

Ad informandum

Informační občasník laboratoře Interimun Pardubice

PROSINEC / 2010



V tomto čísle naleznete:

Renesance gliadinu v diagnostice celiakie

KVÍZ: Poznáte, co tady svítí?

**O Popelce
Lektinová cesta aktivace komplementu**

Kalprotektin – chcete mě?

Vánoční inspirace z kuchyně M. D. Rettigové

V době adventní

Úvodní slovo MUDr. Tomáše Sýkory:

V době adventní, tedy době rozjímání, zklidnění a očekávání příchodu toho pravého světla si vám dovoluujeme předložit takové malé světýlko do nelehkého života takové malé světýlko do nelehkého života takové malé světýlko do nelehkého života klinika. Byli bychom rádi, kdyby náš nápad, vám čas od času předat občasník laboratoře Interimun „Ad informandum“ byl drobným světélkem vašich všedních pracovních dnů.

Jsme si vědomi časové náročnosti vaší práce i vašeho každodenního vypětí při práci s pacienty i záplavy pošty a nejrůznějších předpisů, kterými jste každodenně zavalováni. Již vás slyším, „zase další papír, zase další leták, těch mám denně plný koš.“ S myšlenkou „Občasníku“ se zabýváme již dlouho, ale měli jsme obavu, abychom nevytvořili něco pro koš nebo skartovačku. Nyní jsme se odvážili. Je advent, který by měl přinášet klid do našich duší, člověk je předsvátečně naladěný, smířlivější – tak se snad vloudíme s touto tiskovinkou k vaší myšli.

Proč jsme se tak rozhodli? Chtěli bychom vás ve velmi stručné formě seznamovat s novinkami v naší odbornosti, které by se daly aplikovat do praxe. Podělit se o některé odborné informace, které nás zaujaly. Zejména bychom se ale chtěli dopracovat méně formální komunikace mezi naší laboratoří a vámi - konzumenty jejich výsledků. Proto budeme informace odborné „prošpikovávat“ i těmi ze života a připomínat zázraky a krásy, okolo kterých denně mnohdy bez povšimnutí a s pocitem samozřejmosti chodíme. Jistě se budeme těšit na vaše náměty, postřehy...

Takže otevíráte první číslo a – přejeme krásné klidné Vánoce, zdraví, spokojenost a štěstí do roku 2011.

MUDr. Tomáš Sýkora



Získali jsme Osvědčení o Auditu II NASKL

Proces zvyšování kvality práce v laboratoři je našim trvalým odborným zájmem. V této oblasti jsou zejména sledována obecná odborná kritéria (personální zajištění, přístrojové a prostorové vybavení a mnoho dalších ukazatelů) a dále specifické ukazatele týkající se jednotlivých laboratorních vyšetření (vnitřní a vnější systém kontroly kvality, systém validace a verifikace metod aj.). Systém zvyšování kvality laboratorní práce je průběžně kontrolován formou auditů nezávislými institucemi (autoritami). S ohledem na specifické rysy naší činnosti jsme zvolili instituci Národní autorizační středisko pro klinické laboratoře při ČLS JEP (NASKL). Po absolvování Auditu I v roce 2008 jsme v září 2010 úspěšně splnili kritéria NASKL pro Audit II. Stali jsme se tak v České republice vůbec první klinickou laboratoří, která Osvědčení o Auditu II v rámci imunologické a alergologické laboratorní odbornosti získala.

prof. RNDr. Jan Krejsek, CSc.

Laboratoř Interimun Pardubice je napojena na systém IZIP

Výsledky našich laboratorních vyšetření od září 2010 nově odesíláme v elektronické podobě do databáze IZIP. Budou tedy dostupné v elektronické zdravotní knižce pacientů, kteří jsou v tomto systému registrováni. Výsledky slouží pro informaci, nemají charakter zdravotnické dokumentace.

Máte zájem o zaslání našich výsledků elektronickou cestou?

Kontaktujte nás na tel. číslo naší laboratoře 466 644 000.

Výsledky v elektronické podobě zasíláme zabezpečeným systémem MISE firmy STAPRO s.r.o.

Změny v laboratorních metodách

Protilátky proti gliadinu znovu dobývají ztracené pozice v diagnostice celiakie

Stanovení protilátek proti gliadinu představovalo historicky první a řadu let zásadní sérologický test v diagnostice celiakie. Test byl postaven na technice ELISA, jako antigen používal nativní gliadin, získaný extrakcí z obilného glutenu. Nativní gliadin byl složen z těžko standardizovatelné směsi proteinů a obsahoval celou řadu více či méně specifických antigenních epitopů. Vypovídací hodnota testu proto nebyla z dnešního pohledu příliš uspokojivá. Častý byl pozitivní nálezy protilátek, především ve třídě IgG, i u osob bez celiakie. V historii sérologické diagnostiky celiakie se krátce po zavedení protilátek proti gliadinu začal používat také imunofluorescenční průkaz protilátek proti retikulínu. Měl vyšší specifitu pro celiakii, ale nebyl příliš citlivý.

Význam obou těchto testů proto poklesl s objevem protilátek proti endomysiu (EMA, ve třídě IgA), které se vyznačují daleko vyšší (téměř 100 %) specifitou pro celiakii a současně vysokou citlivostí. Později byl objeven cílový antigen protilátek proti endomysiu (i retikulínu), enzym tkáňová transglutamináza (tTG), a protilátky proti tomuto enzymu se začaly vyšetřovat testem ELISA. Obě tato vyšetření jsou součástí dnešní běžné praxe (viz. schéma).

Stanovení celkového IgA

IgA v normě:

anti-tTG ve třídě IgA
a/nebo
EMA ve třídě IgA

IgA pod 0,05 g/l:

anti-tTG ve třídě IgG
a případně i
EMA ve třídě IgG

Imunofluorescenční vyšetření protilátek proti endomysiu hodnocené zkušeným pracovníkem má statut konfirmačního testu. Detekuje protilátky proti diagnosticky významným konformačním epitopům. Test ELISA lze s výhodou použít u velkých sérií vyšetření, výsledky vyjadřuje kvantitativně, a je proto vhodný pro monitorování pacientů s bezlepkovou dietou.

V poslední době se však na scénu vrací i vyšetření protilátek proti gliadinu. A to v nové modifikaci obsahující synteticky připravené deamidované gliadinové peptidy. Byly připraveny na základě identifikace imuno-

dominantních epitopů gliadinu, vysoce specifických pro celiakii. K deamidaci glutaminových zbytků gliadinu dochází i v organismu, a to právě působením tkáňové transglutaminázy. Vzniká kyselina glutamová, peptidy díky ní získají záporný náboj, a pak se snadno váží na molekuly HLA (typu DQ2 a DQ8). Jsou prezentovány lymfocytům a podněcují imunitní odpověď organismu.

Stanovení protilátek proti deamidovanému gliadinu je vhodné u dětí do 5ti let věku, kdy u části z nich protilátky proti transglutamináze a endomysiu ještě nejsou přítomny.

Kombinace vyšetření IgA proti transglutamináze a IgG proti deamidovanému gliadinu podle řady klinických studií představuje ekonomickou a zároveň maximálně klinicky přínosnou kombinaci screeningových testů celiakie. Vyšetření IgG proti deamidovanému gliadinu zde slouží k pokrytí pacientů s případným deficitem IgA, bez nutnosti stanovení celkového IgA. Protilátky proti deamidovanému gliadinu ve třídě IgG jsou pro tento účel vhodnější než protilátky proti transglutamináze, které bývají ve třídě IgG často falešně pozitivní.

Vysoká vypovídací hodnota současných sérologických testů vede k úvahám o navýšení jejich významu v diagnostickém algoritmu celiakie. Dle posledního sjezdu společnosti ESPGHAN (European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition), který se konal v Izraeli v květnu letošního roku, se v tomto smyslu chystá revize doporučeného postupu, jehož současná platná verze je z roku 1990.

PharmDr. Jana Havlasová, Ph.D.

Zpracováno dle monografie Shoenfeld, Y., Gershwin, M.E., Meroni, P.L.: *Autoantibodies*, Second edition, Elsevier 2007.

Pozn.: K 1. 1. 2011 bude v naší laboratoři dosavadní stanovení protilátek proti směsnému extraktu gliadinu nahrazeno testem nové generace s deamidovanými gliadinovými peptidy. Test bude vykazován s původním kódem výkonu, zůstává tedy i stávající bodové ohodnocení.

Změny v laboratorních metodách

Protilátky proti IgA opět vyšetřujeme v laboratoři Interimun

Někteří z vás pravděpodobně zaznamenali, že jsme v minulém období vzorky na vyšetření protilátek proti IgA přeposílali do brněnské laboratoře ÚKIA FN u Sv. Anny. Bylo to na základě doporučení odborné společnosti ČSAKI centralizovat toto vyšetření v laboratoři, která měla k dispozici vlastní ELISA test, odpovídající maximálně současným znalostem a potřebám. Nyní je tento test dostupný ve standardní výrobce validované podobě, odpadá tak složitý transport vzorků v rámci republiky.

Test je postaven na stanovení protilátek třídy IgG. Vyšetření se provádí ze séra

nebo plazmy. Výsledky jsou vyjádřeny kvantitativně v U/ml, s hranicí positivity 12,5 U/ml. Všechny vzorky s nálezem nad hranicí positivity jsou v dalším kroku prověřeny v inhibičním testu, který vyloučí možnost falešné positivity.

Protilátky třídy IgG proti IgA mohou vyvolat závažnou anafylaktoidní reakci po podání krve a krevních derivátů obsahujících IgA. Vyskytují se u části IgA deficitních pacientů, tedy pacientů s koncentrací IgA menší než 0,05 g/l. Jedná se o pacienty se selektivním deficitem IgA, který je v populaci relativně častý (1:400) a může zůstat neodhalen. Další skupinou

jsou pacienti s běžným variabilním imunodeficitem (CVID). Pravděpodobnost závažné reakce roste s koncentrací anti-IgA protilátek.

Test je vhodné provést u pacientů s deficitem IgA před podáním krve a krevních derivátů, např. před zahájením intravenózní imunoglobulinové léčby. Jestliže se testuje po proběhlé anafylaktoidní reakci, pak je nutné provést odběr s odstupem nejméně 10 dní.

PharmDr. Jana Havlasová, Ph.D.

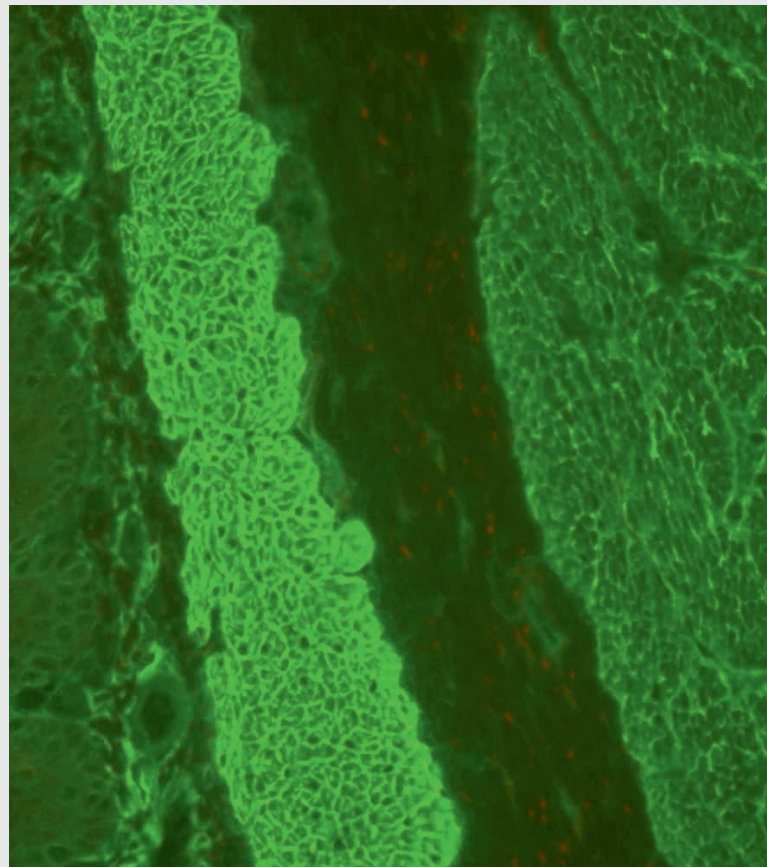
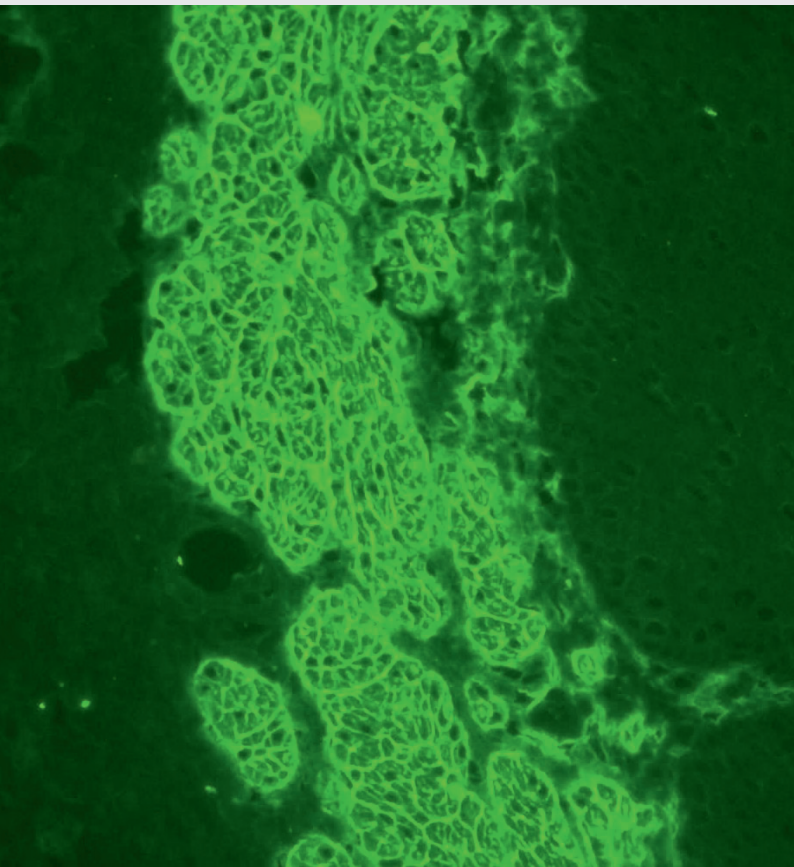
Kvíz

Na obou fotografiích preparátu vidíte na řezu z opičího jícnu výsledek imunofluorescenčního stanovení autoprotilátek třídy IgA.

Imunofluorescenční nález odpovídá:

1. přítomnosti autoprotilátek proti endomysiu
2. přítomnosti autoprotilátek proti mitochondriím
3. přítomnosti autoprotilátek proti hladkému svalu

(Správnou odpověď najdete na str. 6)



Zaujalo nás v odborném světě

Lektinová dráha aktivace komplementového systému – popelka ve stínu svých známějších sester

Komplementový systém patří mezi hlavní efektorové složky vrozené imunity. K jeho základním funkcím patří identifikace nebezpečných mikrobiálních vzorů, lýza cílových buněk, účastní se komplexní zánětové reakce a působí imunomodulačně. Složky komplementu fungují jako opsonizační a chemotaktické působky. V neposlední řadě je třeba zmínit jeho účast při likvidaci imunokomplexů a apoptotických tělísek.

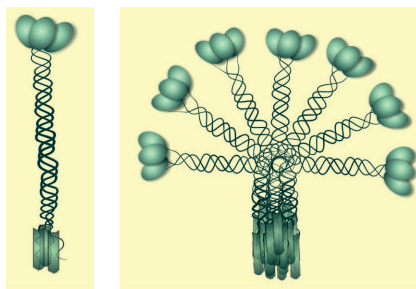
Komplementový systém je za fyziologických podmínek udržován v neaktivní formě a pro svoji funkci musí být aktivován. To se děje třemi hlavními cestami: klasickou, alternativní a lektinovou. Klasická cesta je nejčastěji aktivována imunokomplexem, tedy komplexem antigenu a protilátky, alternativní potom především kontaktem s bakteriálními a arteficiálními povrchy.

Poslední objevená, avšak fylogeneticky nejstarší, je cesta lektinová. Byla popsána až v 80. letech minulého století. Klíčovým spouštěčem lektinové dráhy je vazba manan vázajícího lektinu (MBL) na cukerné struktury bakteriálních povrchů. MBL patří do skupiny tzv. kolektinů, které jsou charakteristické přítomností dvou typických podjednotek ve své struktuře. Je to jednak tzv. *collagen-like* doména a *carbohydrate recognition* doména (CRD). CRD je zodpovědná za vazbu MBL na cukerné determinanty. Váže se na N-acetylglukosamin, D-manózu, N-acetylglukosamin, L-fukózu a další cukry. Tyto struktury se nacházejí na celé řadě patogenních mikrobu a hub. Patří k nim zejména *E. coli*, rody *Klebsiella*, *Neisseria*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* a jiné.

MBL má také schopnost identifikovat endogenní struktury organismu, a to apoptotická tělíska a nekrotické buňky. Kromě toho se MBL může vázat na nádorové buňky, které se mohou vyznačovat alterovanou glykosylací membránových struktur. Svou povahou patří MBL mezi solubilní receptory pro nebezpečné vzory (PRR). Identifikace cílových struktur těmito receptory aktivuje vrozenou imunitu a poskytuje dů-

ležitý druhý signál mechanismům imunity adaptivní. Vazba MBL na povrch buněk jednak aktivuje lektinovou dráhu, ale také může napomáhat fagocytóze. Současné rozpoznání na bakteriální buňku navázané C3 složky a MBL receptorem pro komplex a MBL receptorem vede k zesílení fagocytóze bakteriální buňky.

Základní strukturální konformaci MBL je trimer, složený ze tří základních jednotek. Tyto trimery se dále seskupují do oligomerů o dvou a více členech. Výsledná konformace připomíná kytičky s CRD doménami směřujícími vějířovitě ven (obr.1.).



Struktura manan vázajícího lektinu (MBL). Vlevo základní jednotka v podobě trimery, vpravo aktivní komplex ze sedmi základních jednotek.

Ke kolektinovým molekulám se řadí kromě MBL také např. surfaktantové proteiny plic SP-A a SP-D, sekretované do alveolárního prostoru, kde slouží mimo jiné jako účinné opsonizační faktory. Vazba MBL na cílovou strukturu je následována aktivací serinových proteináz MASP, které se váží na MBL. Komplex MBL-MASP poté

reaguje s C2 a C4 složkou za vzniku C3 konvertázy. Další sled aktivace komplementového systému je shodný pro všechny dráhy a vede k sestavení komplexu atakujícího membránu (MAC) cílové buňky, což vede k její lýze.

MBL je vysoce polymorfní. Existují genotypy s nízkou, střední i vysokou produkcí MBL. Sérová hladina potom odpovídá příslušnému genotypu. Jednotlivé varianty MBL se liší také počtem monomerů v polymerní vějířovité struktuře. To vše velmi komplikuje vyhodnocení naměřených koncentrací MBL. Údaje o normálních hodnotách MBL se pohybují od jednotek ng/ml až po 10 000 ng/ml. Obvykle se uvádí, že hodnoty pod 100 ng/ml mohou indikovat deficienci MBL. Vzhledem k výše uvedeným okolnostem většina literárních pramenů doporučuje při diagnostice deficience MBL vycházet spíše ze vhodného funkčního testu charakterizujícího funkčnost celé lektinové dráhy než identifikovat deficienci MBL dle sérových hodnot, které mohou ve zdravé populaci výrazně kolísat.

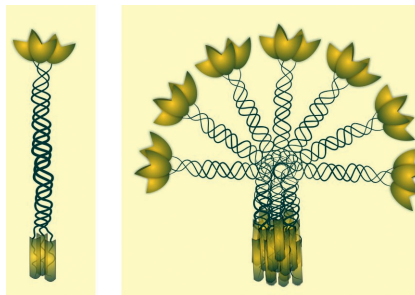
Frekvence MBL deficience se pohybuje v evropské populaci cca mezi 5 – 10%. Jedná se tedy pravděpodobně o nejvíce zastoupenou imunodeficienci. Deficience MBL je nejčastější příčinou selhání aktivity lektinové dráhy. Sporadicky jsou také popsány deficience serinových proteináz MASP i fokolinů, alternativních spouštěčů lektinové cesty.

Klinické projevy deficience lektinové dráhy jsou různé. Jsou spojeny se zvýšenou vnímavostí k infekčním podnětům. Nejvíce

jsou postiženy děti, kde jsou mechanismy adaptivní imunity dosud nezralé a nediferencované a tíha obrany proti infekci leží do značné míry na bedrech přirozené imunity. Byly popsány častější a závažnější bakteriální infekce, zvláště meningokokové ve spojení s nízkými hladinami MBL. Je známa efektivní role MBL v protivirové imunitě v případě hepatitidy B, HIV a chřipky. Deficience MBL je spojena se závažnějším průběhem těchto virových infekcí. Kromě dětské populace jsou další rizikovou skupinou imunokompromitovaní pacienti, a to zvláště po transplantaci a po chemoterapii. U těchto pacientů deficience MBL zvyšuje incidenci závažných infekčních komplikací. Pozorování byla ověřena na velkých skupinách pacientů s hematologickými malignitami léčenými vysokodávkovanou chemoterapií. Nízké hodnoty MBL jsou asociovány s horší prognózou a snížením předpokládané doby přežívání u pacientů s cystickou fibrózou. Souvisí to se zvýšeným rizikem těžkých infekcí způsobených patogeny *Pseudomonas aeruginosa* a *Burkholderia cepacia*. Zvýšený počet těžkých pooperačních infekčních komplikací byl zaznamenán po chirurgických řešeních malignit gastrointestinálního traktu u pacientů s MBL deficiencí.

MBL deficience je spojena i s otázkou imunopatologických chorob z autoimunity. Významným rizikovým faktorem vzniku těchto onemocnění je mechanismus odstranění apoptotických buněk z organismu. V průběhu apoptózy dochází k redistribuci cukerných determinant na povrchu buněk spojené s odmaskováním zbytků fukózy a N-acetylglukosaminu. Tyto struktury rozeznává MBL a napomáhá likvidaci apoptotických tělísek. V případě MBL deficience může docházet k prodlouženému přežívání apoptotických tělísek v cirkulaci, což může imunitní systém rozpoznat jako nebezpečnou situaci a reagovat indukcí zánětu. Pacienti se systémovým lupusem (SLE) a MBL deficiencí trpí zvýšeným rizikem poškození ledvin a trombotickými komplikacemi. V cirkulaci mají zvýšené hladiny autoproti-látek proti terčům asociovaným s apoptózou, jako jsou fosfolipidy a C1q složka komplementového systému. Podobná situace je popsána u revmatoidní artritidy, kde je dokázáno, že MBL se může vázat na revmatoidní faktory, zvláště na IgM RF. Odstranění revmatoidních faktorů z cirkulace cestou vazby na MBL snižuje úroveň eroze kloubů a tlumí zánět.

MBL není jediným aktivátorem lektinové dráhy. Tuto úlohu hrají také fikuliny. Fikuliny se strukturálně liší od MBL přítomností tzv. *fibrinogen-like* domény, kterou jsou schopny rozeznávat cílové cukerné determinanty. Nemají tedy CRD doménu, v jejich stavbě se ale nachází podobná *collagen-like* doména jako v případě MBL. Fikuliny podobně jako MBL se skládají ze základní trimetrické struktury a tyto jednotky potom tvoří polymerní komplexy uspořádané vějířovitě (obr. 2).



Struktura fikolinů se podobá MBL. Vlevo rovněž základní jednotka v podobě trimery, vpravo aktivní komplex ze sedmi základních jednotek. Receptorová struktura na koncích vějíře je ale odlišná od MBL.

Aktivují lektinovou dráhu vazbou na MASP serinové proteinázy podobně jako MBL. Fikuliny se váží na podobné struktury jako MBL s tím, že byla prokázána schopnost fikolinů rozpoznávat také CRP vázaný na bakteriální buňky. Jsou popsány tři typy fikolinů: L-fikolin, H-fikolin a M-fikolin. L-fikolin je tvořen především v játrech a jeho hladina v plasmě se pohybuje okolo 5 mg/l. H-fikolin je rovněž tvořen hepatocyty, ale také epiteliálními buňkami různých orgánů, včetně plic. Jeho zastoupení v plasmě je největší, okolo 25 mg/l. H-fikolin má také největší schopnost aktivovat komplementový systém lektinovou cestou. M-fikolin je tvořen především leukocyty, monocyty a neutrofilními granulocyty a jeho průměrná plasmatická hladina je udávána pod 0,1 mg/l. Fikuliny fungují podobně jako MBL jako silná opsonizační činidla a k jejich funkcím patří i likvidace apoptotických tělísek.

Deficience fikolinů jsou velice sporadické. Byly popsány případy s velmi nízkou hladinou fikolinů, která byla spojena s těžkými rekurentními infekcemi *Haemophilus*

influenzae a *Pseudomonas aeruginosa*, způsobujícími bronchiektázie a vedoucími k plicní fibróze.

Fikuliny podobně jako MBL můžeme rovněž zařadit mezi solubilní receptory pro nebezpečné vzory, PRR.

Závěrem lze shrnout, že lektinová cesta je svým fyziologickým významem zcela rovnocenná ostatním dvěma. Funguje na principu vazby manan vázajícího lektinu (MBL) nebo fikolinů na povrchové cukerné struktury celé řady mikroorganismů. Klinicky významné je sledování aktivace lektinové dráhy zvláště u dětí ve věku od 6 měsíců do 2 let, kdy dětský organismus již není chráněn protektivními protilátkami od matky a jeho vlastní adaptivní imunita ještě není vyzrálá. U těchto dětí může deficience MBL vést k rekurentním infekcím pyogenními bakteriemi a kvasinkami. Poruchy lektinové dráhy mohou vést k infekčním komplikacím i u dospělých pacientů v imunopresi po transplantaci a chemoterapii. Defekty lektinové dráhy jsou i v jinak zdravé dospělé populaci spojeny se zvýšeným výskytem nejrůznějších infekčních komplikací.

Stanovení aktivity komplementového systému patří mezi základní imunologická vyšetření. Doporučuje se nejprve provést test celkové aktivity komplementu, nejlepší pro všechny aktivační dráhy. V druhém kole je potom možné pátrat po konkrétní alterované složce nebo faktoru.

doc. RNDr. Ctirad Andrýs, Ph.D.
ilustrace Hana Kotlandová

Použitá literatura:

Botto, M., Kirschfink, M., Macor, P. et al. *Complement in human diseases: Lessons from complement deficiencies. Molecular Biology*, 46, 2009, 2774-2783.

Mollnes, T.E, Jokiranta, T.S., Truedsson, L. et al.: *Complement analysis in 21st century. Molecular Biology*, 44, 2007, 3838-3849.

Endo, Y., Takahashi, M., Fujita T. *Lectin complement system and pattern recognition. Immunobiology*, 211, 2006, 283-293.

Bouwman, L.H., Roep, B.O., Roos, A.: *Mannose-binding lectin: clinical implications for infection, transplantation and autoimmunity. Human Immunology*, 67, 2006, 247-256.

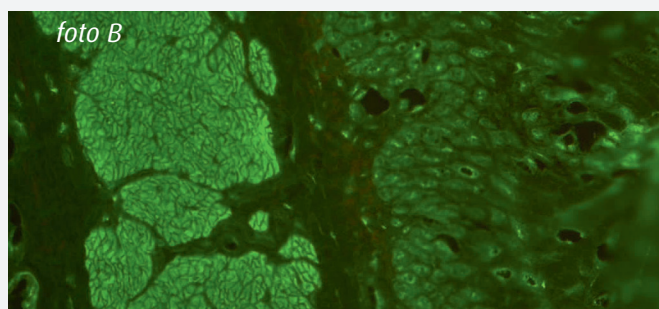
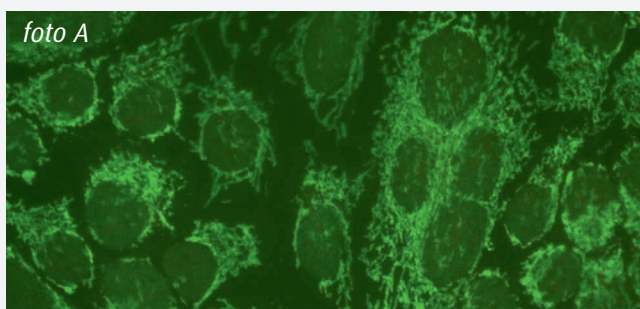
Řešení kvízu ze str. 3

Správná odpověď zní: 1. protilátky proti endomysiu

Endomysium je podpůrná struktura obklopující vlákna hladkého svalu. Obsahuje kolagen a retikulín společně s tkáňovou transglutaminázou, která je hlavním cílovým antigenem. K detekci protilátek proti tomuto antigenu je využíván opičí oesophagus nebo cévy lidského pupečníku. Přítomnost tohoto typu autoprotilátek je typická pro celiakii. Celiakální sprue,

glutenová enteropatie je chronický zánět střevní sliznice způsobený nesnášenlivostí lepku. Typicky se projevuje průjmem, zvracením a vyrážkou. Časté bývá sdružení této nemoci s kožní chorobou dermatitis herpetiformis Dühring. První zmínky o onemocnění připomínajícím celiakii pocházejí již ze 3. století našeho letopočtu od Galéna. Za objevitele choroby

se však obecně považuje až britský lékař Samuel Gee. Ten v roce 1888 popsal příznaky neléčené u dětí. Příčina tohoto „intestinálního infantilismu“ však zůstávala ještě dlouho neznámá. Souvislost mezi chronickým střevním zánětem a dietou se podařilo objevit až v polovině 20. století.



Protilátky proti mitochondriím

(foto A)

Na fotografii preparátu je buněčná linie HEP-2. V cytoplasmě buněk jsou zřetelné orgány-mitochondrie. Typickým substrátem pro stanovení autoprotilátek proti mitochondriím jsou však řezy z krysích ledvin, jater a žaludku.

AMA, protilátky proti mitochondriím, tvoří heterogenní skupinu autoprotilátek namířených proti antigenům vnější nebo vnitřní mitochondriální membrány. V současné době je popsáno na devět tříd protilátek typu AMA (M1-M9). Výskyt jednotlivých protilátek je charakteristický pro určitý typ onemocnění a jejich stanovení lze využít

k diferenciální diagnostice různých hepatopatií. AMA protilátky bývají přítomny u 85-90 % pacientů s primární biliární cirhózou (PBC), asi u 20-30 % pacientů s chronickou aktivní hepatitidou (CAH) a u 25% pacientů s kryptogenní cirhózou. Mohou se objevit rovněž u systémových onemocnění pojiva, syfilis, myokarditidy, polékové lupus.

Protilátky proti hladkému svalu

(foto B)

Na fotografii preparátu vidíte na řezu z opičího jícnu výsledek imunofluorescenčního stanovení autoprotilátek proti hladkému svalu.

Protilátky proti hladkému svalu (ASMA) jsou tvořeny heterogenní skupinou protilátek, které reagují s antigeny cytoskeletu, zejména s aktinem, vimentinem, tropomyosinem, desminem a tubulinem. Vyskytují se u pacientů s chorobami jater různé etiologie. F-aktin (polymerizovaná forma G-aktinu) je cílový antigen, asociovaný s alkoholovou cirhózou. ASMA se nachází i u systémových imunopatologických onemocnění, infekčních nemocí, zánettivých střevních onemocnění, myokarditidy, PBC a CAH. Rovněž malá část zdravé populace (2 %) vykazuje přítomnost ASMA protilátek. Typickým substrátem pro stanovení autoprotilátek proti hladkému svalu jsou však řezy z krysích ledvin, jater a žaludku.

RNDr. Marcela Drahošová

Mitochondriální protilátka	Asociovaná nemoc	Frekvence protilátky
M1 – Cardiolin	Syfilis, SLE	96 %
M2 – PDC	PBC (vysoké titry)	96 %
	Další chronické jaterní nemoci	30 %
	Systematická skleróza	7 - 25 %
M3	Pseudolupus erythematosus (syndrom)	100 %
M4 – Sulfid oxidáza	PBC (vždy s M2)	> 55 %
M5	Nedefinované kolagenové nemoci	malá frekvence
M6	Hepatitis	100 %
M7	Akutní myokarditis	60 %
M8	PBC	> 55 %
	PBC	50 %
M9 – Glykogen fosforyláza	Aktivní autoimunitní hepatitida	10 %
	Akutní a chronická virová hepatitida	3 %

Nabízíme nová vyšetření

Kalprotektin ve stolici – neinvazivní test pro zánětlivá střevní onemocnění

V rámci diagnostiky nespecifických střevních zánětů naše laboratoř provádí vyšetření ASCA a ANCA protilátek v séru. V případě vašeho zájmu vám nyní můžeme nově nabídnout další neinvazivní test – kvantitativní stanovení kalprotektinu ve stolici. Zvýšená koncentrace kalprotektinu ve stolici je citlivou známkou střevního zánětu. Hodnoty výborně korelují s histologickým a endoskopickým nálezem.

Praktické informace

• Jednoduchý odběr vzorku a manipulace před analýzou

Postačuje minimální vzorek stolice (1g). Kalprotektin je ve vzorku stolice stabilní zhruba týden, optimální uchování je v lednici (2-8 °C), ale nevadí ani pokojová teplota. Během této doby lze vzorky spolehlivě dopravit do laboratoře.

• Kvantitativní výsledky

Výsledky jsou vyjádřeny v µg kalprotektinu na 1 g stolice.

Oblasti použití testu

• Monitorování aktivity zánětlivých střevních onemocnění, předpověď nebo časná detekce relapsu

Stanovení kalprotektinu je vhodné jako kontrolní test při sledování aktivity onemocnění v čase. Získaná informace umožňuje racionální úpravu medikace. Použití testu může vést k redukci počtu kontrolních kolonoskopických vyšetření. Zdá se, že koncentrace kalprotektinu odráží i míru rizika budoucího klinického relapsu u pacientů v remisi.

• Monitorování efektu terapie zánětlivých střevních onemocnění

• Pomocný test v diferenciální diagnostice organických a funkčních poruch dolní části trávicího traktu

Test umožňuje odlišit pacienty se zánětlivým střevním onemocněním (ulcerózní kolitida, Crohnova nemoc) od pacientů s funkčními poruchami trávicího traktu, jako je např. syndrom dráždivého tračníku.

Vyznačuje se vysokou negativní předpovědí hodnotou; u symptomatického pacienta s negativním výsledkem testu je zánětlivé střevní onemocnění málo pravděpodobné. Pozitivní nález je jednoznačnou indikací ke kolonoskopii.

Zvýšené hodnoty kalprotektinu ve stolici jsou přítomny také u nádorových a infekčních onemocnění gastrointestinálního traktu, u dětí do 1 roku věku. Popsány byly u enteropatie v důsledku užívání nesteroidních protizánětlivých léků a několika dalších nemocí s postižením střeva.

Zvýšená koncentrace kalprotektinu ve stolici je citlivou známkou střevního zánětu.

Přítomnost kalprotektinu ve stolici je jasnou známkou neutrofilního zánětu střevní sliznice. Kalprotektin představuje až 60% všech cytoplazmatických proteinů neutrofilních granulocytů. Při aktivaci případně při rozpadu neutrofilů dochází k uvolnění kalprotektinu ven z buněk, a tak se dostává i do střevního lumen. Jako extracelulární molekula pak kalprotektin působí prozánětlivě. Není tedy jen pasivní známkou střevního zánětu, ale sám se jej aktivně účastní a účastní se tak patogeneze zánětlivých střevních onemocnění.

Spojitosť kalprotektinu se zánětem byla objevena před více než 20 lety. Molekulární mechanismy amplifikace zánětu pomocí kalprotektinu jsou však objasněny až v poslední době. Vše souvisí se změnou náhledu na principy fungování imunitního systému v organismu, s odhalením stěžejní role mechanismů nespecifické (vrozené) imunity. Rozpoznávají pomocí svých receptorů nebezpečné vzory jak z vnějšího

prostředí (tzv. PAMPs – pathogen associated molecular patterns), tak i zevnitř (tzv. DAMPs – damage associated molecular patterns). DAMP molekuly se v organismu objevují při nekróze buněk, v důsledku stresu, při nádorovém bujení, a secernovány jsou také – jako v případě kalprotektinu – aktivovanými leukocyty. Po obsazení receptorů těmito molekulami dochází k aktivaci vrozené imunity, která pak zásadně ovlivňuje i navazující mechanismy imunity adaptivní.

Kalprotektin tedy působí jako endogenní signál nebezpečí aktivující mechanismy vrozené imunity. Indukuje tvorbu prozánětlivých cytokinů, chemokinů, adhezních molekul. Důsledkem je zvýšený průnik leukocytů do zánětlivých tkání a aktivace fagocytů v místě zánětu. Kalprotektin se účastní obranného zánětu u infekcí, má i přímý antimikrobiální účinek, daný schopností vyvažovat z prostředí zinek. Působí amplifikaci i autoimunitního zánětu a svým prozánětlivým

účinkem zřejmě podporuje růst některých nádorů včetně šíření metastáz.

Kalprotektin je volně přítomen i v plazmě (< 2 mg/l), jeho koncentrace zde stoupá až 40x (i více) při různých infekčních a zánětlivých stavech. Zde jsou jeho zásadním zdrojem monocyty, které jej exprimují na membráně a uvolňují po interakci s aktivovaným endotelem při prostupu do zánětlivých tkání. Stanovení sérové koncentrace lze použít například jako časný indikátor rejekce u transplantací ledvin, v diagnostice infekčních komplikací po transplantacích. Jeho koncentrace odráží aktivitu kloubního zánětu u nemocných s revmatoidní artritidou, juvenilní revmatoidní artritidou a lupusovou artritidou. Hladiny stoupají u lupusové glomerulonefritidy. Diskutuje se jeho použití v diagnostice akutních koronárních syndromů.

PharmDr. Jana Havlasová, Ph.D.

