2. Přítomnost Anti-Gliadinových neznamena vždy důkaz celiakie. Antigliadinové protilátky jsou spíše projevem zvýšené permeability stěny střevní pro bílkovinu a nemusí mít vztah k celiakii
- 3. Falešně negativní diagnóza – uvolnění diety bez přítomnosti symptomů neznamena vyléčení celiakie!

# Rizika nepoznané a neléčené celiakie

- poruchy růstu, opožděná puberta
- pozdní menarche, častěji potraty
- u mužů hypogonadismus, oligospermie
- osteopatie
- epilepsie, deprese
- vysoké riziko vzniku maligního lymfomu.
- Po desetiletém trvání nemoci dochází ke vzniku malignit až v 15 % případů. U nemocných s celiakií je zvýšená incidence i nádorů mimo trávicí trakt

# Léčba

- celoživotní bezlepková dieta - naprosté vyloučení pšenice, žita, ječmene a ovsa (o oves se vedou spory)
- konzumace i malého množství prolaminů vede ke změnám ve střevní sliznici
- při dodržování bezlepkové diety by mělo během prvních 6 měsíců dojít k poklesu protilátek k normě
- kontrola pacientů s CS - 1x ročně stanovení hladiny protilátek

# Dědičnost

- Celiakie se dědí autozomálně dominantně s nekompletní penetrací.
- Výskyt u rodinných příslušníků 1. stupně je 8-18%, u jednovaječných dvojčat dosahuje přibližně 70%
- Prevalence v ČR: 1:250–300; častěji postiženy ženy

# Smíšené onemocnění pojivové tkáně - MCTD (Mixed Connective Tissue Disease)

- Smíšené onemocnění pojiva je syndrom – soubor příznaků, charakteristický pro danou nemoc – u kterého se vyskytují příznaky lupusu (SLE), systémové sklerodermie (SSc), polymyositidy (PM) a revmatoidní artritidy (RA).
- Onemocnění poprvé popsal v roce 1972 Gordon Sharp (po něm je onemocnění pojmenované Sharpův syndrom) ;)
- Přítomny jsou ANA protilátky, vysoké titry protilátek proti nukleárnímu ribonukleoproteinu senzitivnímu vůči ribonukleáze (značí se U1RNP). U některých pacientů tyto protilátky přetrvávají, u některých vymizí.

# SYSTÉMOVÝ LUPUS ERYTHEMATODES

- Chronické zánětlivé **systemové onemocnění** s poruchou regulace imunity
  - nadměrné ukládání imunokomplexů do tkání
- Klinický obraz
  - **klouby a svaly** – polyarthralgie, arthritis
  - **Kůže** – motýlový exantém, erytémy, urtika, vitiligo, alopecie, ulcerace sliznic
  - **Ledviny** – lupus nefritida
  - **Plíce** – lupusová pneumonitis
  - **Mozek** – migréna, deprese, psychóza
  - **Játra** - hepatitidy
  - **Srdce** – ztluštění chlopní, myokarditis

# Systemový lupus erythematoses

- Prevalence 1: 4000
- Poměr ženy: muži je 10:1
- Typická začátek mezi 20-40 let
- Vysoký výskyt u osob s deficitem prvních složek klasické cesty komplementu
- Onemocnění probíhá v atakách a remisích
- Onemocnění může být vyvoláno řadou léků: fenytoin, karbamazepin, sulfasalazin, chlorpromazin...

# Systemový Lupus Erythematosus (SLE)

- chronické systémové autoimunitní onemocnění pojivové tkáně
- nejčastěji postihuje ženy a dívky v plodném věku ( 15- 45 )
- imunitní systém napadá buňky těla a tkáně → zánět
- jedná se o III. typ hypersenzitivní reakce



# HISTORIE ROZPOZNANÍ SLE

lupus (lat.)- vlk  
Erythematosus (řec.) – červený

→ lékaři si mysleli, že vyrážka je následek vlčího kousnutí →  
„vlčí tvář“

12.st- lékař Rogerius - termín *lupus* pro vyrážku

1872 – M. Kaposi – popsal systémové projevy

1948 – objevení LE buněk

# Příčiny vzniku SLE

- neexistuje žádná konkrétní příčina
- předpokládá se součinnost 2 mechanismů :

## 1) Genetika (vrozené RF)

- nejdůležitější geny jsou umístěné v HLA oblasti na 6.chromozomu
- především HLA třídy I. a II. mohou zvýšit riziko vzniku
- asociace s alelickou formou HLA DR3 (RR 3,7)

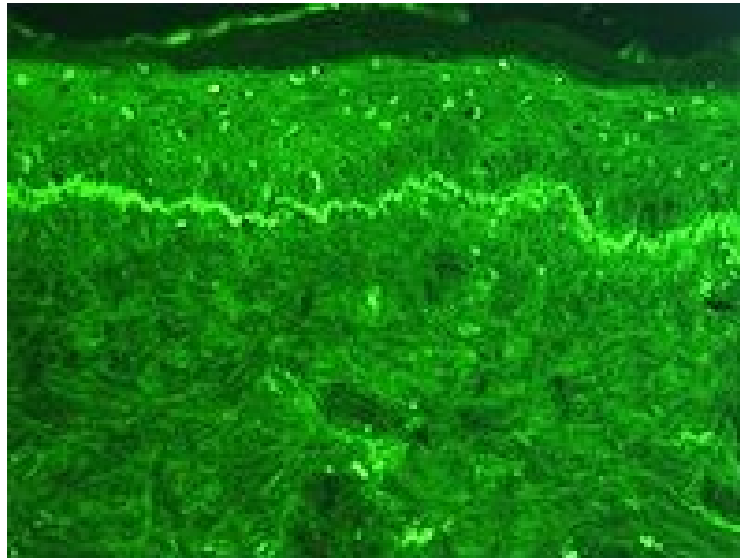
# Příčiny vzniku SLE

## 2) Živ. prostředí

- některé léky - např. antibiotika, antidepresiva
- extrémní stres
- expozice UV záření (mění strukturu DNA → tvorba protilátek)
- infekce
- pohl. hormony – zejm. estrogen → 10x ↑ četnost' u

→ Imunitní systém produkuje protilátky proti sobě

- tzv. antinukleární protilátky (ANA) – starší název antinukleární faktor (ANF)- zejm. proti bílkovinným komponentám
  - nejčastěji proti dvouvláknové (ds) DNA, histonomu a tzv.extrahovaným nukleárním antigenům
  - důkaz protilátek anti-dsDNA je pre SLE specifický
- ojediněle můžeme nalézt pacienty ANA negativní
- ANA se dokazují nepřímou imunofluorescencí



# Příčiny onemocnění - genetické

- Běžnější v černošské a žluté rase než v bílé rasy
- Asociován s přítomností molekul HLA-DR2 a – DR3
- Alely kódující složky komplementu C4, C1q, C1r a C1s
- Odlišné izoformy Fc receptorů

# Příčiny vzniku SLE – abnormální průběh apoptózy

- V krvi nemocných - nukleosomy – základní jednotka chromatinu uvolňovaná po rozštěpení řetězce DNA v průběhu apoptózy
- Nukleosom se sestává z jádra složeného z dimerů histonů H2A, H2B, H3A4. Okolo nich je ovinuta dvošroubovicová DNA , proti které vznikají autoantilátky
- V apoptotických těliscích jsou dále přítomny jaderné nebo cytoplazmatické ribonukleoproteiny: SSA/Ro, SSB/La a sRNP

# Příčiny vzniku LSE – poruchy v apoptóze

1. Apoptóza se zvyšuje u monocytů a keratinocytů
2. Zvýšená exprese Fas u B- a T-lymfocytů
3. Při apoptóze záleží, které buňky se uplatňují při odstraňování apoptotických buněk z těla:
  - TBM's (Tingible body macrophages) – velké fagocytární buňky v germinálních centrech sekundárních lymf. uzlin
  - - pohlcují B-buňky zničené apoptózou
    - Dendritické buňky - endocytózou pohlcují antigenní materiál - aktivace T-lymfocytů
  - → tento pohlcený materiál porušuje toleranci mezi B a T-lymf
  - Navíc přítomen ve zvýšené koncentraci TNF $\alpha$

# Příčiny vzniku SLE

- monocyty mají sníženou expresi CD44 (degradace apoptotických buněk)
- složky komplementu, CRP, glykoproteiny  
→ důležité pro fagocytózu- chybí, buď jsou ↓ anebo neefektivní
- progrese apoptózy vede k nekróze buněk
- takto odumřelé buňky působí jako autoantigeny a navozují maturaci dendritických buněk

**Autoimunita je způsobená zvýšenou expozicí nukleárních autoantigenů nebo sekundárně nekrotizujícími buňkami.**



# Příčiny vzniku SLE – abnormální průběh apoptózy

- Pl. proti dsDNA- podílejí se na patogenezi SLE – ukládají se v glomerulech , splu s pl. Proti bazální membráně glomerulů vyvolávají nefritidu
- – u 70% nemocných SLE
- Sm ( anti Smith protilátky) antigen je tvořen proteiny U2, U4 a U5, které jsou součástí malých jaderných ribonukleoproteinů (snRNP – small nuclear ribonucleoprotein).
- - významná pro stanovení diagnózy SLE – u 25% nemocných

# SYMPTOMY

- SLE je choroba známa jako tzv. „the great imitator“
- rozlišuje se tzv. diferenciální diagnostikou
- společné počáteční a chronické příznaky:
  - horečka
  - malátnost
  - únava
  - bolest kloubů a svalů
  - ztráta chuti k jídlu, hubnutí

# SYMPTOMY

## 1) Dermatologické

- *Motýlí exantém (butterfly rash)*
- červené, šupinaté skvrny na kůži
- alopecie
- ústní, nosní, vaginální vředy
- Raynaudův syndrom
- zvýšená fotosenzitivita

## 2) Muskuloskeletální

- bolest kloubů – malé klouby ruky a zápěstí
- bolest svalů - víc jak 90% pacientů
- ↑ riziko osteoartikulární tuberkulózy

## 3) Hematologické

- anémie – 50% případů
- leukopenie, lymfopenie, trombocytopenie
- hypocomplementemia- deficit C3, C4
- antikardiolipinové protilátky – falešně poz. na syfilis !!!



#### 4) Srdeční

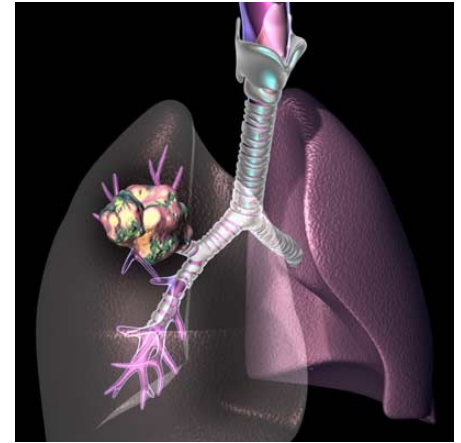
- záněty – perikarditídy, endokarditídy,...
- ateroskleróza – rapidnejší progresse

#### 5) Plicní

- pleuritis – pleurální výpotek
- lupus pneumonitis

#### 6) Renální

- hematúrie, proteinúrie
- lupus nephritis – glomerulonephritida
- způsobená ukládáním imunokomplexů v baz.membráně



#### 7) Neuropsychiatrické

- v USA 19 syndromů u SLE
- bolest hlavy, kognitivna dysfunkce, poruchy nálady
- cerebrovaskulární onemocnění, záchvaty

# Diagnostika

- základní sérologické testy:

## 1. ANA (antinukleární protilátky)

a) anti-Smith

b) anti-dsDNA – specifické pro SLE

- přítomné v 70% případů

c) anti-histonové protilátky - specifické pro drug-induced lupus

## 2. anti-ENA (anti-extrahovatelný nukleární antigen)

- kompletní krevní obraz, jaterní testy, funkčnost ledvin,...

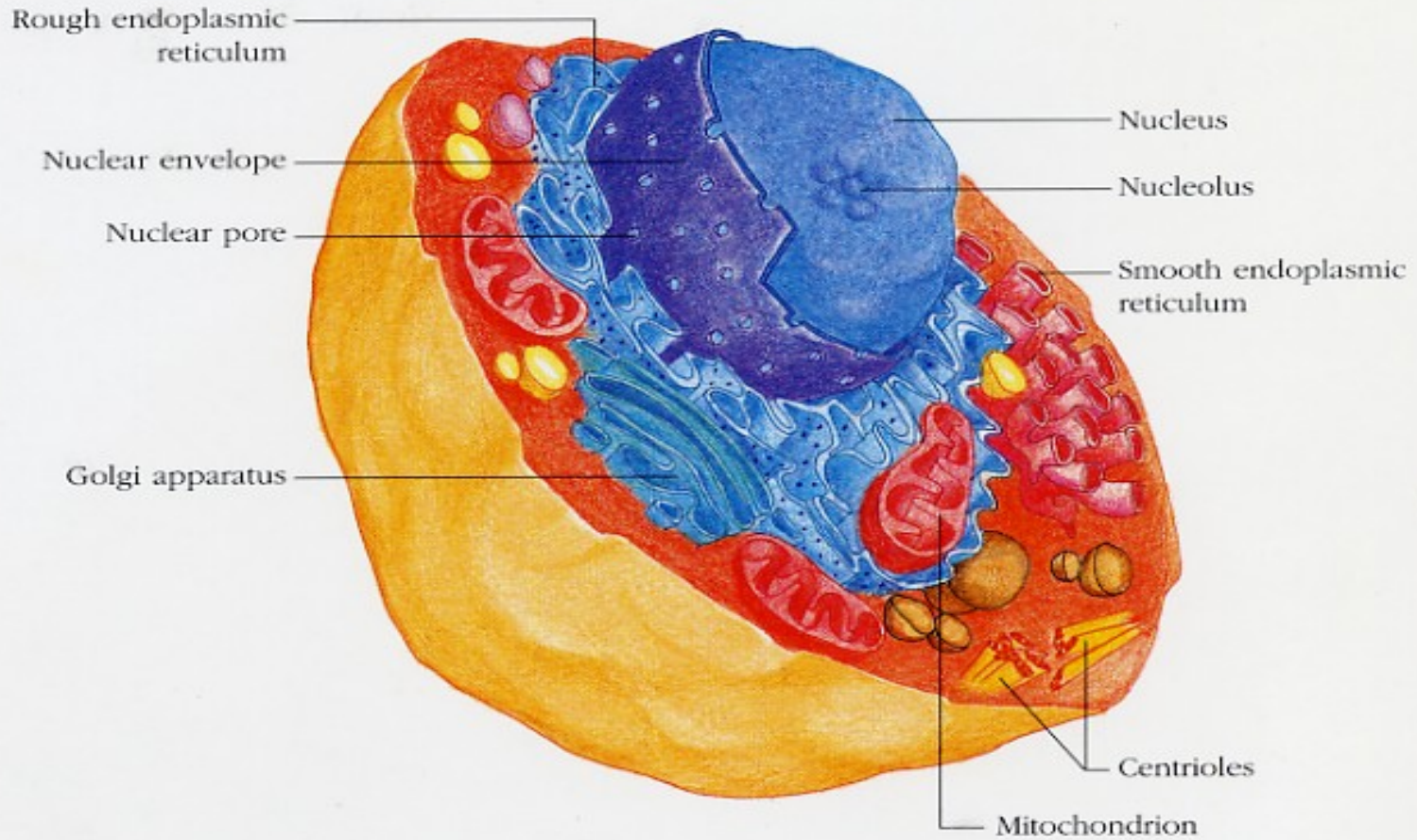
# Myasthenia gravis

- **Orgánově specifická choroba**
- Primární abnormalitou je snížení počtu funkčních receptorů pro acetylcholin na postsynaptické svalové membráně.
- Abnormální ochablost skeletálních svalů, způsobující od přechodného dvojitého vidění až život ohrožující paralýzu respiračních svalů.
- Může se vyskytnout v každém věku.
- V séru 80-90% pacientů s generalizovanou chorobou lze prokázat autoprotiátky – IgG anti-AChR.

# I. Antinukleární protilátky ( ANA )

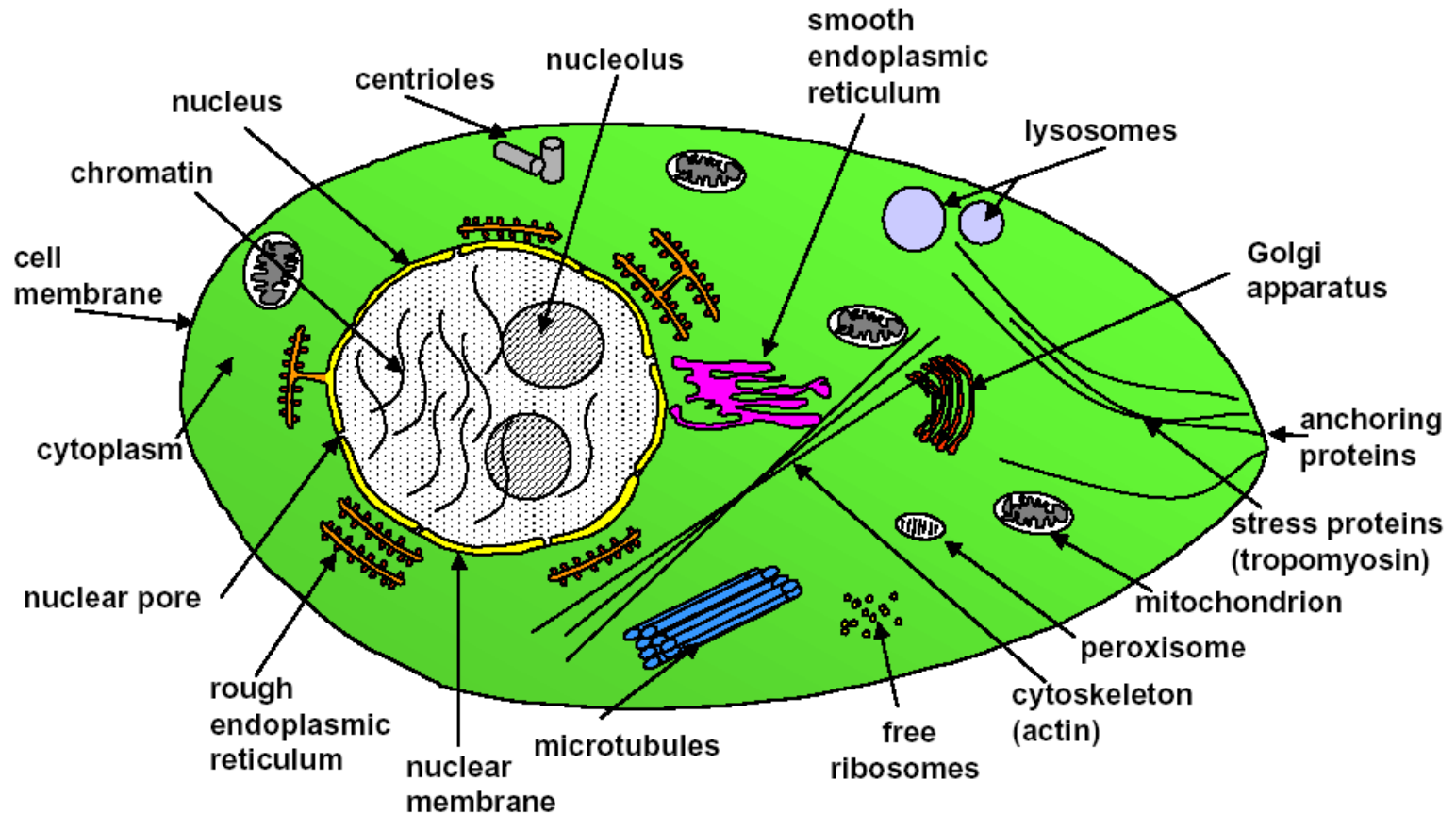
- nepřímá imunofluorescence
- linie Hep-2 buněk  
(Human epithelioma cells - bb.lidského laryngeálního karcinomu)
- zákl. ředění 1 : 80, dotitrovat geometrickou řadou do 1: 1 280
- typy fluorescence

# HEp-2 CELL





# Schéma Hep-2 buňky



## Jaderné autoantigeny

polynukleotidy

histony

ribonukleoproteiny

antigeny jadérek

centroméra

další antigeny

dsDNA

ssDNA

RNA

H1,H2A,H2B,  
H3.....

U1-nRNP, Sm,  
SS-A, SS-B

U3-nRNP/Fibrilarin,  
RNA- polymeráza 1,  
Pm-Scl, 7-2-RNP (To),  
organizér jadérka

Proteiny  
kinetochoru

Scl-70  
Cyclin(PCNA)  
jaderné granula  
Ku

# ***Typ: Homogenní***

## **antigen :**

histony - bazické proteiny asociované s DNA

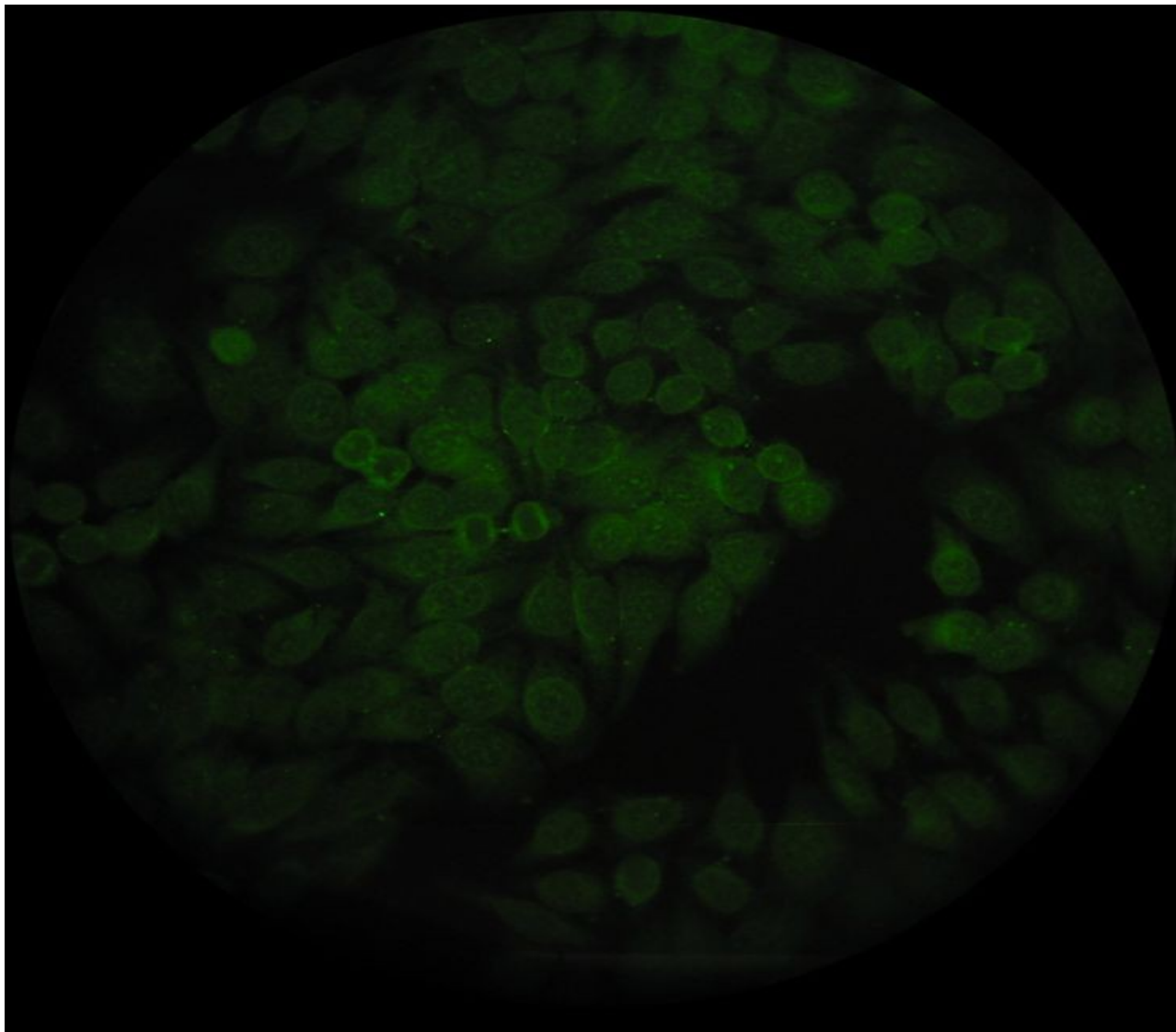
polynukleotidy - dsDNA, ssDNA

Ku - DNA vazebný protein

## **klinické asociace :**

SLE, léky indukovaný lupus, RA

negativní obraz

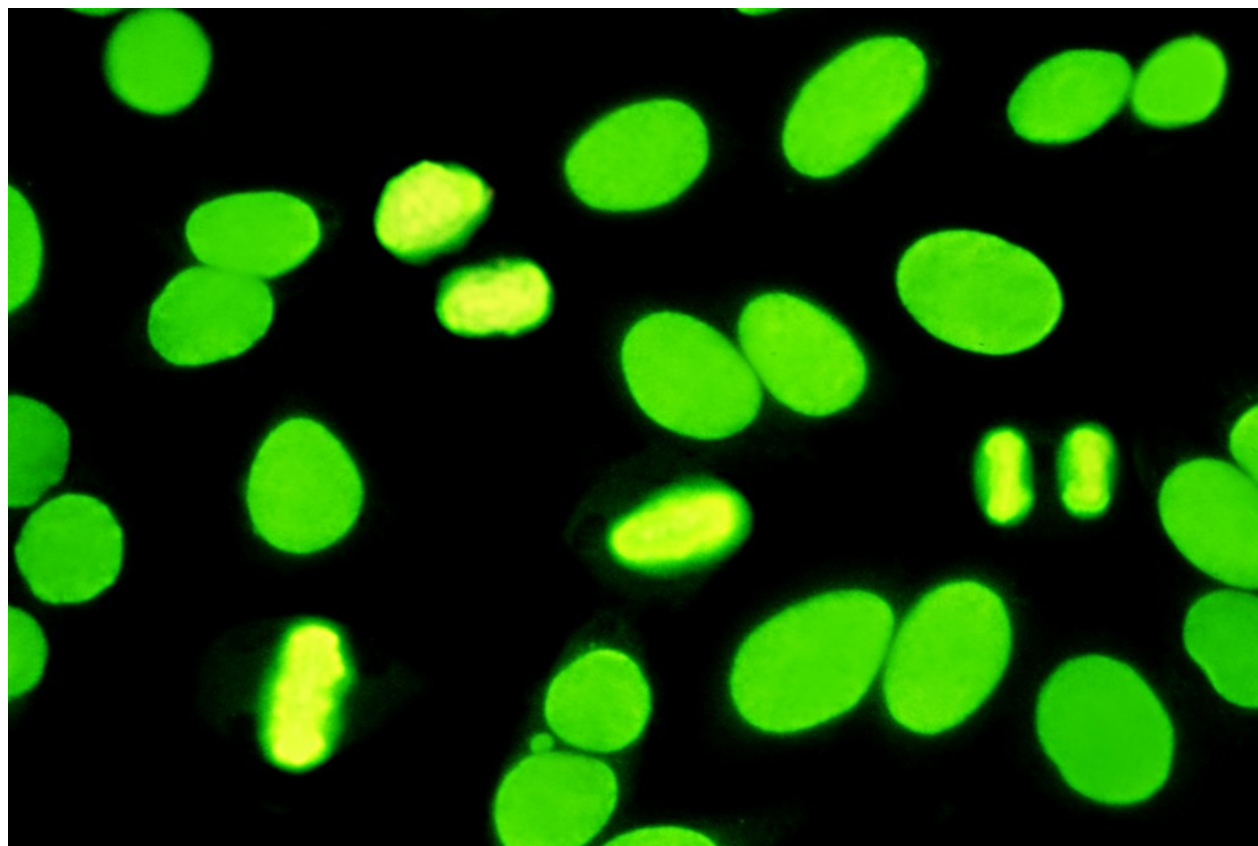


## Fluorescenční obraz na Hep-2

**HOMOGENNÍ**

Polynukleotity - dsDNA, ssDNA

Histony - H1,H2A,H2B, H3,H2A-H2B komplex



# ***Typ: Nukleární membrána***

**antigen :**

lamina A, B, C

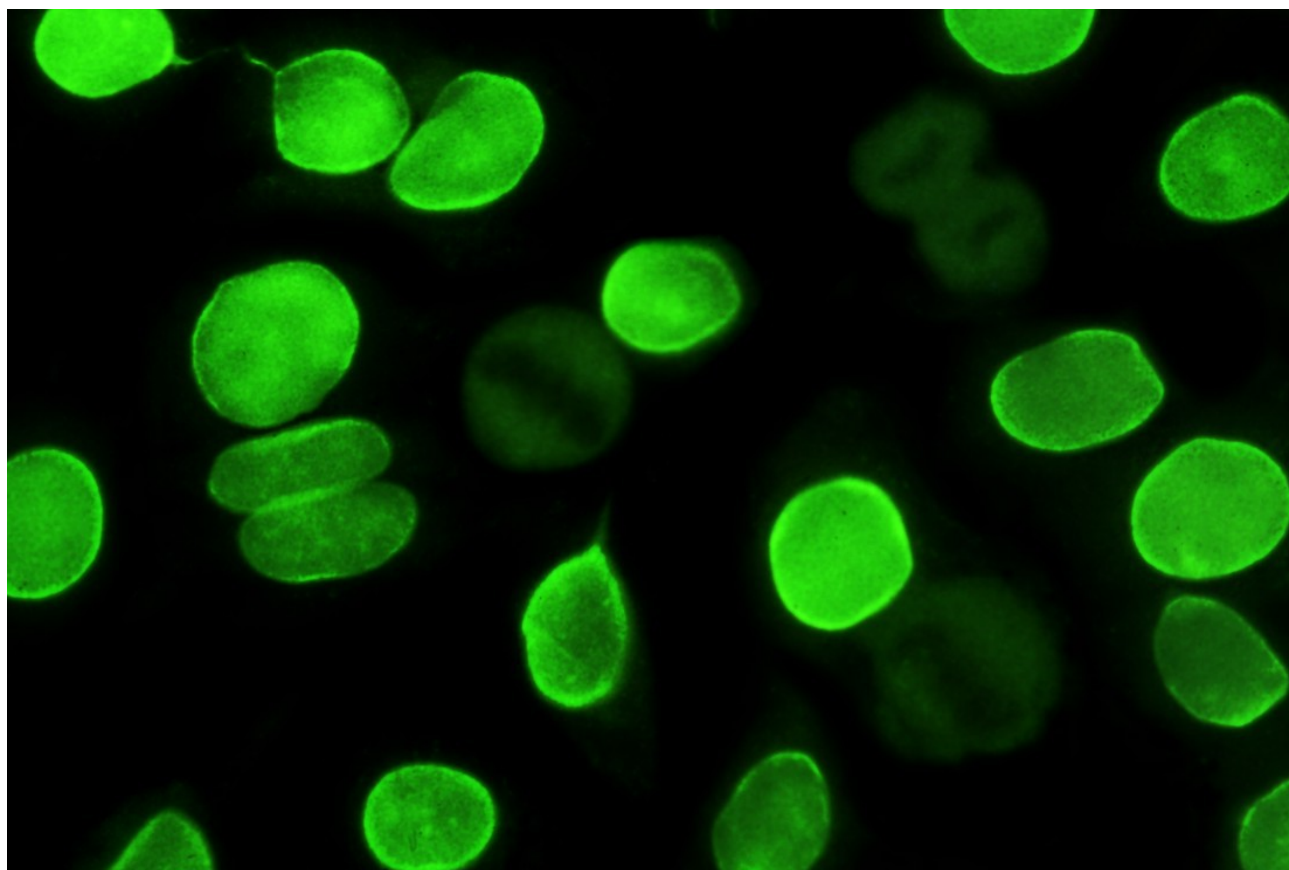
**klinické asociace :**

chronická autoimunitní hepatitida

(CAH) sclerodermie, SLE, Primární biliární cirhóza

# Fluorescenční obraz na Hep-2

Jaderná membrána



## ***Typ: Granulární - zrnitý***

**antigen :**

ribonukleoproteiny

**klinické asociace:**

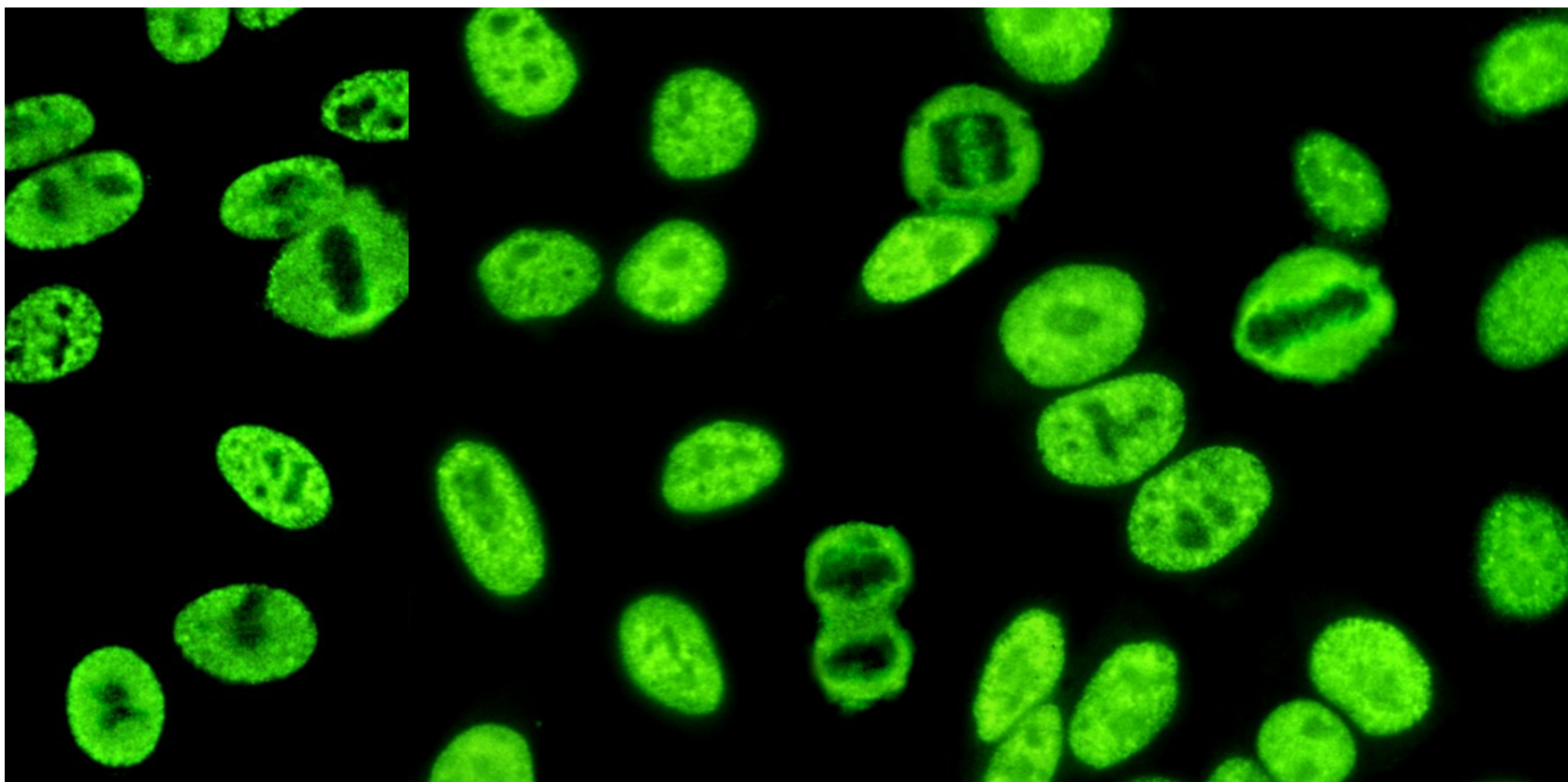
MCTD, Smíšené onemocnění pojivové tkáně (Mixed Connective Tissue Disease), Sjögrensy, SLE



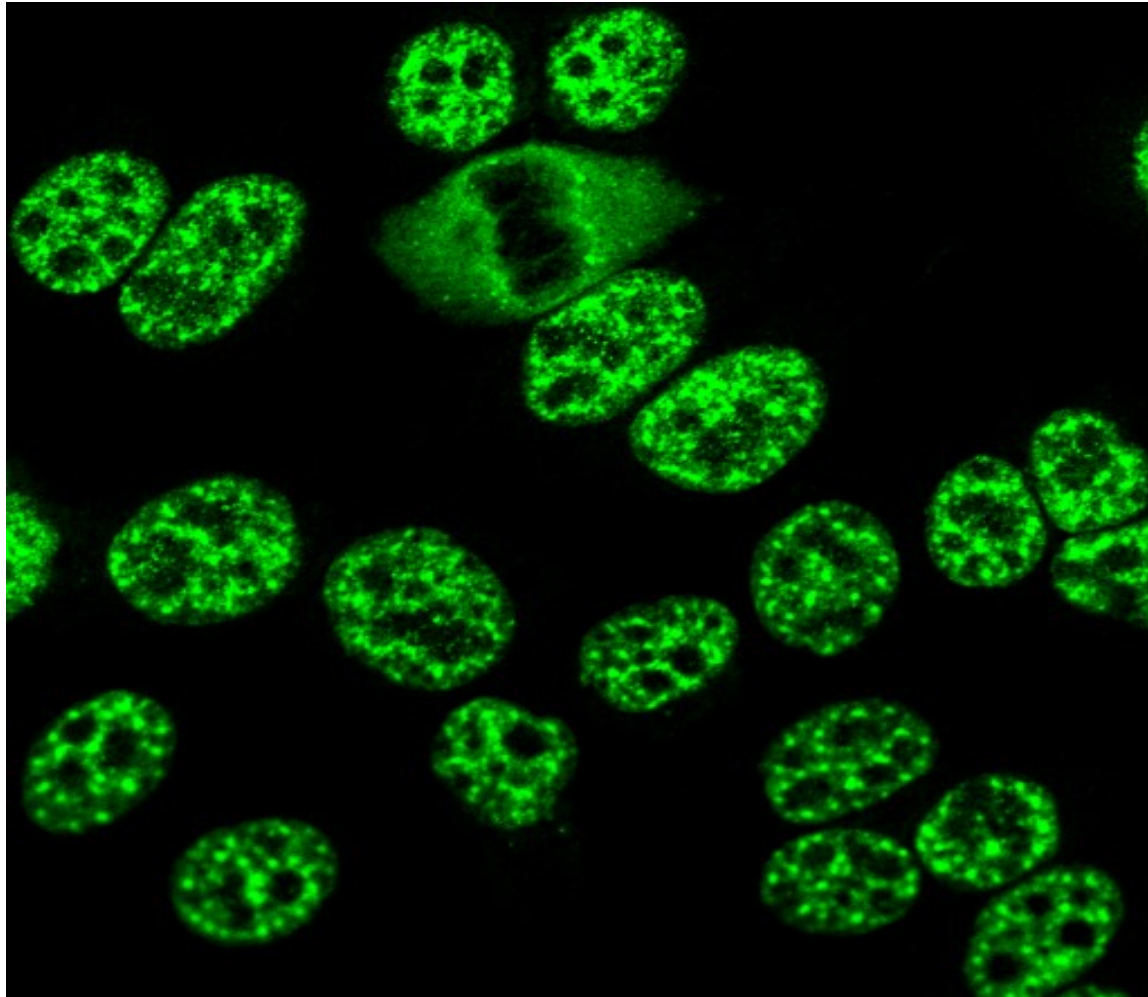
## Fluorescenční obraz na Hep-2

**ZRNITÁ**

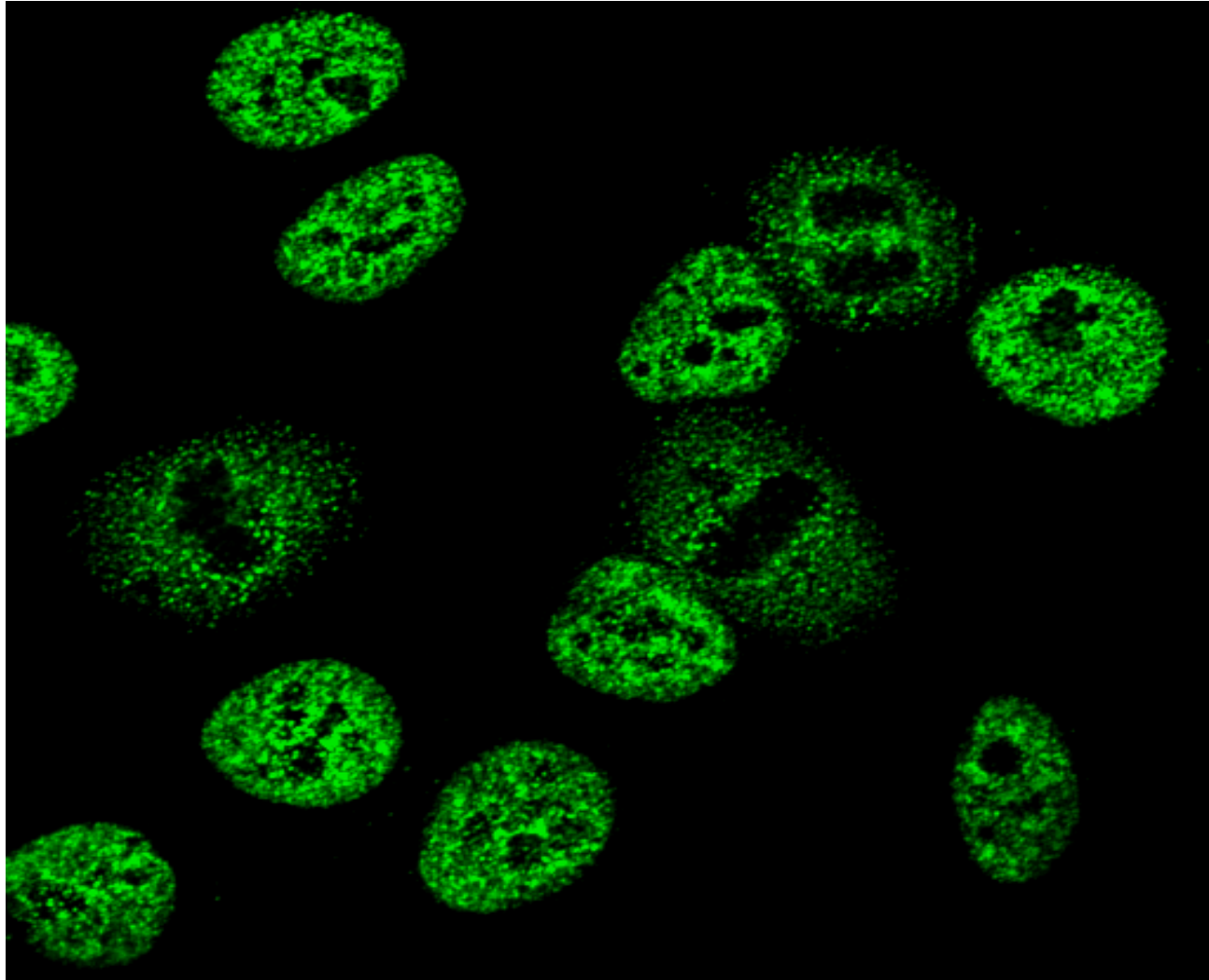
**Ribonukleoproteiny nukleoplazmy (ENA)  
U1-nRNP, Sm, SS-A, SS-B,**



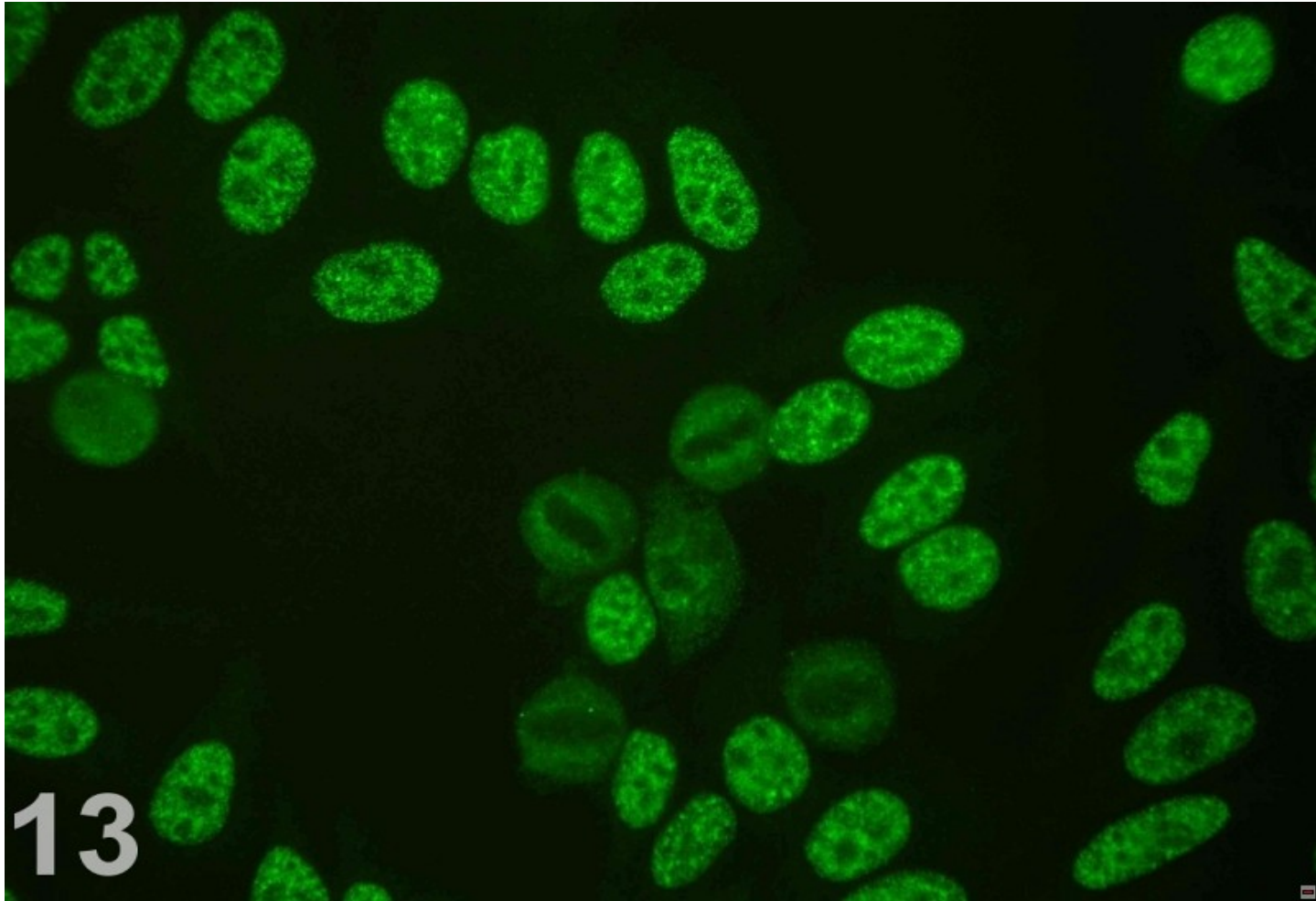
granulární



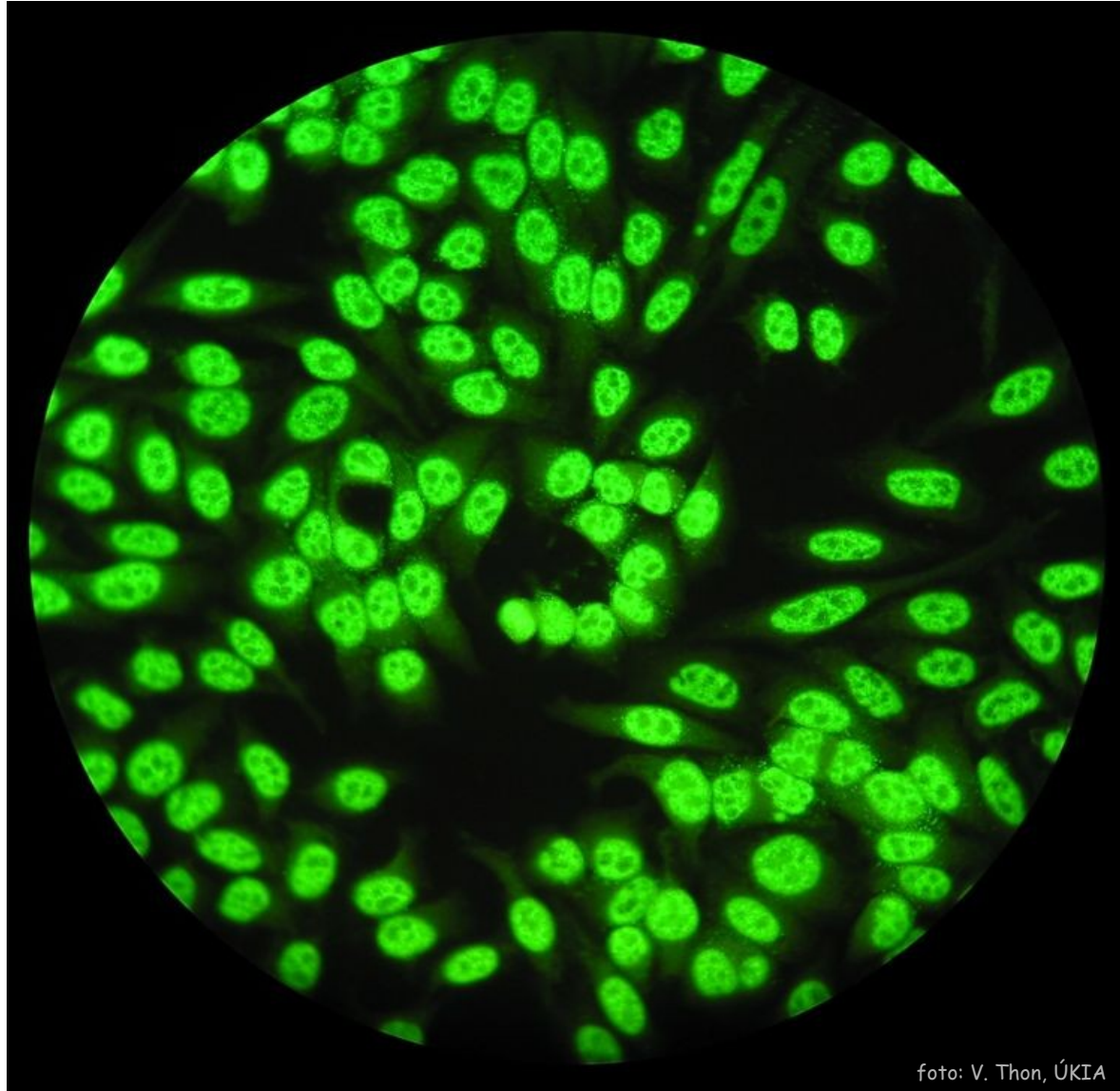
granulární



# granulární



granulární



# granulární

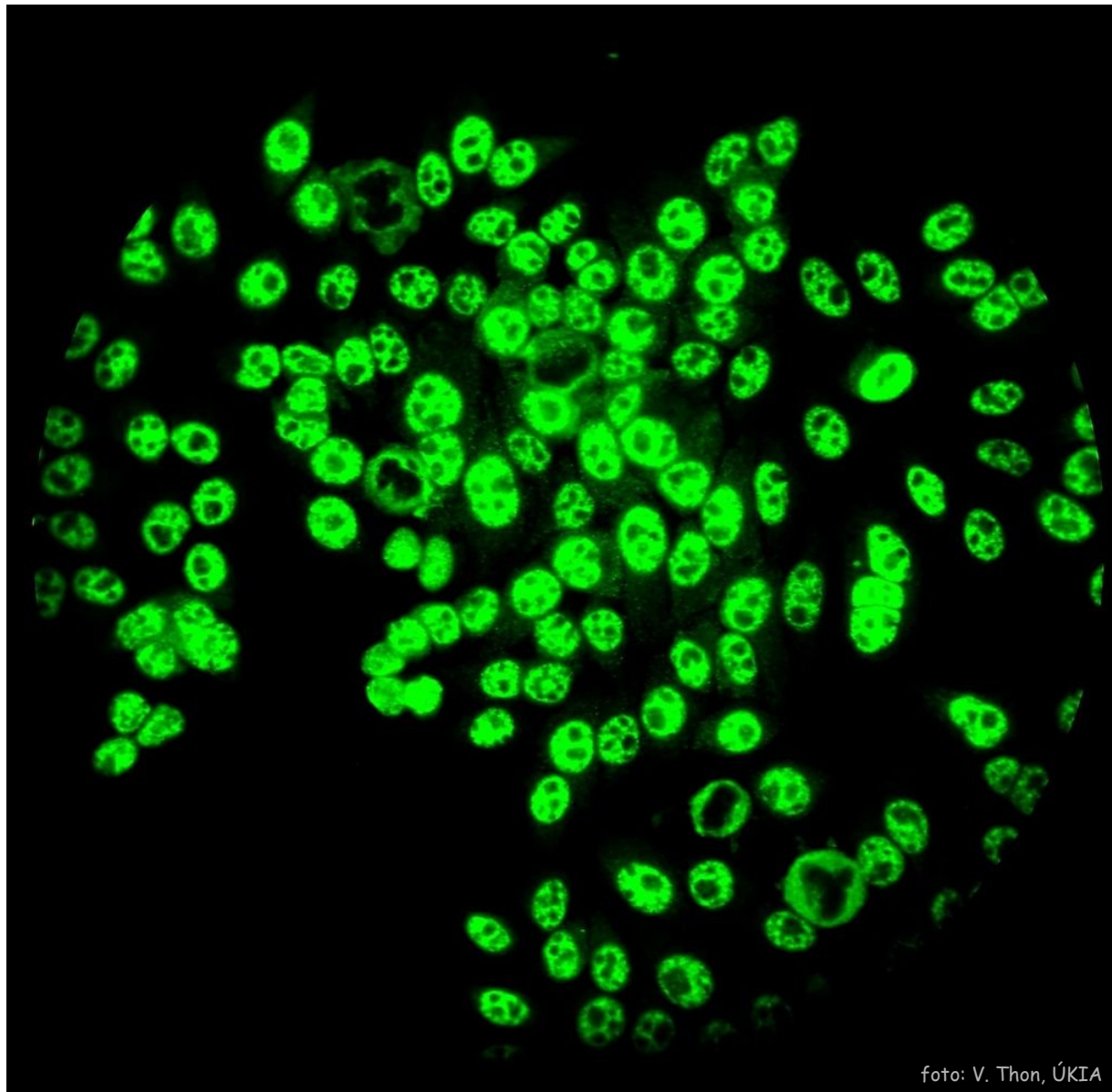


foto: V. Thon, ÚKIA

granulární

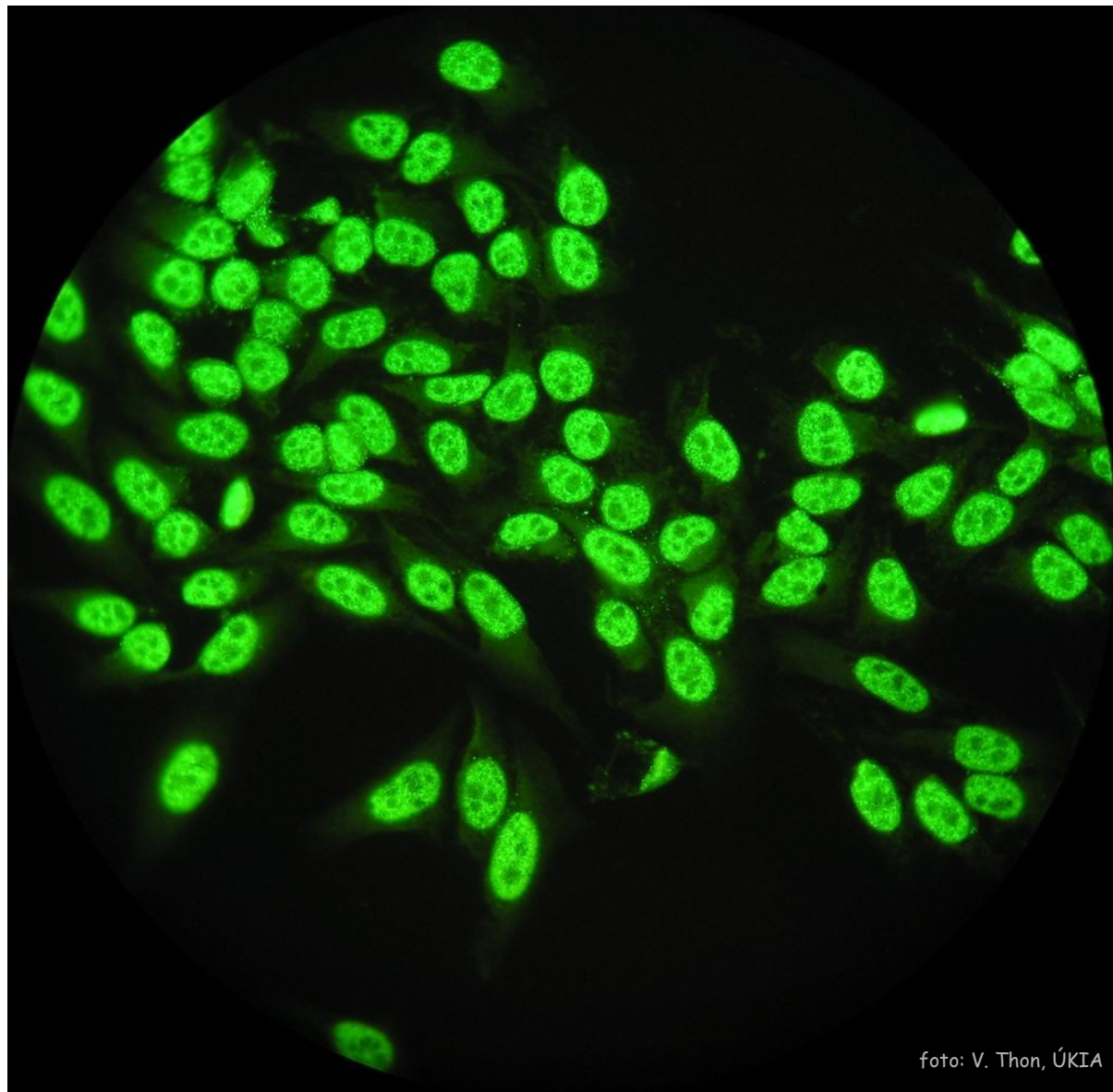


foto: V. Thon, ÚKIA

granulární

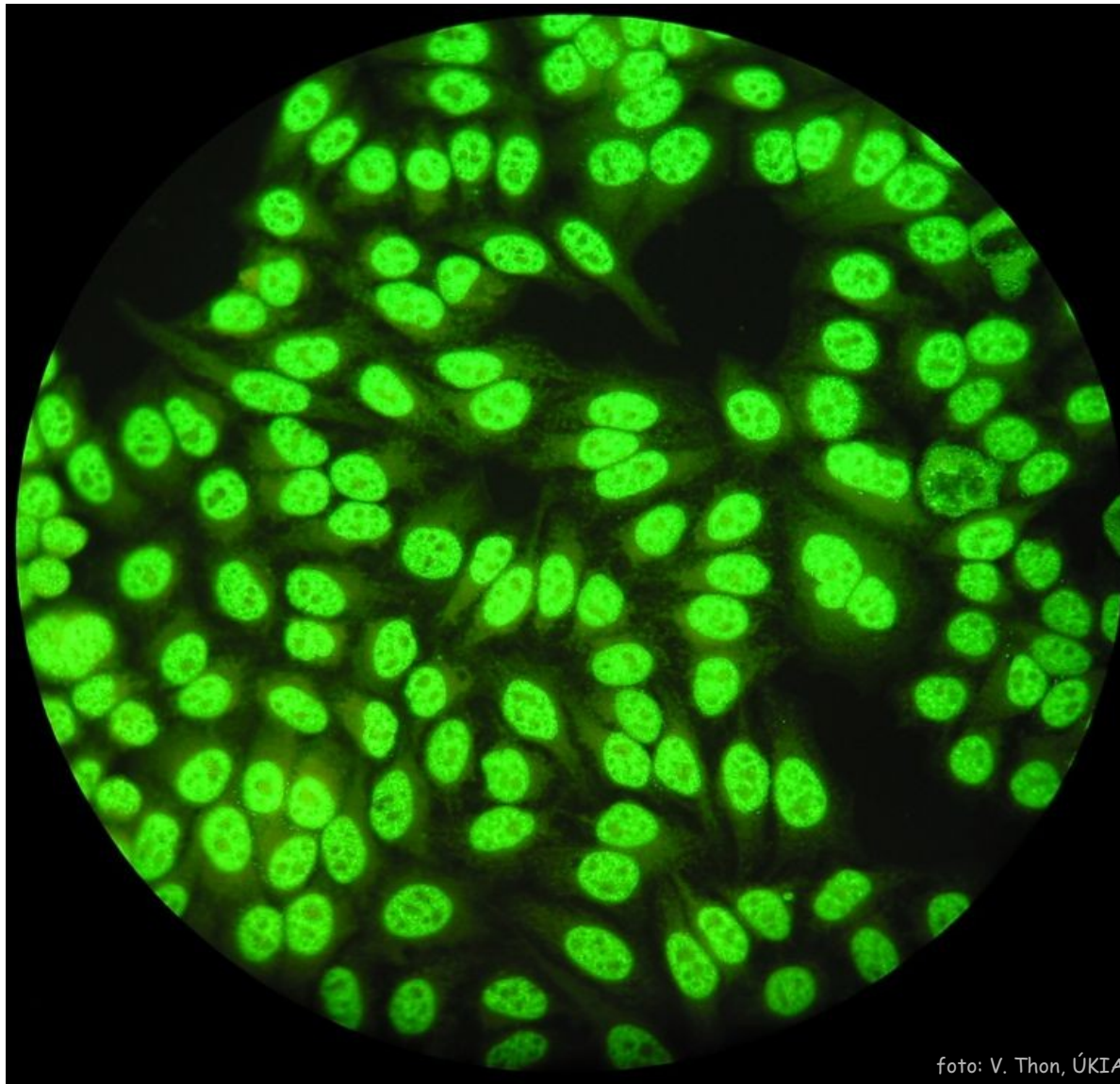


foto: V. Thon, ÚKIA



# **Typ: PCNA**

/ různorodá zrnitá fluorescence /

**antigen :**

cyclin I (Proliferating Cell Nuclear Ag)

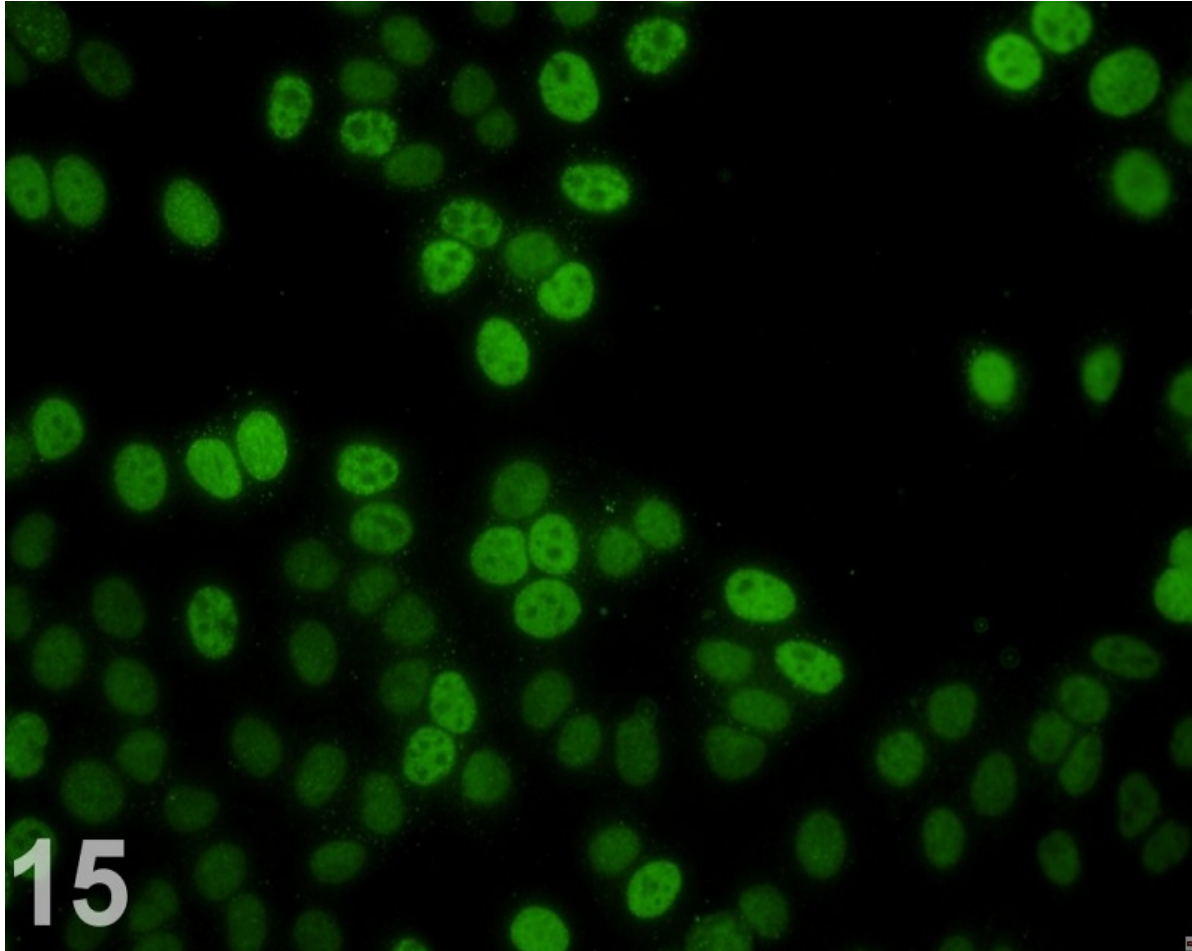
**klinická asociace :**

SLE – 3%

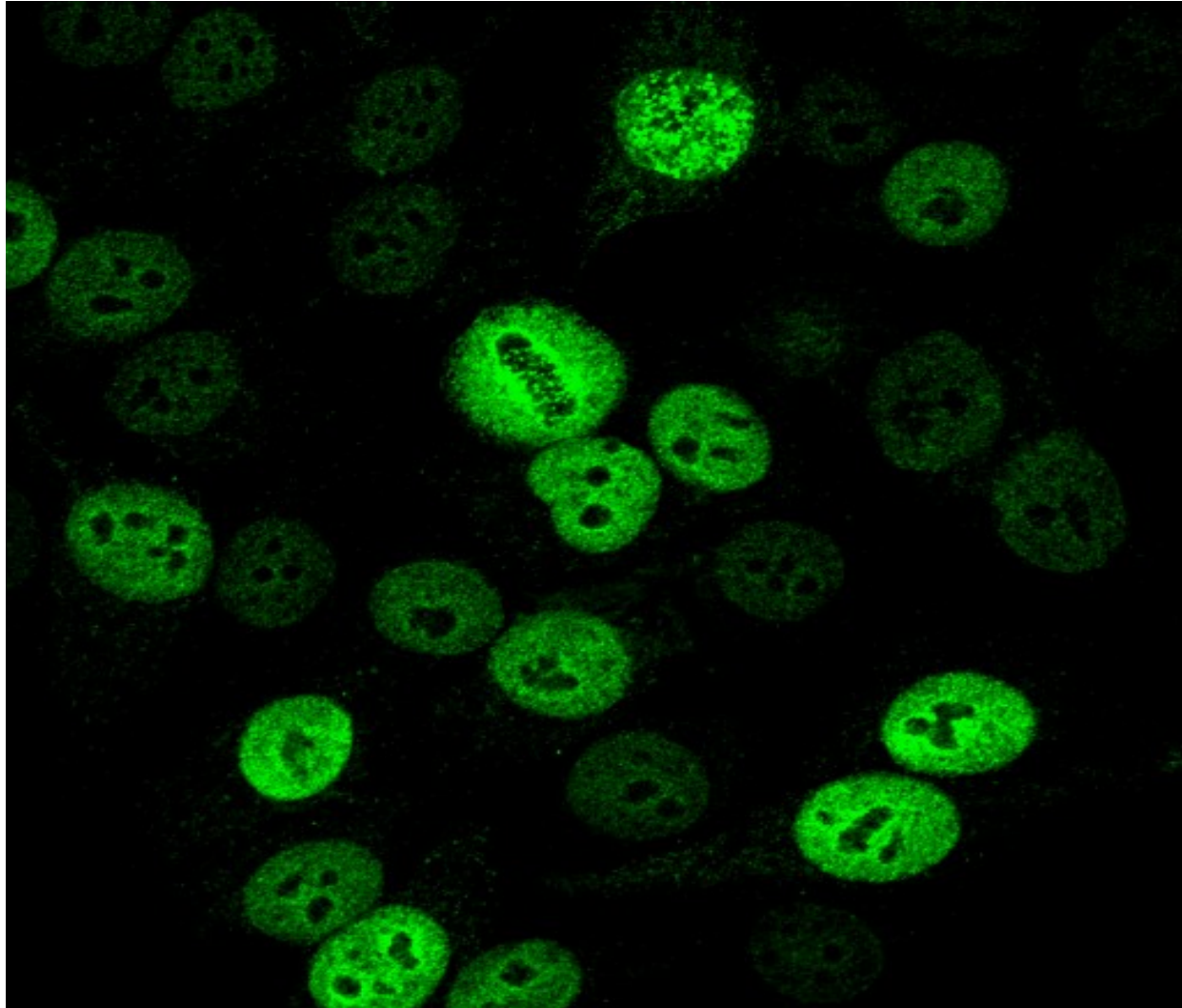
**fluorescenční obraz -**

zrnitá fluorescence jader dělících se bb. v S fázi / 10-50% bb./,  
bb. v klidové fázi a metafázi / G fáze / jsou negativní

# PCNA



# PCNA



# PCNA

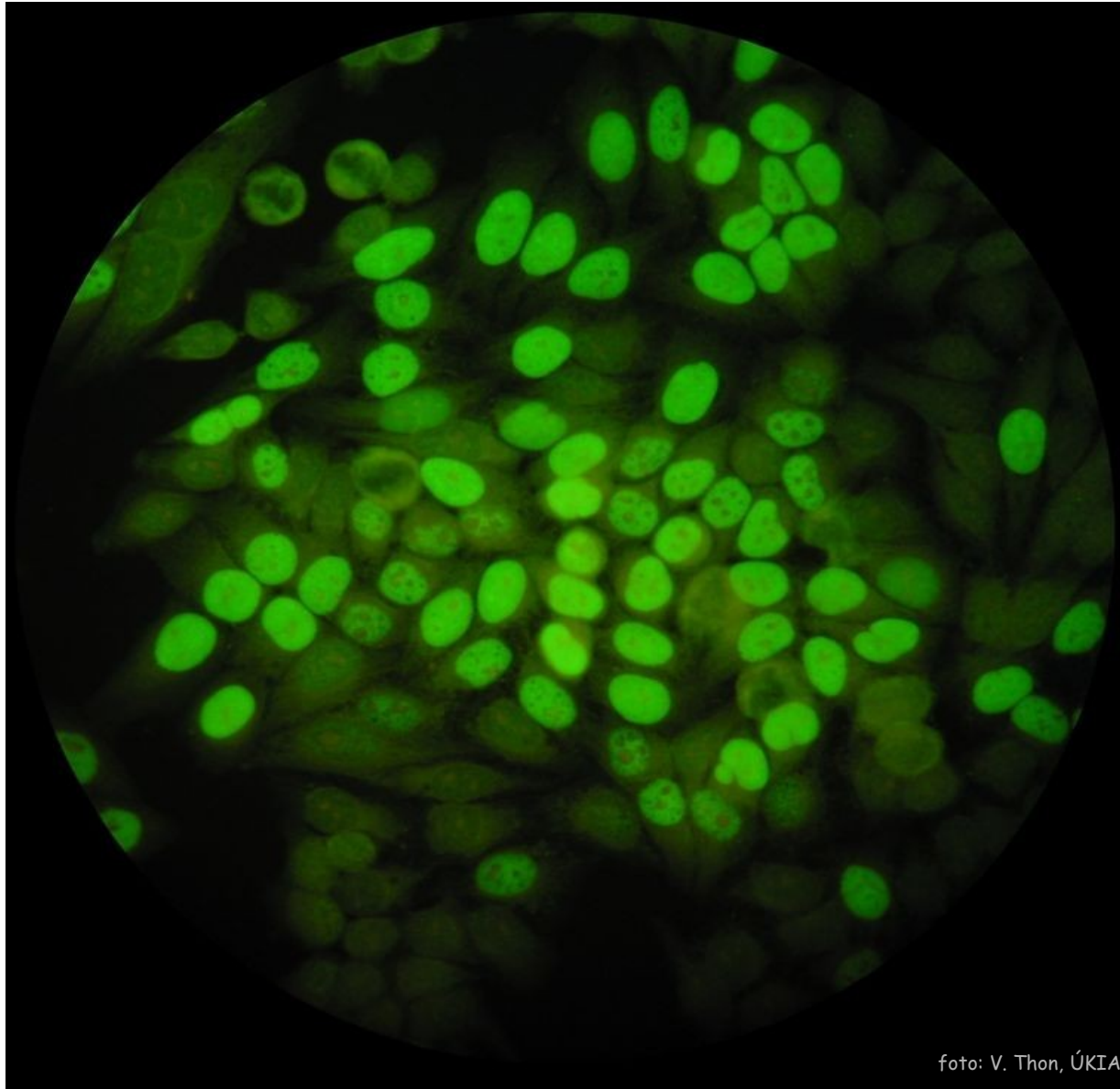


foto: V. Thon, ÚKIA

# PCNA

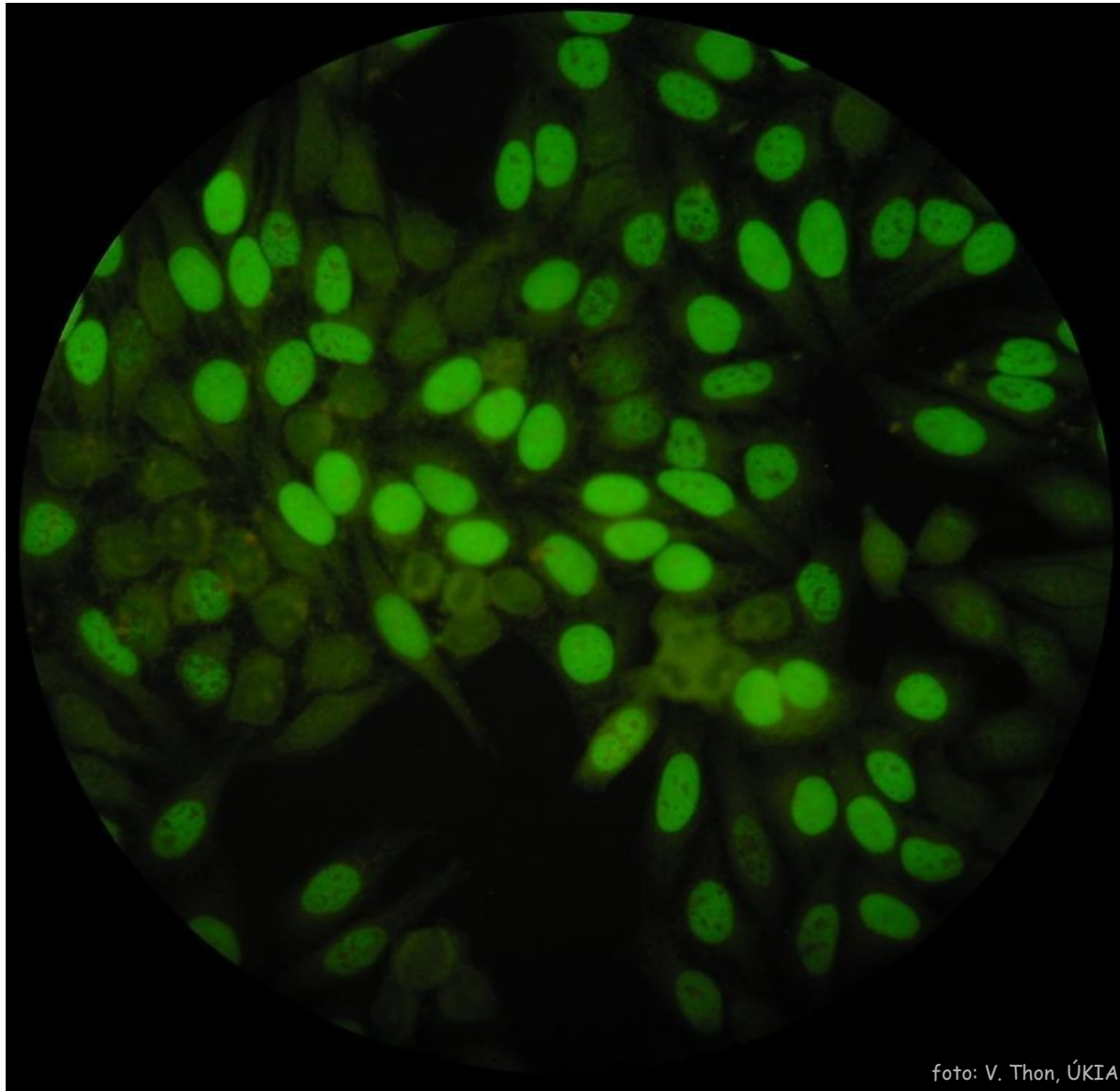


foto: V. Thon, ÚKIA

# PCNA

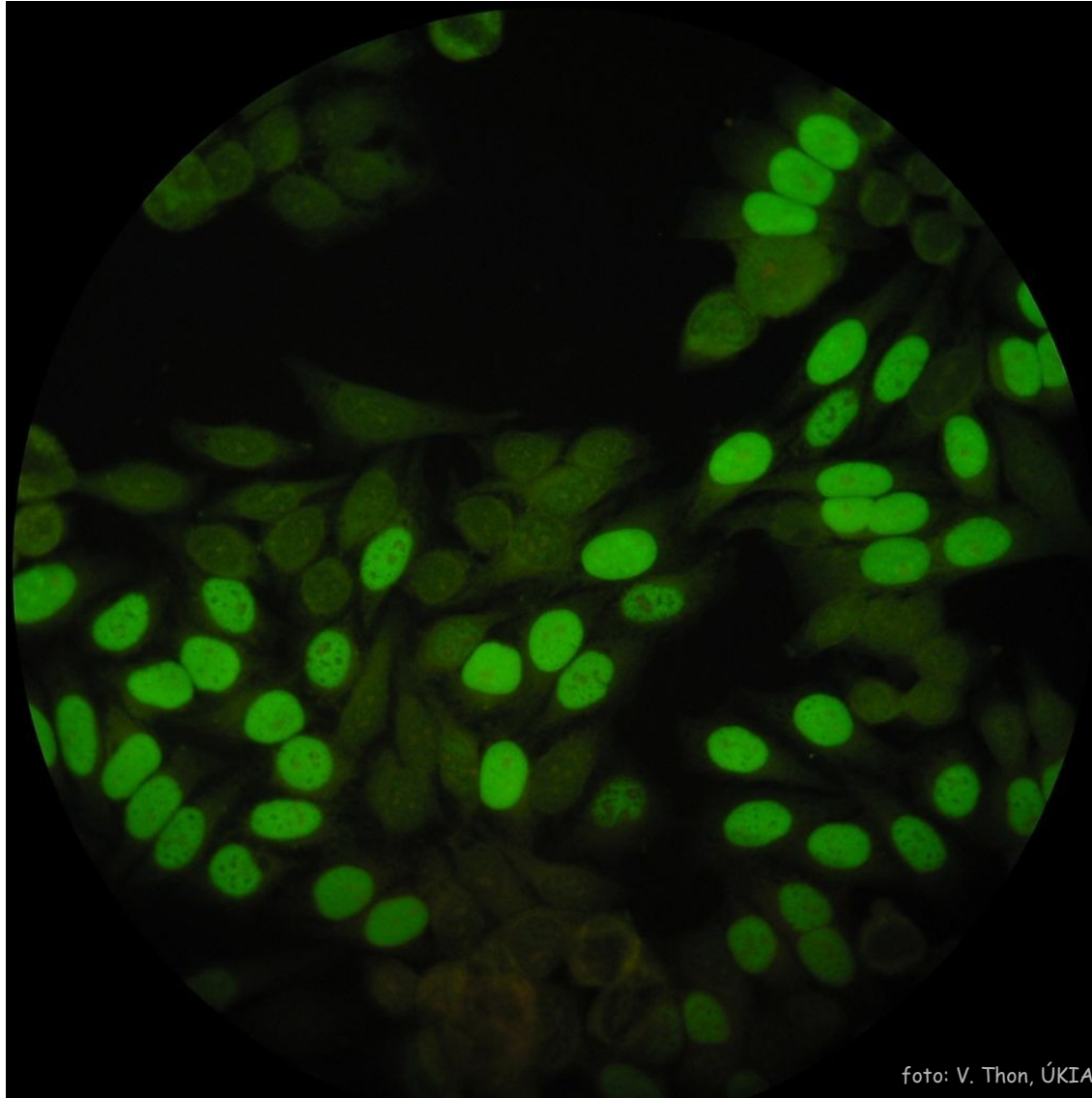


foto: V. Thon, ÚKIA

***Typ: Tečkovitý*** ( 6 a více teček )

**antigen :**

solubilní Sp100 glykoprotein

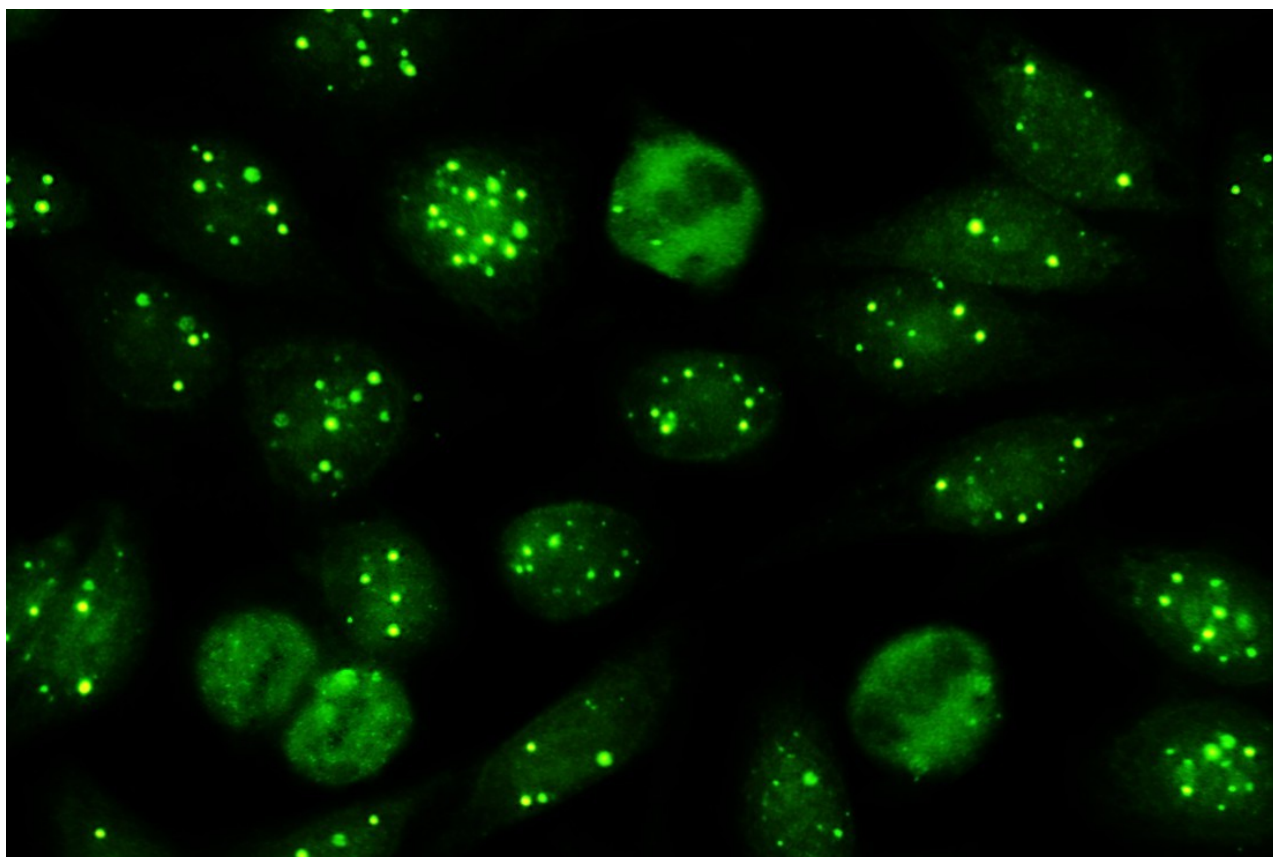
**klinické asociace :**

30% PBC, 3% revmatické choroby

## Fluorescenční obraz na Hep-2

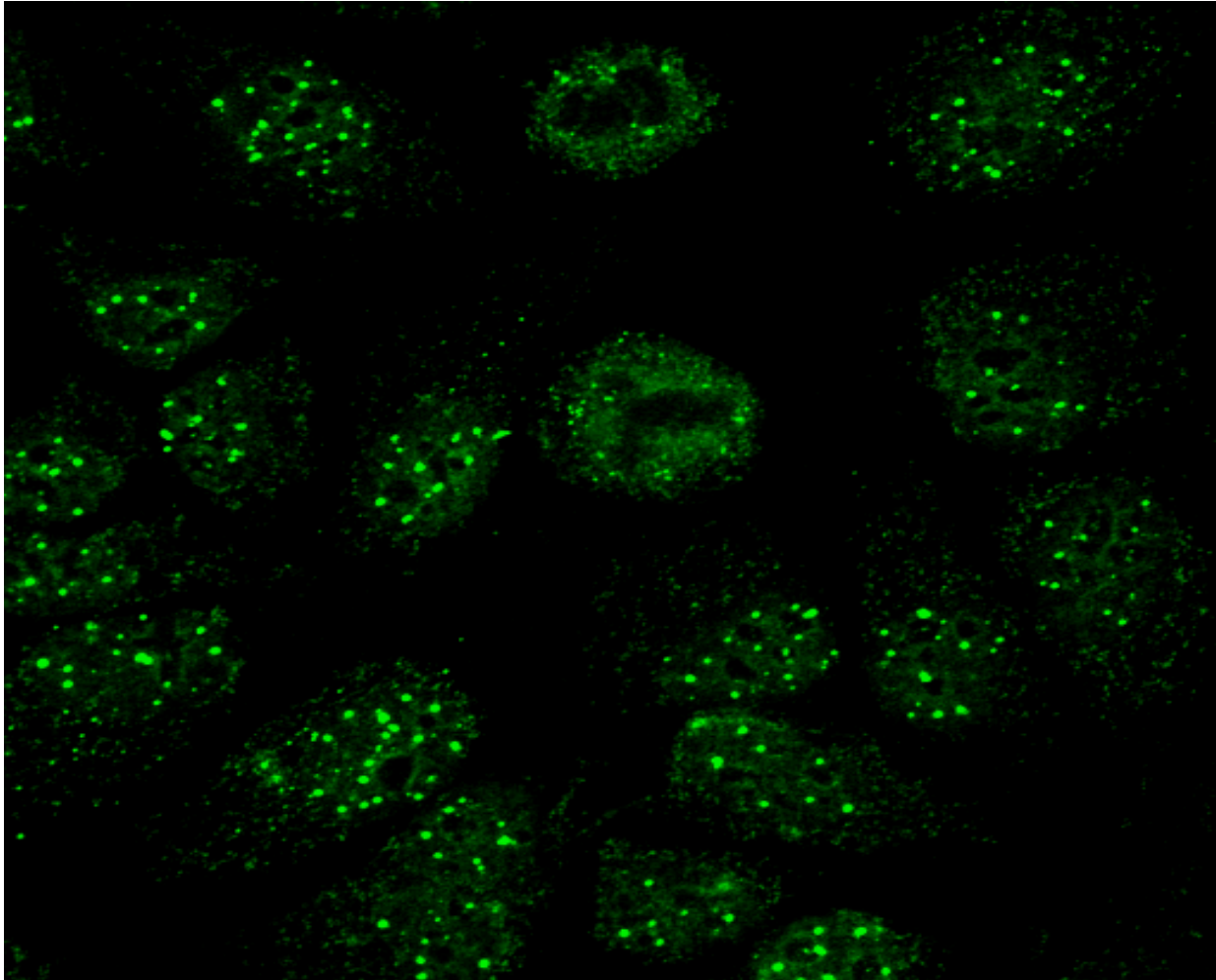
**Nuclear dots - jaderná granula**

**Protein Sp 100**

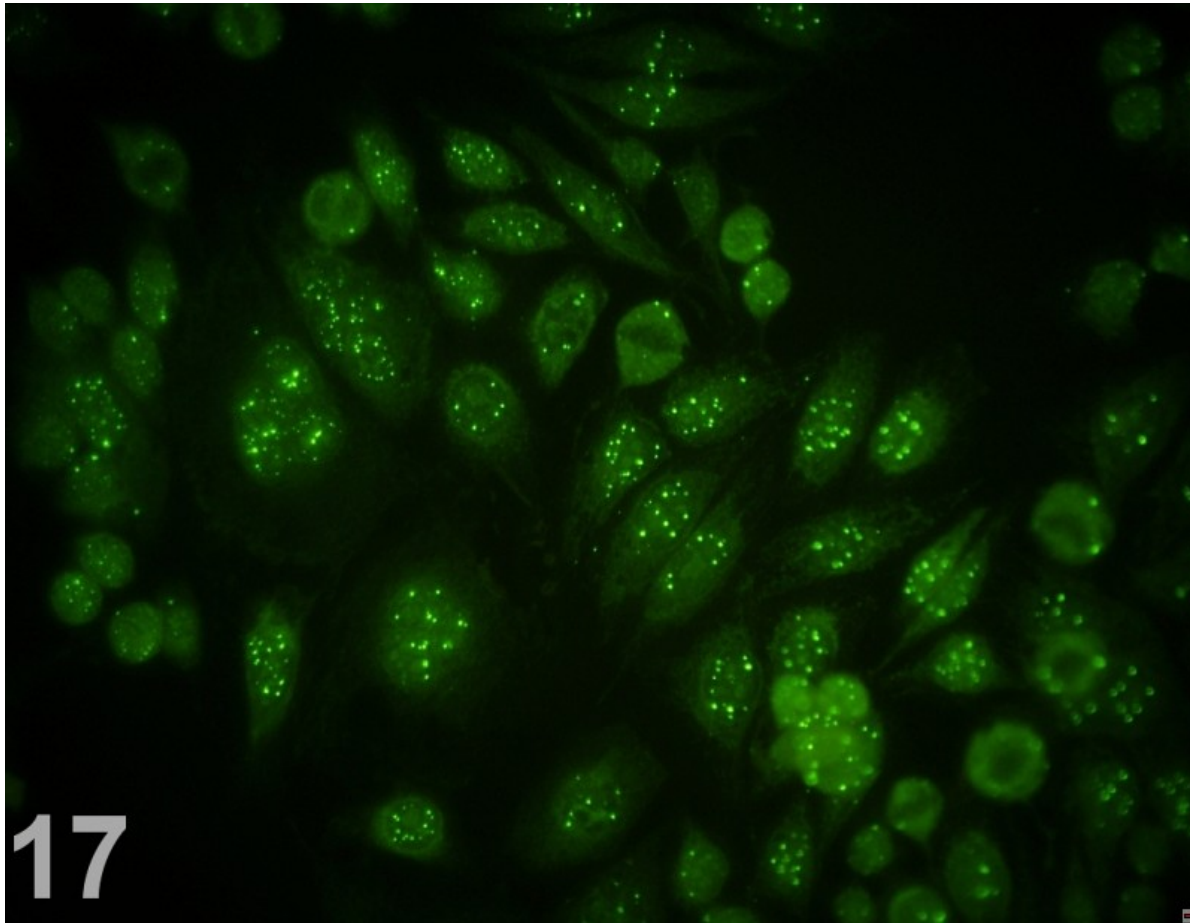




tečkovitý



tečkovitý



***Typ: Ojedinělé tečky*** ( 2-5 teček )

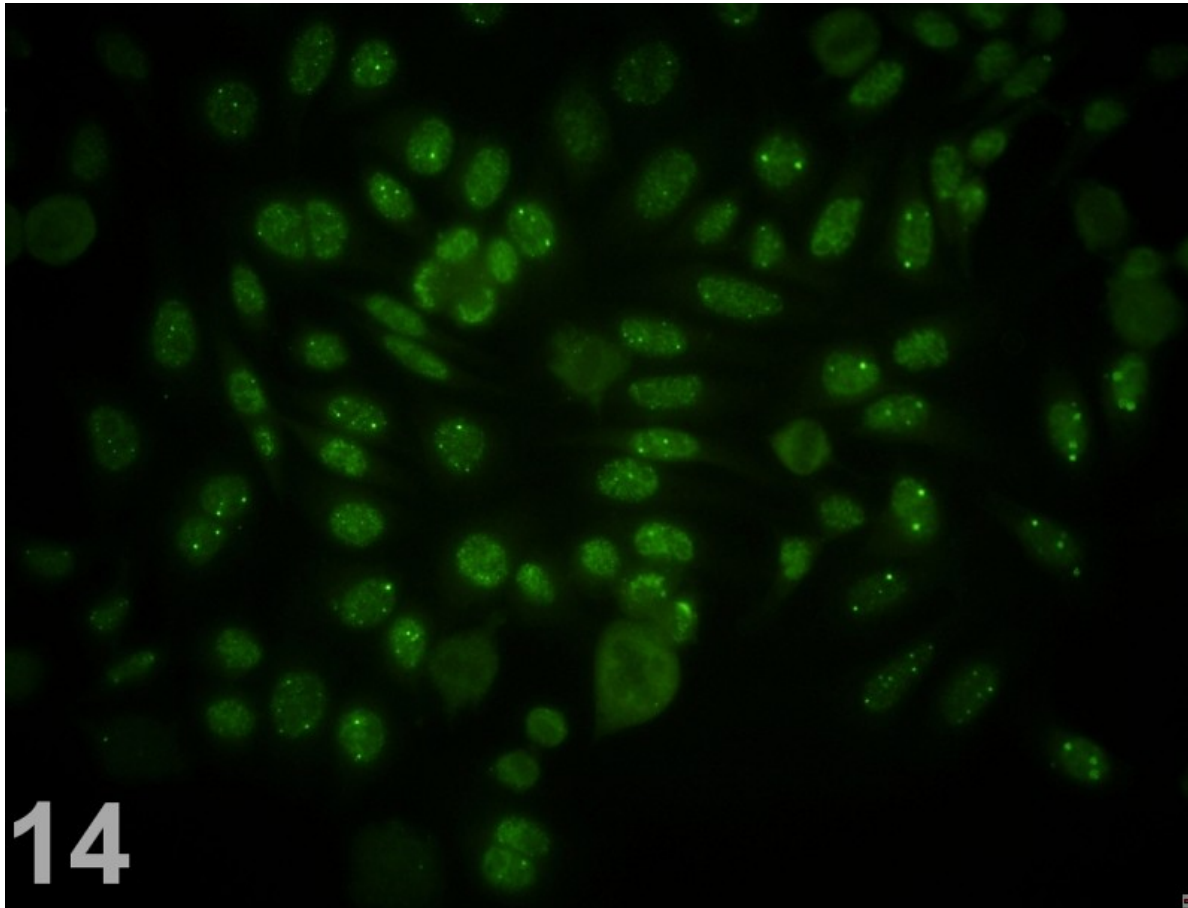
**antigen :**

coilin p-80

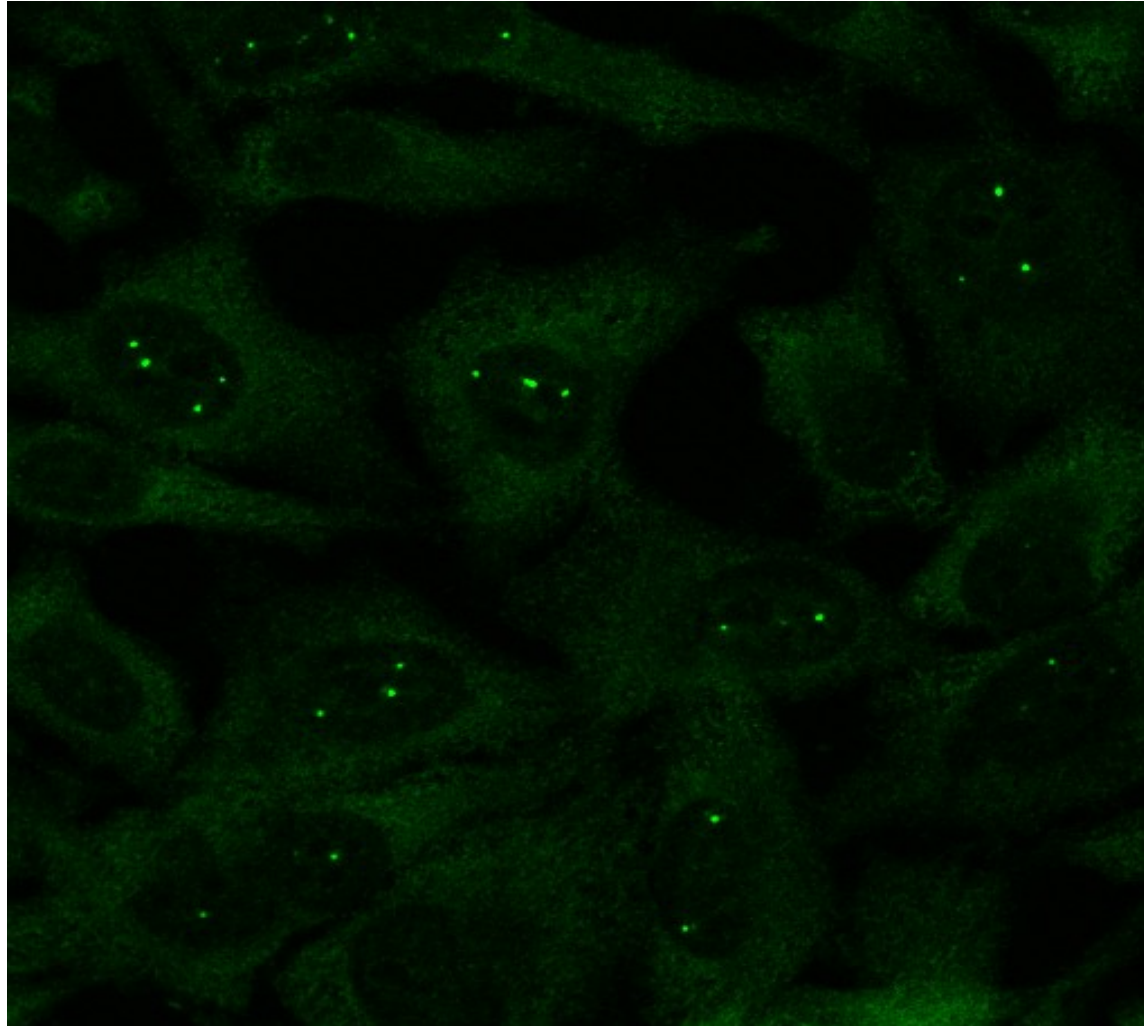
**klinické asociace :**

autoimunitní a virová onemocnění jater  
/ PBC, CAH /

# ojedinělé tečky



# ojedinělé tečky



# ***Typ: Centromerový***

## **antigen**

CENP-A 17kDa

CENP-B 80 kDa

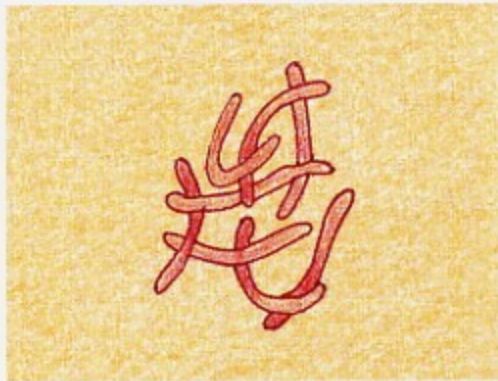
CENP-C 140 kDa

## **klinické asociace**

80-95% CREST sy / limitovaná forma PSS /  
Calcionosis - Raynaudův f. - Esofageální rigidita -  
Sclerodaktylie - Teleangiectasie

## HEp-2 MITOTIC STAGES

① PROPHASE



② METAPHASE

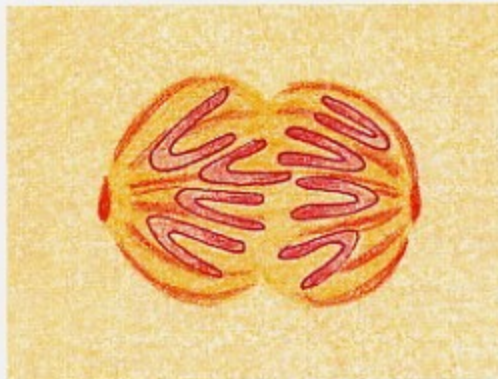


Tubulin

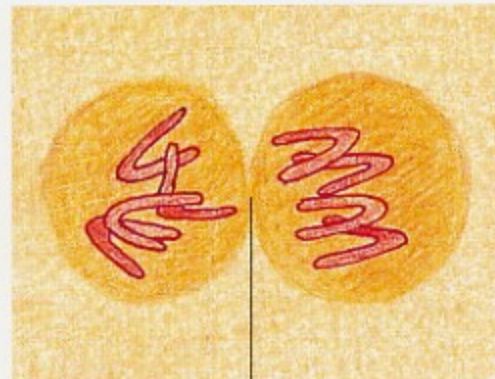
Centromere

Spindle pole

③ ANAPHASE



④ TELOPHASE

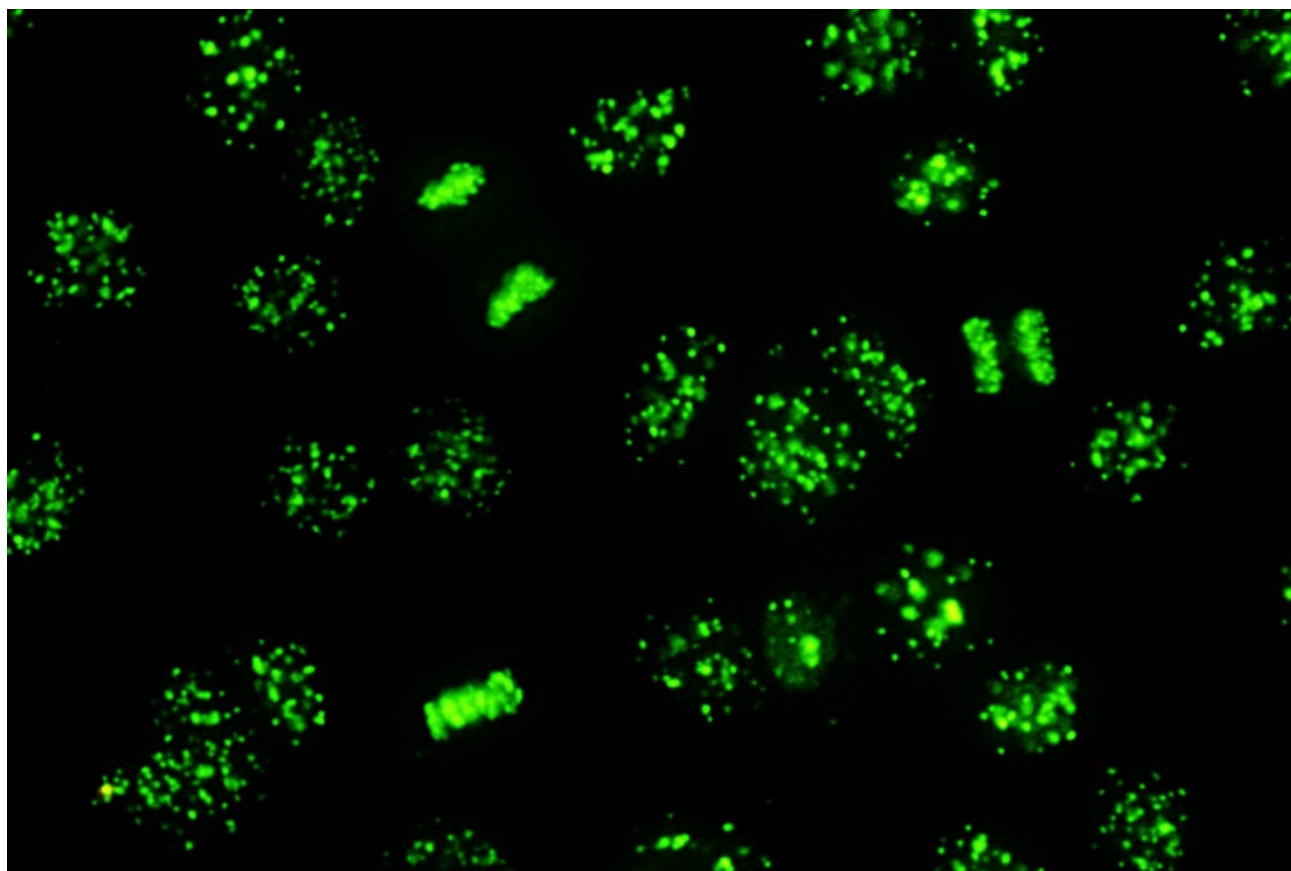


Midbody

# Fluorescenční obraz na Hep-2

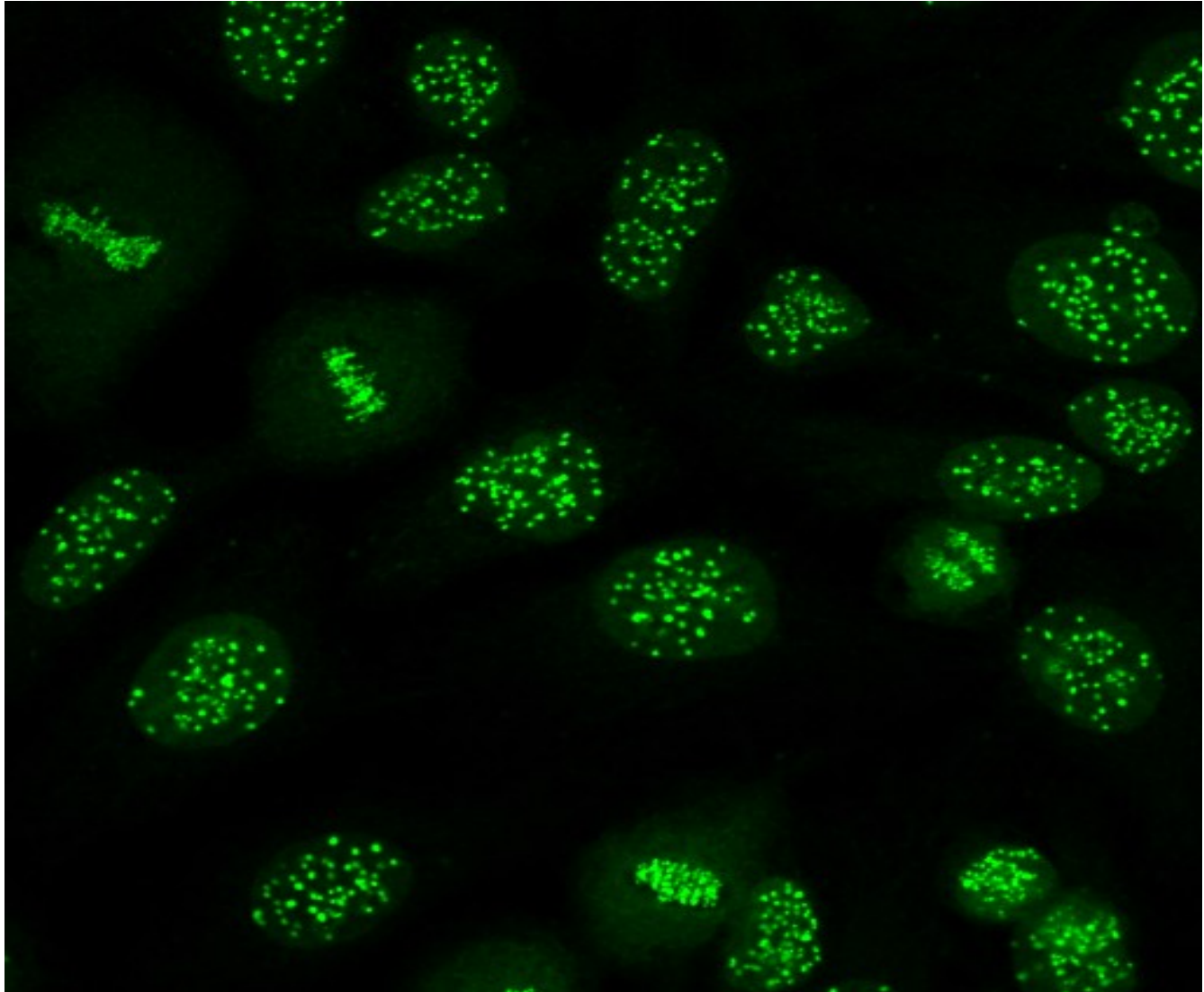
**CENTROMÉRA**

**Proteiny kinetochóru**





# centromerová fluorescenc



# centromerová fluorescenc

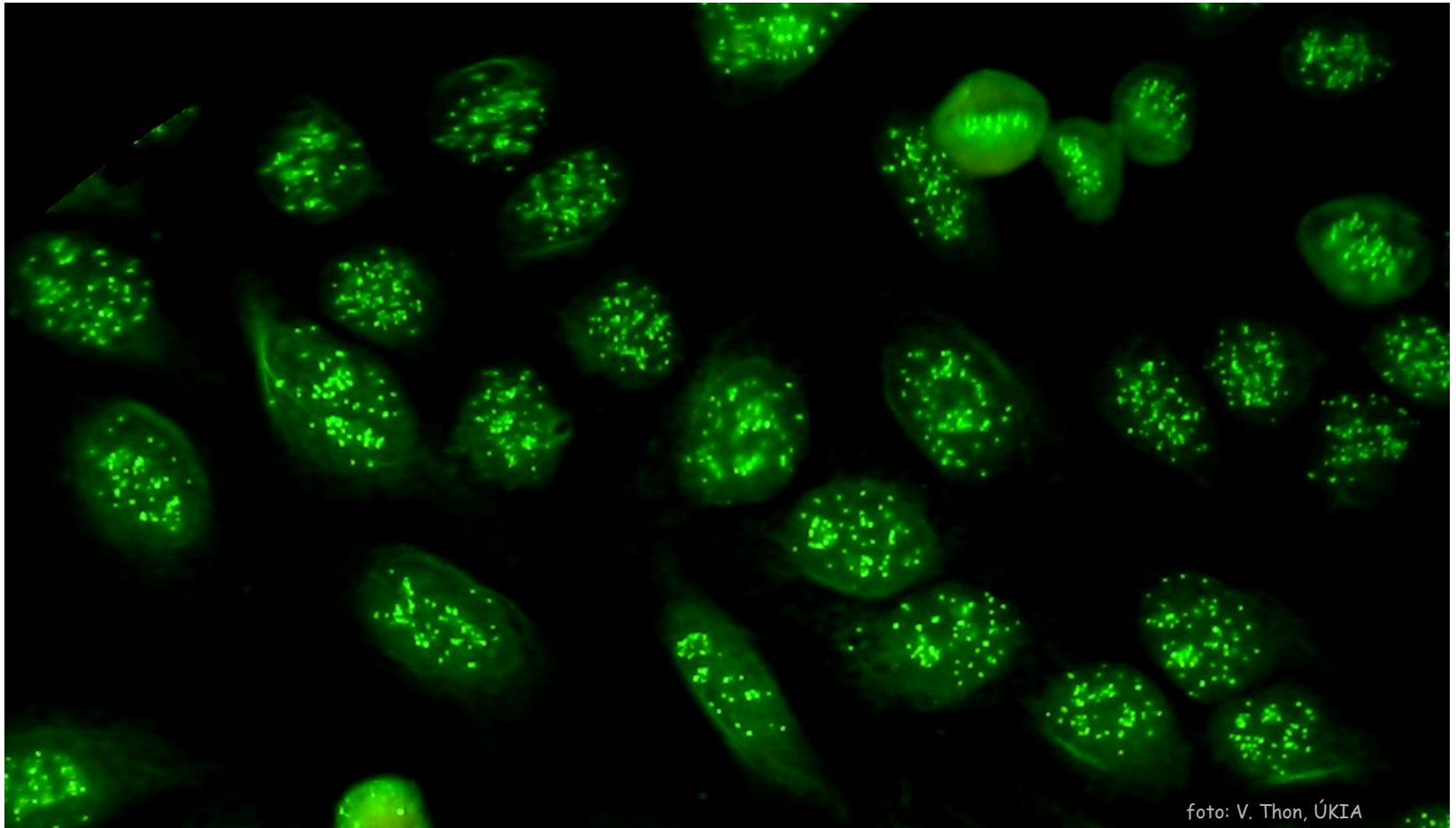
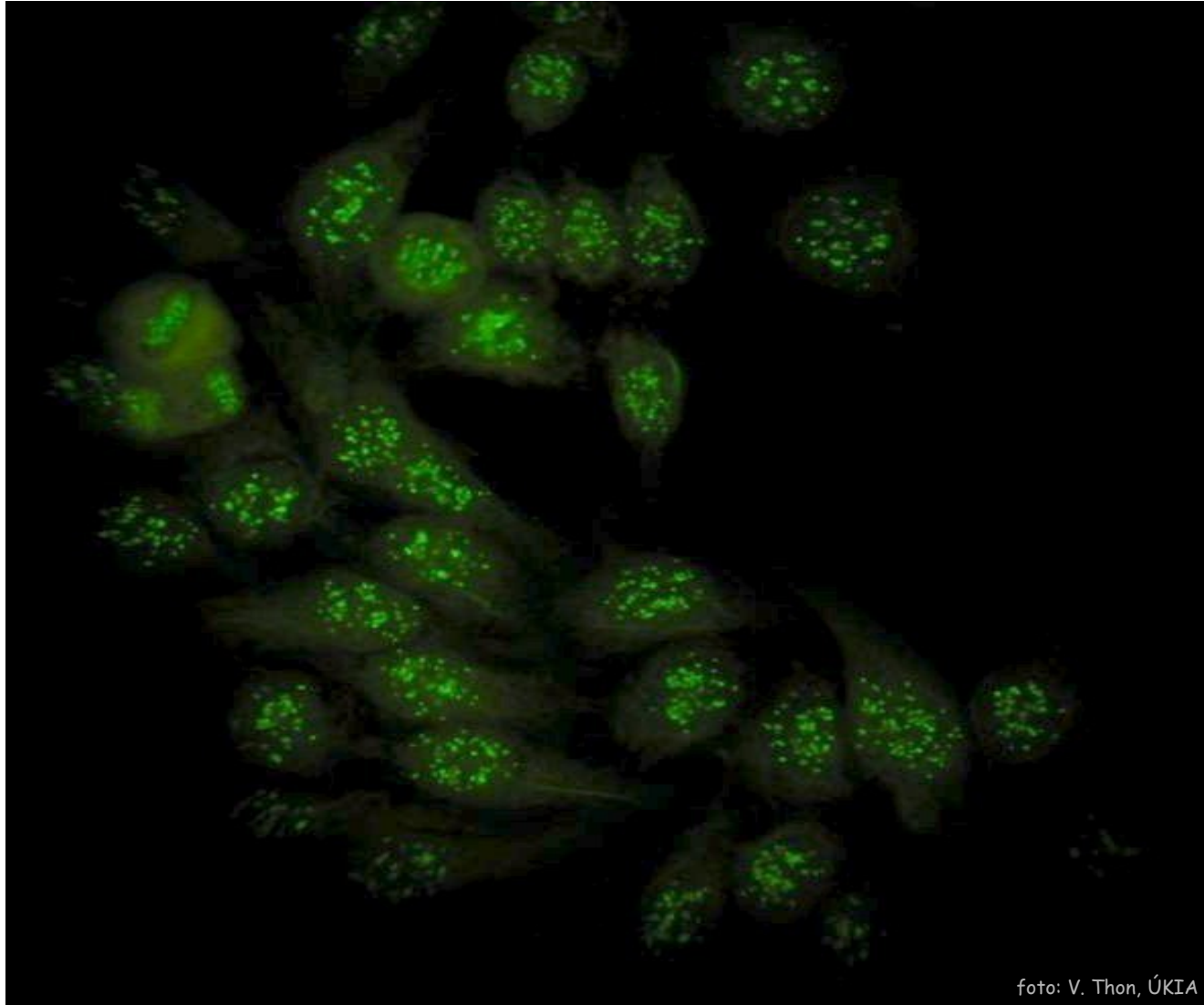


foto: V. Thon, ÚKIA

# centromerová fluorescenc



***Typ: Nukleolární***

**antigen**

antigeny jadérek

**typ Scl-70** ... homogenní obraz s akcentovanými jádérky

antigen: **enzym DNA-topoizomeráza I**

***výskyt pl. u PSS 25-70%***

## **homogenní nukleoly**

antigen: **PM-Scl** / název podle Polymyositis - Sclerodermie /

komplex tvořený 10 nukleolárními Ag, hl. epitop má 30kD

***výskyt pl. u pac. s overlap sy - PM, DM, PSS dif.***

# LÉČBA

- SLE is considered incurable, but highly treatable
- kortikosteroidy, immunosupresiva, analgetika
- lupus nephritis – cyklofosfamid, mykofenolát
- antimalarika – hydroxychlorochin
- od r. 2010 – *Benlysta* – léčba bolesti a prvotních příznaků

## **jemně granulární nukleoly**

antigen: **fibrillarin** / bazický protein, součást U3-RNP /;

***výskyt pl. u PSS v 5-10%***

## **hrubě granulární**

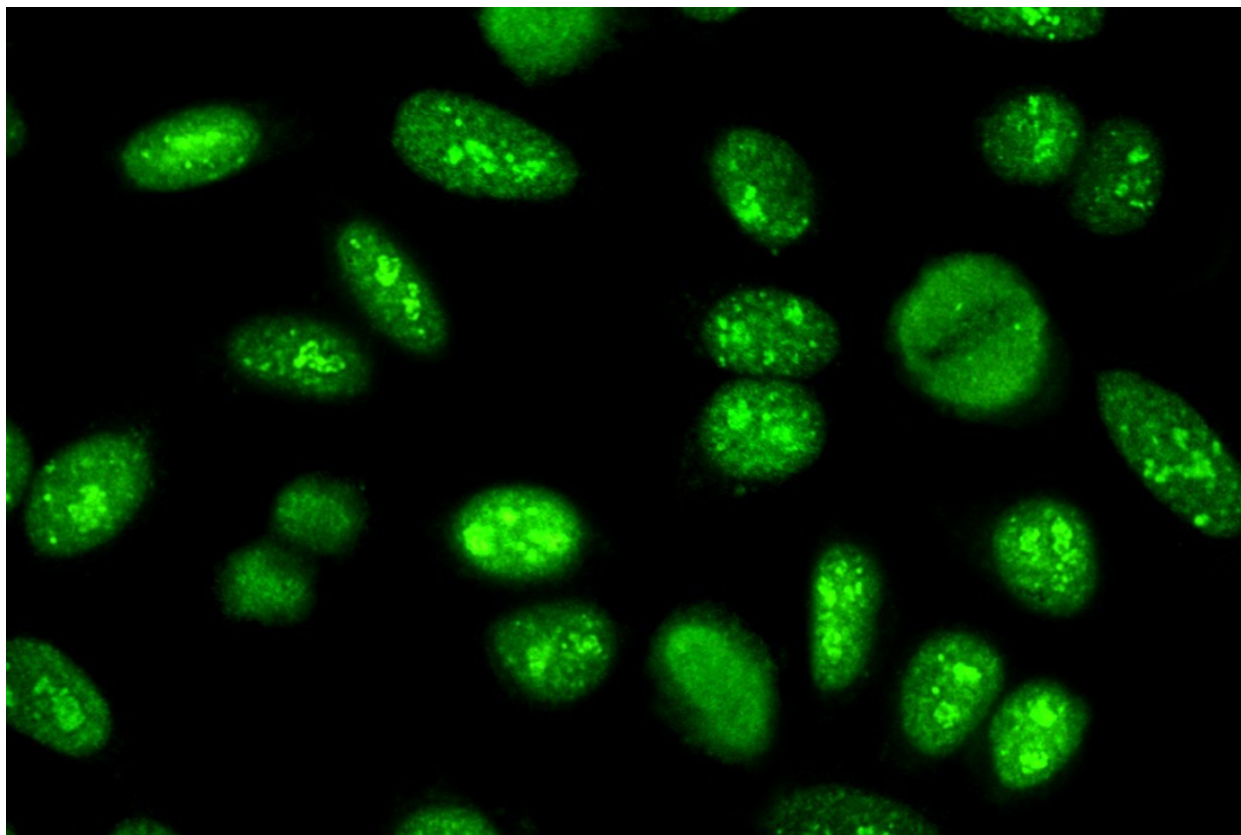
antigen: **RNA polymerasa I** / nukleolární enzym /

***výskyt pl. u PSS 4%***

## Fluorescenční obraz na Hep-2

**JADÉRKA**

U3-nRNP/Fibrilarin, RNA- polymeráza 1, Pm-Scl, 7-2-RNP (To), organizér jadérka





# nukleolární

