

# Základy interpretace výsledků imunologických laboratorních testů

## Vyšetření imunoglobulinů

- **Celkové mn. Ig**

elektroforéza bílkovin jako procentuální zastoupení **gamafrakce**, vyšetřením ke zjištění možného **paraproteinu**.

velmi hrubé vyšetření, odhalení pouze výrazných změn ve smyslu plus nebo minus.

- **Vyšetření hladiny imunoglobulinů třídy IgG, IgA, IgM radiální imunodifuze**, častěji **turbidimetrie** nebo spíše **nefelometrie**.

Referenční „normální“ hladiny se liší podle laboratoře, v níž je měření prováděno.

### Zvýšení hladin Ig můžeme najít:

- Při subakutních a chronických zánětlivých procesech, zejména infekčního nebo revmatického původu.

#### **zvýšení IgA:**

- při zánětech převážně **slizničního charakteru**
- při jaterních cirhózách

## **zvýšení IgG:**

- záněty intersticiální

## **Osamocené zvýšení IgM při normálních hladinách jiných isotypů**

- jako odraz proběhlého nebo subakutního zánětu, je poměrně řídké

## **Izolované zvýšení hladiny jedné třídy Ig:**

- při myelomu,
- monoklonálních gamapatiích
- u pacientů ve vyšších věkových skupinách

## **Snížení hladin jedné nebo více tříd imunoglobulinů může být způsobeno:**

- poruchou tvorby Ig při primárních protilátkových nebo kombinovaných imunodeficitech.
- sekundární poruchou tvorby protilátek, nejčastěji při lymfomech nebo leukémiích
- ztrátami Ig močí, stolicí nebo rozsáhlými plochami vylučujícími Ab

## **Vyšetření hladiny IgD**

nemá s výjimkou podezření na IgD myelomu téměř žádnou diagnostickou hodnotu.

## Hladina IgE

se zjišťuje nejčastěji **ELISA technikami**.

## Zvýšení IgE

- doprovází alergické stavy prvého (atopického) typu přecitlivělosti
- parazitární choroby
- jiné onemocnění (imunodeficitní, autoimunitní a další)

Normální hodnota IgE nevylučuje možnost alergického postižení

## Snížení hladiny IgE

- nemá podle současných znalostí žádnou diagnostickou hodnotu
- Hladiny IgE jsou výrazně závislé na věku

**Hladinu specifického IgE** (tj IgE namířeného proti konkrétnímu alergenu)

**ELISA** nebo **RIA**.

**Vyšetření je indikováno zejména v případech, kdy u pacienta není možno provést kožní testy časné přecitlivělosti**

- při kožním ekzému
- příliš nízkém věku pacienta
- nebezpečí závažné anafylaktické reakce u silně senzibilizovaného pacienta.

# Kvalitativní změny Ig:

velký význam má průkaz **paraproteinu**: Imunoelfo, imunofixace

## **další laboratorních vyšetření:**

- neobjasnitelná vysoká sedimentace erytrocytů pacienta
- vysoká hladina jediné třídy Ig při normálních nebo snížených hladinách ostatních tříd

**Pro stanovení diagnózy myelomu je nutné provést další laboratorní vyšetření:**

## **Sternální punkce:**

- nachází se zvýšený počet plazmatických buněk, často abnormální morfologie (myelomové buňky)
- imunologické vyšetření většinou prokazuje zvýšenou hladinu té třídy Ig, v níž je přítomen paraprotein, zatímco u jiných tříd nacházíme **imunoparézu** – snížení hladin dané útlakem kostní dřeně
- v krvi je přítomna anémie, někdy i leukopenie a trombocytopenie
- v séru můžeme nalézt hyperkalcémii
- zvýšenou hladinu beta – 2 mikroglobulinu
- na RTG skeletu, zejm. plochých kostí nacházíme ostře ohraničená osteolytická ložiska.

# Kryoglobuliny

Schopnost srážení při teplotách nižších než je teplota těla klinicky němé nebo **závažné klinické obtíže**:

- poškození funkce ledvin
- vaskulitida
- chladová kopřivka

Kryoglobulinémie často doprovázejí **další imunopatologické stavy**:

- paraproteinémie
- autoimunitní choroby
- chronická hepatitida C

Při vyšetření přítomnosti kryoglobulinu je nutno zajistit takový transport krve, aby teplota neklesla pod 37°C

## Proteiny „akutní fáze“

Nejčastější vyšetření: **hladina (CRP) fyziol. hladina velmi nízká** (pod 10mg/l), při zánětech stoupá až do hodnot stovek mg/l

**zjišťování hladin jiných proteinů a.f.:**

**alfa – 1 – antitripsinu, orosomukoidu, ceruloplasminu, sérového amyloidu A a dalších** - menší význam.

**jednoduchá radiální difuze, turbidimetrie nebo nefelometrie**

## Hladinu CRP více zvyšují

záněty bakteriální než virové. Se zvýšením CRP se setkáváme i při

- záněty neinfekčního charakteru
- při infarktu myokardu
- v pooperačním období
- U revmatických chorob: např. v akutní fázi revmatoidní artritidy jsou vždy hladiny CRP výrazně zvýšeny, na druhé straně u **systemový lupus erythematodes** nacházíme pouze minimální zvýšení CRP.

**snížení hladin těchto složek může vést k různým chorobám.**

Nejznámější je deficit **alfa – 1 – antitripsinu**

- vede ke vzniku plicního emfyzému
- k postižení jater

Nízkou hladinu **ceruloplasminu** nacházíme u **Wilsonovy choroby** projevující se jaterními a neurologickými příznaky způsobenými depozicí mědi v tkáních.

# Vyšetření komplementového systému

## Zvýšení hladin jednotlivých složek k. systému (C3 a C4)

Může být odrazem zánětlivé aktivity

## Snížení hladin složek

- vrozenou poruchou tvorby jednotlivých složek (např. u C4 jsou heterozygotní deficity velmi časté)
- zvýšenou spotřebou k.s. při aktivaci komplexu Ag-Ab (záněty, akutní stádium systémových imunokomplexových vaskulitid)

Vyšetření složek: **jednoduchá radiální imunodifuze, turbidimetrie a nefelometrie.**

podezření na defekt některé složky klasické cesty aktivace k.s.

### **test CH50**

podezření na defekt alternativní složky **test AH50**

podezření na **hereditární angioedém**

(vrozený nebo získaný deficit inhibitoru C1 složky komplementu- C1- INH)

- se vyšetřuje koncentrace C1 – INH v séru
- funkční test aktivity tohoto inhibitoru.

# Vyšetření autoantiláték

- Průkaz přítomnosti autoantiláték má velmi vysokou hodnotu při diagnostice autoimunitních chorob

- v současné době se jedná o jistě stovky různých popsaných autoantiláték, které je možno vyšetřovat

- přesto bývá sortiment vyšetřovaných protilátek prováděný většinou laboratoří úzký

## Důvody:

- obtížnost průkazu některých autoantiláték

- nízká výpovědní hodnota prokázané autoantilátky

- některé autoantilátky mohou mít velkou diagnostickou hodnotu, přesto nejsou příčinou vzniku konkrétního autoimunitního onemocnění

- mnohé autoimunitní choroby jsou totiž způsobeny autoreaktivními T – lymfocyty (jež je velmi těžké prokázat) a přítomnost autoantiláték bývá pouze doprovázejícím **epifenomémem**

Např. u **Hashimovy tyreoiditidy**

- nacházíme při laboratorním vyšetření protilátky proti tyreoglobulinu nebo mikrozomům štítné žlázy.



## Revmatoidní faktor

je autoprotilátka namířená proti konstantní části molekuly IgG.

- prokazován nepřímou aglutinací (latex-fixační test) nebo ELISA metodikami.
- Je diagnostickým znakem ukazujícím na onemocnění revmatoidní artritidou. (Asi 20% nemocných s klinicky zřejmou revmatoidní artritidou nemá s revmatoidním faktor prokazatelný; pak se mluví o séronegativní revmatoidní artritidě).
- **Další revmatické choroby:**
- systémový lupus erythematoses, Sjögrenův syndrom
- **jiná onemocnění:**
- chronické hepatitidy, subakutní bakteriální endokarditidy a další.
- S nízkými titry revmatoidního faktoru se můžeme setkat u starších osob, ačkoli tito lidé netrpí žádnou z uvedených chorob.

# Antinukleární protilátky (ANA, starší název ANF)

- nepřímá imunofluorescence
- Substrát pro vyšetření:
- buňky tkáňových linií, řezy živočišnými tkáněmi (kryší játra).

## Nález antinukleárních protilátek je důležitý diagnostický test

- systémový lupus erythematoses (SLE),
- u nemocných s některými jinými revmatickými chorobami (revmatoidní artritida, sklerodermie, Sjögrenův syndrom),
- pacientů s chronickou autoimunitní hepatitidou atd
- u zdravých, zejména starších lidí - nízké titry ANA

## Podle obrazu při imunofluorescenci můžeme odlišit několik typů antinukleárních Ab

- homogenní, granulovaný, periferní a nukleolární
- jednotlivé typy mají vazbu k určitým chorobám. Je též možno blíže specifikovat, proti kterým Ag jádra jsou protilátky namířeny :
- proti dvouvláknové (nativní) DNA,
- Histonům

Tato bližší specifikace ANA opět umožňuje přesnější stanovení diagnózy.

**Antimitochondriální Ab** jsou ukazatelem primární biliární cirhózy

- nepřímá imunofluorescence na řezech zvířecími ledvinami, jejich přítomnost se projeví fluorescencí ledvinných kanálků.

## **Protilátky proti antigenům štítné žlázy**

proti tyreoglobulinu a mikrozomální peroxidáze u nemocných s Hashimotovou tyreoiditidou, méně často u jiných postižení štítné žlázy vazbou na receptory pro TSH (tyreotropní hormon) je příčinou Graves- Basedowovy choroby - **RIA testy**.

## **Protilátky proti hladkému svalstvu**

- u nemocných s chronickou autoimunitní hepatitidou,
- při akutních hepatitidách
- u zdravých lidí

**Protilátky proti bazální membráně glomerulů** glomerulonefritida, zejména rychle progredující forma.

## **Protilátky proti acetylcholinovému receptoru neuromuskulární ploténky** myastenia gravis

- Jejich průkaz je obtížný - metodiky RIA.
- Pro stanovení diagnózy m.g. není jejich průkaz většinou nutný.

# Protilátky proti cytoplasmě granulocytů (ANCA)

- diagnostickým znakem pro Wegenerovu granulomatózu
- Typy ANCA
  - c – ANCA (cytoplazmatická ANCA, protilátky proti granulocytární proteináze 3), nález je pro Wegenerovu granulomatózu poměrně specifický
  - p – ANCA (perinukleární ANCA, protilátky proti leukocytární myeloperoxidáze)
- vyskytují se:
  - u rychle progredující glomerulonefritidy
  - u některých typů systémových vaskulitid (polyarteritid nodosa, Churgův – Straussův syndrom)
- x- ANCA, která bývá pozitivní u nemocných s colitis ulcerosa

## Ab proti retikulinu a endomysiu hladkého svalstva

u nemocných s celiakií

s kožní chorobou dermatitis herpetiformis (Dühring)

Při těchto onemocnění má význam i stanovení třídy, v níž je uvedena autoprotilátka

IgA svědčí o aktivitě zmíněných chorob.

V období remise autoprotilátka AgA postupně mizí, IgG autoprotilátka přetrvávají, někdy až celý život.

Obdobný diagnostický význam má i vyšetření Ab **proti gliadinu**, což je jedna z frakcí bílkoviny obilných zrn – lepku (glutenu)

**Ab proti erytrocytům** se vyšetřují **přímým a nepřímým Coombsovým testem**, indikací je podezření na hemolytickou anémii

• **Další vyšetření:**

• **chladové aglutininy a chladové hemolyziny**, jež vyvolávají aglutinaci a hemolýzu v závislosti na teplotě, při níž reakce probíhá.

**Antitrombocytární Ab**

• u některých nemocných s autoimunitní idiopatickou trombocytopenickou purpurou

**Protilátky proti granulocytům**

autoimunitní granulocytopenie

**Vyšetření:** provádí se na hematologických nebo transfúzních odděleních.

**protilátky proti parietálním buňkám žaludku**

u atrofické gastritidy a perniciózní anemie

**protilátky proti beta buňkám pankreatu**

u diabetes mellitus, inzulin – dependentní diabetes, DM-1 není ve srovnání s metodikami biochemickými diagnosticky příliš přínosné.

**protilátky proti nadledvinkám**

u autoimunitní adrenalitydy

**příčně pruhovanému svalstvu** a mnoha dalším tkáním nebo orgánům.

Klinický přínos těchto vyšetření je v současné době omezený, stále však probíhá intenzivní výzkum, snažící se nalézt diagnosticky cenné autoprottilátky,

**význam:**

- pomohly by v laboratorní diagnostice autoimunitních chorob,
- stanovily by pravděpodobnou závažnost postižení, prognózu či pravděpodobnou odpověď na léčbu.

# Vyšetření cirkulujících IK

Má většinou význam pouze při monitorování zánětlivého procesu

## **zvýšení**

- v subakutním,
- chronickém
- rekonvalescentním stadiu různých zánětlivých procesů

## **Omezený význam** pro diagnózu IK chorob

u nemocných s těmito chorobami je možno nalézt poměrně často normální hladiny IK

- Pro diagnózu IK postižení mnohem důležitější průkaz deponovaných IK v postižených tkáních - **přímá imunofluorescence**

# Buněčná imunologická vyšetření

## Vyšetření subpopulací lymfocytů

### Pokles jedné nebo více lymfocytárních subpopulací

- má význam:
  - při diagnostice nemocných s podezřením na primární nebo sekundární imunodeficity
  - Provádí se: imunofenotypizace leukémií a lymfomů – tj exprese různých antigenů na maligních buňkách - můžeme určit z jaké vývojové linie a z jakého vývojového stupně maligní buňky pocházejí

### Nejčastěji vyšetřované lymfocytární subpopulace při im.vyšetření

• CD3	T-lymfocyty	60-80%
• CD4	Th – pomocné buňky	35 – 60%
• CD8	Tc – cytotoxické	15 – 35%
• CD19	B-lymfocyty	10 – 20%
• CD16	NK-buňky	8 – 18%

### Vyšetření funkčních vlastností lymfocytů

- má klinický význam pouze při diagnostice závažných imunodeficitních stavů

### vyšetření fagocytárních schopností polymorfonukleárních granulocytů

u pacientů s podezřením na defekt fagocytárních funkcí, zejména primární.