

Základy interpretace výsledků imunologických laboratorních testů

Vyšetření imunoglobulinů

- O hladině Ig nás velmi zhruba informuje procentuální zastoupení **gamafrakce** při elektroforéze bílkovin, jedná se však o vyšetření velmi hrubé, které odhalí pouze výrazné změny ve smyslu plus nebo minus. Elektroforéza séra je výhodným screeningovým vyšetřením ke zjištění možného **paraproteinu**.
- Pro vyšetření hladiny imunoglobulinů třídy **IgG, IgA, IgM** se používá **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:

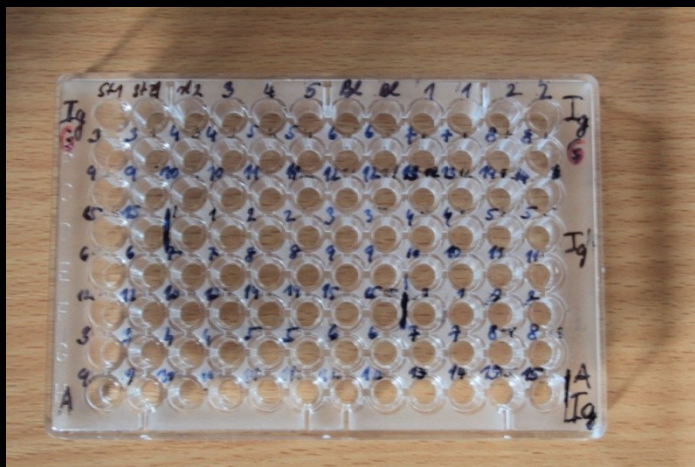
- při zánětech převážně slizničního charakteru
- při jaterních cirhózách

zvýšení IgG:

- záněty intersticiální

Osamocené zvýšení IgM při normálních hladinách jiných isotypů

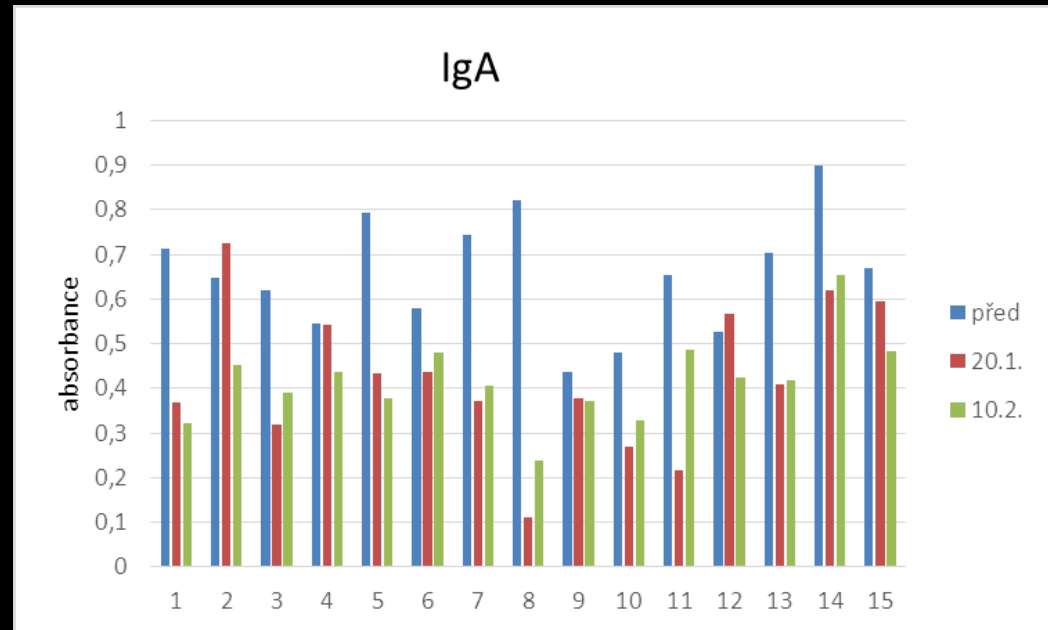
- jako odraz proběhlého nebo subakutního zánětu je poměrně řídké



IgA

Před Jiří
20.1. Peter
Rpzdíl u Bány?

Je součástí slizniční obrany. Vychytává cizorodé látky dostávající se do organismu z vnějšího prostředí (horní cesty dýchací, trávicí soustava). Spolupráce s fagocyty



$P \ll 0,05$, významný pokles

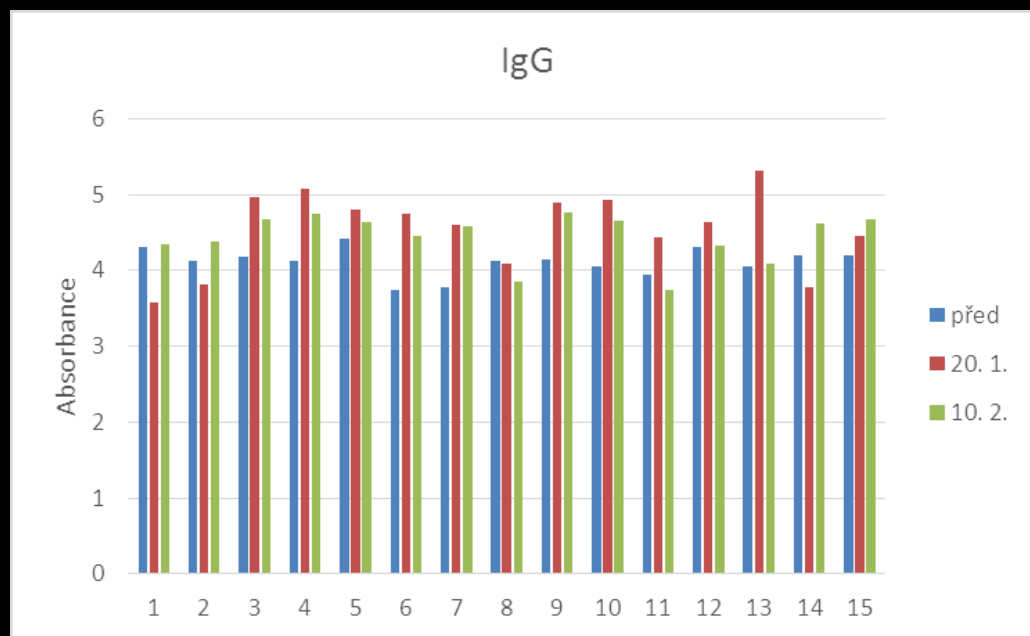
Referenční hodnoty: 0,7-4g/l



IgG

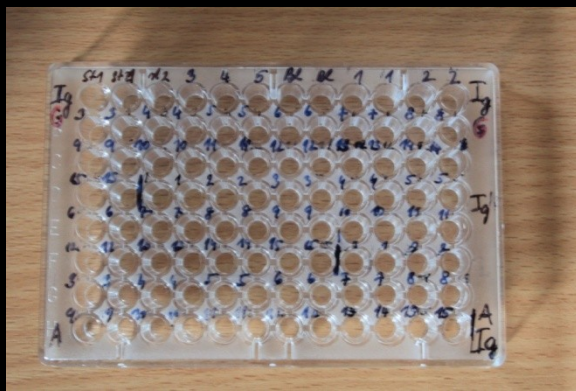
Před Jiří
20.1.Peter
Rpzdíl u Bány?

Váže se s vysokou afinitou na fagocyty (NE, Makrofágy), slouží jako opsonin a prostupuje placentou. Aktivuje komplement klasickou cestou po vazbě na antigen. Zprostředkovává sekundární imunitní odpověď.



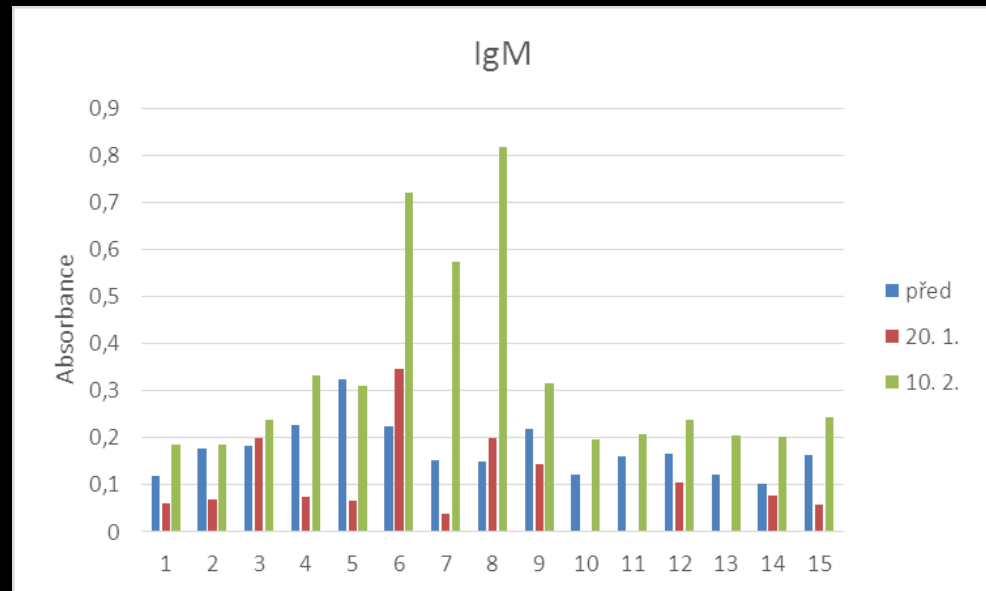
2x $P < 0,05$, významné zvýšení

Referenční hodnoty: 6,9 - 14,0 g/l



IgM

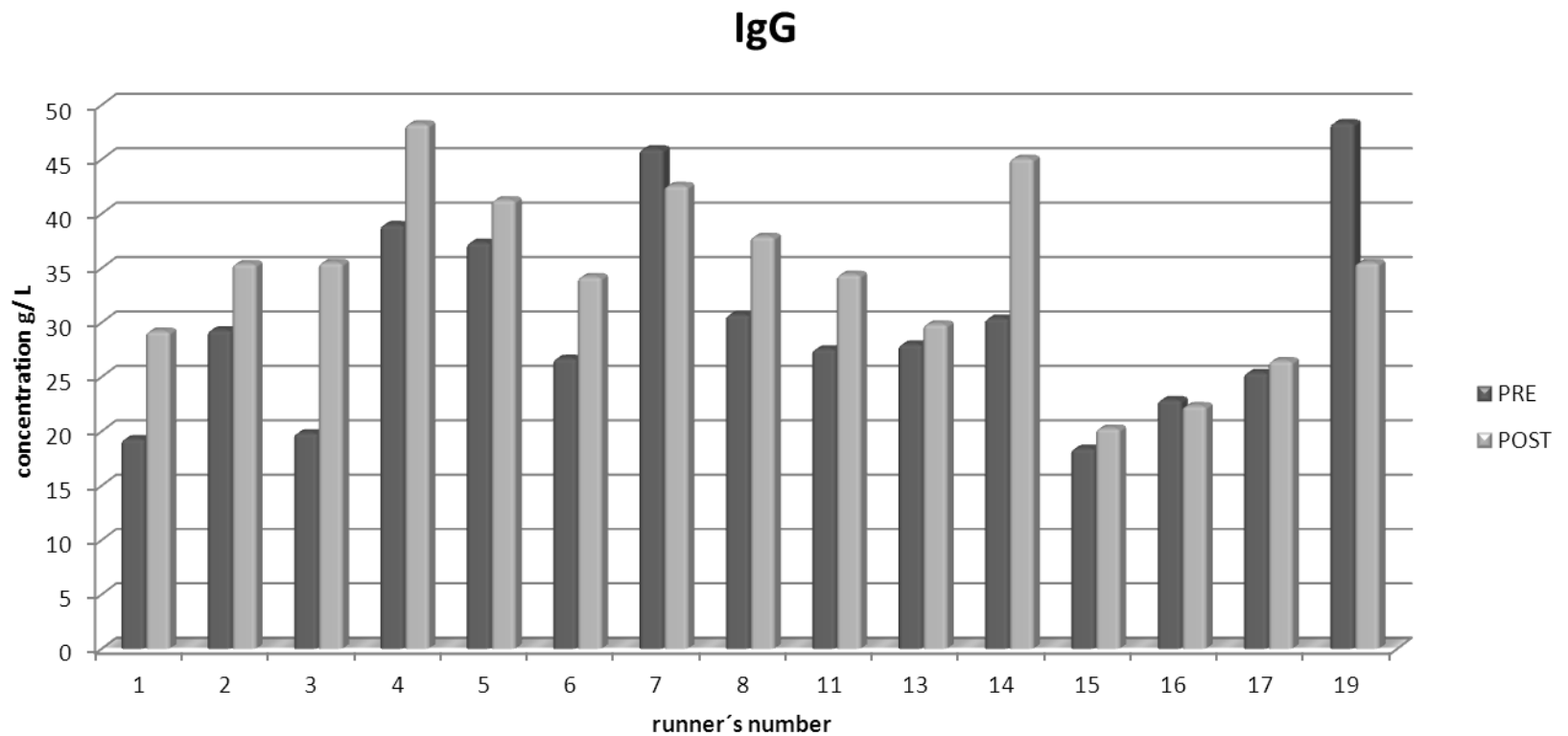
je největší z Ig a poskytuje nejvíc vazeb. Je prvním izotypem protilátky, která sa tvoří po střetu s antigenem. Vyskytuje sa na povrchu B-lymfocytů a tvoří povrchový receptor pro antigen. Neváže se na Fc receptor fagocyту. Vazby s antigenem jsou nespecifické.



3x $P < 0,05$, významný pokles, zvýšení, zvýšení

Referenční hodnoty: 0,30 - 2,40 g/l

100km MČR běh



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

Izolované zvýšení hladiny jedné třídy Ig:

- při myelomu,
- monoklonálních gamapatiích
- u pacientů ve vyšších věkových skupinách, neboť hladiny Ig, zejména IgA, mají tendenci se zvyšovat s věkem

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 secernujícími plochami

Hladina IgE

se zjišťuje nejčastěji **ELISA technikami**.

Zvýšení IgE

- doprovází alergické stavy prvního (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

udávají se v mezin. jednotkách (1 IU=2,4ng IgE). Pro dospělou populaci se za normální považuje pod 150 IU/ml

Hladinu specifického IgE (tj IgE namířeného proti konkrétnímu alergenu) je nutno zjišťovat velmi citlivými metodikami, nejčastěji **ELISA** nebo **RIA**.

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

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

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

Kvalitativní změny Ig:

velký význam má průkaz **paraproteinu**.

podezření na přítomnost paraproteinu je možno vyslovit již při elektroforetickém vyšetření séra

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

Mají schopnost se při teplotách nižších než je teplota těla srážet.

Mnohé kryoglobulinémie jsou klinicky němé, některé z nich však mohou vyvolávat závažné klinické obtíže:

- poškození funkce ledvin
- vaskulitidu
- chladovou kopřivku

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

nebo lépe krev odebrat přímo na ambulanci imunologického oddělení.

Vyšetření cirkulujících IK

Má většinou význam pouze při monitorování zánětlivého procesu

zvýšení

- v subakutním,
- chronickém
- rekonvalescentním stadiu různých zánětlivých procesů
- **Význam** pro diagnózu imunokomplexových chorob je velmi omezený, u nemocných s těmito chorobami je možno nalézt poměrně často normální hladiny IK
- Pro diagnózu imunokomplexového postižení je mnohem důležitější průkaz deponovaných IK v postižených tkáních pomocí přímé imunofluorescence

Vyšetření komplementového systému

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

Může být odrazem zánětlivé aktivity

Snížení hladin složek

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

Hladinu C3, C4 a případně jiných složek k.s. se vyšetřují **jednoduchou radiální imunodifuzí, turbidimetry a nefelometry.**

Pokud je u pacienta podezření na defekt některé složky klasické cesty aktivace k.s., provádí se **test CH50**

při podezření na defekt alternativní složky lze provést vyšetření **AH50**

Při vyšetření nemocného na 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.

Proteiny „akutní fáze“

se provádí **jednoduchou radiální difuzí, turbidimetricky nebo nefelometricky**

Nejčastěji se sleduje **hladina C – reaktivního proteinu (CRP)**

zjišťování hladin jiných proteinů a.f. jako **alfa – 1 – antitripsinu, orosomukoidu, ceruloplasminu, sérového amyloidu A a dalších** má již menší význam. Normálně je hladina CRP velmi nízká (pod 10mg/l), při zánětech stoupá až do hodnot stovek mg/l

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 erythematoses** 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 autoprotilátek

- Průkaz přítomnosti autoprotilátek - vysoká hodnota při diagnostice autoimunitních chorob
 - v současné době se jedná o jistě stovky různých popsaných autoprotilátek, které je možno vyšetřovat
 - přesto bývá sortiment vyšetřovaných protilátek prováděný většinou laboratoří úzký

- **Důvody:**
- obtížnost průkazu některých autoprotilátek
- nízká výpovědní hodnota prokázané autoprotilátky
- některé autoprotilátky mohou mít velkou diagnostickou hodnotu, přesto nejsou příčinou vzniku konkrétního autoimunitního onemocnění
- mnohé autoimunitní choroby způsobeny **autorektivními T – lymfocyty** (těžké prokazovat) a přítomnost autoprotilátek 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 faktorem 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 vyššími titry revmatoidního faktoru se můžeme setkat u starších osob, ačkoli tito lidé netrpí žádnou z uvedených chorob.

Antinukleární protilátky (ANA, starší název ANF)

- se vyšetřují nepřímou imunofluorescencí.
- **Substrát pro vyšetření:**
- buňky tkáňových linií
- řezy živočišnými tkáněmi, (kryší játra).
- **Nález antinukleárních protilátek je důležitý diagnostický text pro:**
 - **systémový lupus erythematoses (SLE)**
 - u nemocných s některými jinými revmatickými chorobami (revmatoidní artritida, sklerodermie, Sjögrenův syndrom),
 - pacientů s chronickou autoimunitní hepatitidou a dalšími onemocněními.
 - u zdravých, zejména starších lidí - vyšší 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 –průkaz:
 - proti dvouvláknové (nativní) DNA,
 - histonům
 - extrahovatelným nukleárním Ag (ENA) sem se řadí antigeny označované jako Ro, La, Sm, Jo a další.

Tato bližší specifikace ANA opět umožňuje přesnější stanovení diagnózy.

Antimitochondriální Ab jsou ukazatelem primární biliární cirhózy, u jiných chorob nebo u zdravých lidí se vyskytují zřídka,

- vyšetření nepřímou imunofluorescencí na řezech zvířecími ledvinami, jejich přítomnost se projeví fluorescencí ledvinných kanálků. **Protilátky proti antigenům štítné žlázy** - proti tyreoglobulinu a mikrozomální peroxidáze se vyskytují zejména u nemocných s **Hashimotovou tyreoiditidou**,

méně často u jiných postižení štítné žlázy vazbou na receptory pro TSH (tyreotropní hormon) je příčinou **Graves- Basedowovy choroby** používají se **RIA testy**.

Protilátky proti hladkému svalstvu se vyskytují:

- u nemocných s **chronickou autoimunitní hepatidou**,
- **při akutních hepatidách**
- 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
 - **1. c – ANCA** (cytoplazmatická ANCA, protilátky proti granulocytární proteináze 3), nález je pro **Wegenerovu granulomatózu** poměrně specifický
 - **2. p – ANCA** (perinukleární ANCA, protilátky proti leukocytární myeloperoxidáze)
 - vyskytují se:
 - u rychle progredující glomerulonefritidy
 - u některých typů systémových vaskulitid (**polyarteritid nodosa, Churgův – Straussův syndrom**)
 - **3. x- ANCA**, která bývá pozitivní u nemocných s **colitis ulcerosa**

Ab proti retikulinu a endomysiu hladkého svalstva u nemocných s 1.celiakií 2.kožní chorobou dermatitis herpetiformis (Dühring)

Při těchto onemocnění má význam i stanovení třídy, v níž je uvedena autoantilátka, přítomnost **IgA** protilátek svědčí o aktivitě zmíněných chorob.

V období remise autoantilátka třídy **IgA** postupně mizí, zatímco **IgG** autoantilátka přetrvávají velmi dlouho po vymizení příznaků, 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

➤ význam:

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

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, snaží se nalézt diagnosticky cenné autoprotiátky