

Přirozené protilátky (PP)

- Do činnosti imunitního systému se zapojují nejen protilátky vznikající známým antigenním podnětem, ale také přirozené protilátky neimunizovaných jedinců.
- Jsou nazývány přirozené, protože *Landsteiner* již začátkem století u jedinců, kteří mají krevní skupinu A, prokázal vznik anti-B-aglutininů přirozenými mechanismy.
- tvoří se spontánně, bez záměrné imunizace
- jsou polyreaktivní s nízkou aviditou
- většina patří do isotypu IgM (IgM také nejvíce aglutinuje, je to pentamer)
- Normální sérum zdravých jedinců obsahuje přirozené protilátky IgM, IgG a IgA.
- jejich fyziologický význam se předpokládá:
 - v časných stádiích infekčních procesů
 - při regulaci rozvoje autoimunitních chorob
 - též při odstraňování stárnoucích, fyziologicky degradovaných molekul a buněk
- Patří mezi ně protilátky proti krevním skupinám - IZOHEMAGLUTININY, které jsou vytvářeny postnatálně po antigenních stimulech fyziologické mikroflóry.
- Významnou součástí repertoáru přirozených protilátek jsou XENOAGLUTININY, prokazované aglutinací s králičími erytrocyty.
- Pozoruhodná role byla přirozeným protilátkám připsána při zavádění xenotransplantátu (prase - člověk), protože xenoaglutininy jsou mj. příčinou odvrhávání xenotransplantátu.

Úloha č. 2

Stanovení titru přirozených protilátek v lidském séru
(metoda: přímá aglutinace)Teorie:

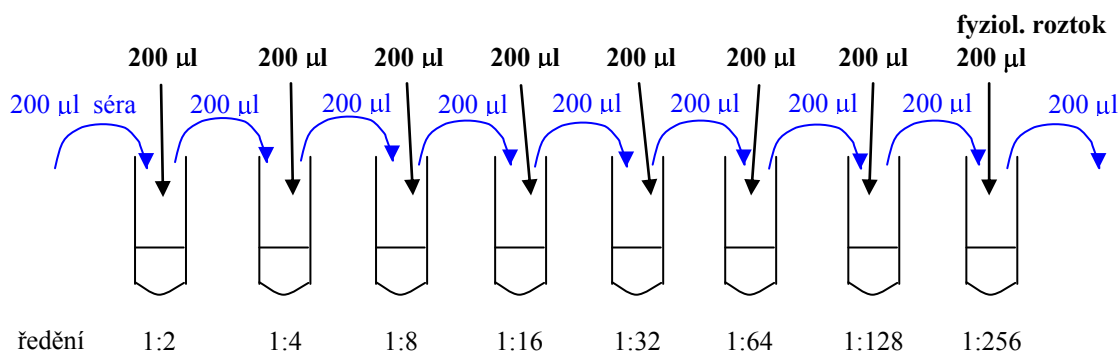
Z plné krve jedince se získává sérum, ve kterém můžeme stanovit výšky hladin různých látek charakterizujících nám současný zdravotní stav jedince (v imunologii jsou to např. stanovení imunoglobulinů, proteinů akutní fáze, složek komplementu, autoprotilátek proti vlastním tkáním, protilátek proti mikroorganismům, atd.).

Přirozené protilátky se v laboratoři našeho ústavu prokazují od 70. let minulého století aglutinací s králičími erytrocyty, a toto stanovení nám slouží ke screeningu diagnózy agamaglobulinémie.

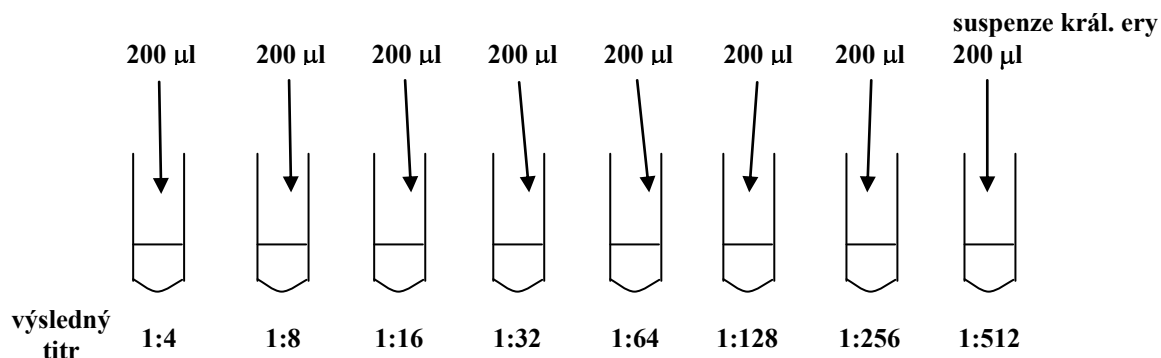
Králičí erytrocyty, stejně jako endoteliální buňky mnoha zvířat, ale NE lidí ani vyšších primátů, mají na svém povrchu epitopy, proti kterým jsou lidské xenoaglutininy namířeny.

Provedení:

- ve vyšetřovaném séru je třeba inaktivovat komplement (vodní lázeň...56 °C...30 min.)
- sérum každého pacienta se následně naředí dvojkovou řadou – viz schéma:



- králičí erytrocyty uchovávané při 4 °C v Alseverově roztoku se 3x promyjí fyziologickým roztokem; po každém promytí centrifugace vždy 2000 rpm 10 min.
- z promytých králičích erytrocytů se připraví 0,5 % suspenze (ery + fyziol. roztok), která se přidá do každé zkumavky – viz schéma:



- v každém prováděném testu je vždy potřeba mít i jednu zkumavku s negativní kontrolou (200 μ l fyziol. roztoku + 200 μ l suspenze král. ery)
- všechny zkumavky se nechají inkubovat 2 h při 37 °C v termostatu, a pak přes noc při 4 °C v ledničce
- druhý den se okometricky odečítá hemaglutinace po důkladném protřepání zkumavek

Výsledek:

U každého pacienta se určuje titer protilátek, neboli největší zředění séra, při kterém je aglutinace erytrocytů ještě prokazatelná.

Čím je stanovený titer větší, tím je i vyšší koncentrace přirozených protilátek v daném séru.

Ref. rozmezí: 1:32 – 1:256

Úloha č. 3

Latex-fixační test pro zjištění přítomnosti revmatoidního faktoru (metoda: nepřímá aglutinace)

Teorie:

Latexové částice nesou na svém povrchu (jsou potaženy) lidský γ globulin. Revmatoidní faktor (RF) je autoprotlátka namíření proti Fc části IgG molekuly, přítomná asi u 80% pacientů s revmatoidní artritidou, pozitivní je též u asi 5 – 10 % nemocných s jinými systémovými autoimunitními chorobami, autoimunitní hepatitidy, endocarditis lenta. Může být pozitivní i u zdravých osob. Diagnosticky nejdůležitější je RF ve třídě IgM.

Citlivost této reakce je vyšší než 1 IU/ml RF.

Provedení:

- testované sérum se zředí 1:20, tj. 20 μ l séra + 380 μ l glycinového pufru
- na černé testovací skličko se dá vedle sebe 50 μ l naředěného séra (nebo pozitivní, a nebo negativní kontroly) a 1 kapka dobře promýchaného latexového reagentu
- obě kapky se smíchají dohromady a rozprostřou k okraji vymezené testovací plochy
- opatrným nakláněním sklička do stran se pak vzorky promíchávají a po 2 minutách můžeme pozorovat pod přímým světlem makroskopickou aglutinaci

Výsledky:

U pozitivní reakce je viditelná aglutinace latexových partikulí, a odlišuje se od jemných granulí mléčného pozadí (negativní kontroly).

Tímto testem můžeme určovat RF i semikvantitativně. Stejně jako v úloze č. 2 je možné sérum naředit geometrickou řadou a určit titer séra, který ještě aglutinuje latexové částice.