

LABORATORNÍ LISTY

č. 21/2019

Květen 2019

Vážené kolegyně a kolegové,

v tomto čísle laboratorních listů Vám přinášíme přehled některých autoprotilátek vyšetřovaných v naší Imunologické laboratoři Lab In. Příjemné čtení.

AUTOPROTILÁTKY

Autoprotilátky jsou imunoglobuliny namířené proti antigenům vlastního organismu, které jsou spojovány s rozvojem tzv. autoimunitních onemocnění. Cílovým antigenem mohou být proteiny, glykoproteiny, nukleové kyseliny, fosfolipidy a glykofosfolipidy. Autoprotilátky můžeme detekovat v séru a v dalších tělesných tekutinách. Tvorba autoprotilátek může být indukovaná různými patogenetickými mechanismy. Působení autoprotilátek může vést k poškození tkání nebo orgánů (II., III. a IV. typ imunologické reakce) nebo může probíhat jako součást přirozené obrany (přirozené autoprotilátky). Přirozené autoprotilátky hrají více či méně fyziologické role (např. v obraně proti infekci), obvykle jsou přítomny v nižších titrech, mají relativně nízkou afinitu k odpovídajícímu antigenu a většina patří do třídy IgM. Autoprotilátky izotypu IgG (případně IgA) představují větší riziko rozvoje autoimunitního onemocnění, než autoprotilátky izotypu IgM. Autoprotilátky většinou nejsou bezprostřední příčinou onemocnění, v praxi slouží jako diagnostický marker autoimunitního onemocnění.

Autoimunitní onemocnění je charakterizováno stavem, při kterém vytvořené autoprotilátky nebo autoreaktivní T či B-lymfocyty poškozují vlastní buňky či tkáň organismu. Detekce autoprotilátek může předcházet klinické manifestaci onemocnění, provázet klinickou manifestaci, přetrvávat nebo mohou autoprotilátky být prokazatelné u pacientů bez klinických obtíží.

Prevalence autoimunitních onemocnění v populaci (3 – 5%) podporuje důležitost jejich diagnostiky. Diagnostika autoimunitních onemocnění spočívá v rozboru anamnézy, klinických příznaků, objektivního nálezu a laboratorního vyšetření. Vyšetření autoprotilátek by měla být indikována u pacientů s horečkou, únavou, vyrážkou, svalovou slabostí, případně jinými nespecifickými příznaky, které nemají zjevné vysvětlení.

Laboratorní imunologické vyšetření přispívá k diagnóze autoimunitního onemocnění, případně k posouzení jeho aktivity. K detekci autoprotilátek se používá řada metod (nepřímá imunofluorescence (NIF), enzymová imunoanalýza (ELISA), radioimunoanalýza (RIA), imunoblot.

Autoprotilátky můžeme dělit na orgánově specifické a orgánově nespecifické – pro určité onemocnění specifické nebo jen asociované.

Orgánově nespecifické protilátky

Orgánově nespecifické autoprotilátky reagují s tělu vlastními antigeny, jež jsou společně všem tkáňovým i orgánovým systémům.

Antinukleární protilátky – ANA

Antinukleární protilátky jsou zaměřeny na komplex různých jaderných antigenů. Cílem ANA v buňce je chromatin (DNA, histony, centromery...), jaderná membrána, její póry, jádérka (někdy v komplexu s RNA, enzymy...), ribonukleové kyseliny (v komplexu s proteiny), jaderná matrice (fibrilární kostra jádra), jaderná tekutina a různé součásti cytoplazmy (enzymy, ribozomy, mitochondrie...). Vyšetření ANA je screeningové vyšetření, které se provádí metodou **nepřímé imunofluorescence (NIF)**, kde jako substrát slouží HÉp2 – buněčná linie z lidského karcinomu laryngu. Různé typy imunofluorescenčních obrazů neurčí jednoznačně některou z autoprotilátek, ale může napomoci při dalším vyšetřování. Vyšetření ANA provádíme také metodou **ELISA (ANA screen)**, případně **imunoblotem (ANAblot – dsDNA, Nukleosomy, Histony, SmD1, PCNA, P0, SS-A/Ro60kD, SS-A/Ro52kD, SS-B/La, CENP-B, Scl70, U1-snRNP, AMA-M2, Jo1, PM-Scl, Mi-2 a Ku)**.

Pozitivní nález je vždy nutné hodnotit v kontextu s klinickým obrazem onemocnění. ANA jsou nejčastěji se vyskytující autoprotilátky a mají omezený diagnostický význam. Vyskytují se u starších osob, zejména žen, po infektech, po imunostimulační terapii apod.

Autoprotilátky proti extrahovatelným jaderným (nukleárním) antigenům – ENA

Tyto antigeny provází systémové autoimunity (SLE, overlap syndrom, polymyozitida, RA, Sjögrenův syndrom, systémová sklerodermie, CREST syndrom, Raynaudův fenomén, dermatomyozitida, MCTD atd.) Při pozitivitě ENA screen (ELISA) se testují autoprotilátky proti jednotlivým antigenům (**ENA typizace – histony, Sm, SSA, SSB, Scl-70, Jo-1, RNP, centromera - ELISA**).

Autoprotilátky proti dsDNA

Jde o autoprotilátky vysoce specifické pro SLE, ale mohou se vyskytovat i u jiných systémových chorob a po těžších virových infekcích. Vyšetření dsDNA se provádí metodou NIF se substrátem *Crtithidia Luciliae* nebo metodou ELISA.

Autoprotilátky proti cytoplasmě neutrofilů - ANCA

ANCA je obecný termín pro všechny autoprotilátky namířené proti antigenům v cytoplasmě neutrofilů. Cílovými antigeny jsou



Institut laboratorní
medicíny

Sang Lab - klinická laboratoř, s. r. o.
Bezručova 10, 360 01 Karlovy Vary
Karlovarské imunologické centrum s. r. o.
Bezručova 10, 360 01 Karlovy Vary
TECTUM spol. s r. o.
Bezručova 10, 360 01 Karlovy Vary
Jiří Voženilek spol. s r. o.
Pražská 258, 276 01 Mělník

Hematocentrum s. r. o.
nám. Dr. M. Horákové 1313/8, 360 01 Karlovy Vary
VARAPALO s. r. o.
nám. Dr. M. Horákové 1313/8, 360 01 Karlovy Vary
ALERGOAMB s. r. o.
Bezručova 10, 360 01 Karlovy Vary

www.labin.cz

proteináza 3, myeloperoxidáza a další (elastáza, catepsin G, laktoferin, lysozym, BPI). ANCA stanovujeme metodou nepřímé imunofluorescence (NIF), kde jako substrát slouží etanolem fixované lidské neutrofilie, produkující rozdílné fluorescenční obrazy. Proteinázu 3 a myeloperoxidázu stanovujeme metodou ELISA. ANCA se vyskytují u systémových nekrotizujících vaskulitid a idiopatických rychle progredujících glomerulonefritid. Často jsou pozitivní i při chronických střevních zánětech (ulcerózní kolitida), cystické fibróze, sklerozující cholangitidě a jiných imunopatologických stavech.

Autoprotilátky proti fosfolipidům – APLA

Autoprotilátky namířené proti neutrálním a negativně nabitým fosfolipidům. Rutinně se vyšetřují protilátky proti kardiolipinům (ACLA). V případě positivity je lze doplnit o průkaz protilátek proti jiným fosfolipidům (fosfatidylserin, fosfatidylinositol, fosfatidylethanolamin atd.) a proti beta2-glykoproteinu 1 (B2GPI). APLA stanovujeme metodou ELISA, případně imunoblotem. Vyšetření je indikováno v případě antifosfolipidového syndromu (APS).

Revmatoidní faktor – RF

Jsou to autoprotilátky namířené proti Fc fragmentu IgG. Metodou ELISA rozlišujeme izotypy IgA, IgM a IgG. Přítomnost Rf je asociována s revmatoidní artritidou, nalézáme jej u systémových onemocnění, u jaterní cirhózy, sarkoidózy, TBC, při chronických zánětech atd.

Autoprotilátky proti mitochondriím – AMA

Tyto protilátky detekujeme pomocí nepřímé imunofluorescence na krysích řezech. NIF detekuje přítomnost nebo absenci AMA imunoblotem, lze stanovit specifické antigeny. Protilátky proti mitochondriím se nachází až u 90% nemocných s primární biliární cirhózou (PBC) a mohou předcházet řadu let manifestaci tohoto onemocnění.

Autoprotilátky proti mikrozomům jater a ledvin – LKM

Protilátky detekujeme metodou NIF na řezech krysích jater a ledvin a imunoblotem. Indikací k vyšetření je diferenciální diagnostika jaterního poškození při podezření na autoimunitní hepatitidu.

Autoprotilátky proti hladkým svalům – ASMA

ASMA jsou heterogenní skupina autoprotilátek, které reagují s různými antigeny cytoskeletu buněk hladkého svalstva. Detekujeme je metodou nepřímé fluorescencí na krysích řezech a pomocí imunoblotu. Vyšetření je indikováno při podezření na autoimunitní hepatitidu. ASMA se mohou nalézt i v séru pacientů s infekční mononukleózou, virovou hepatitidou B a C, u CMV infekce, poinfarktovém nebo postperikardiálním syndromu.

Autoprotilátky proti příčně pruhovaným svalům

K detekci těchto protilátek používáme metodu NIF. Vyšetřují se při podezření na myasthenia gravis a polymyozitidu.

Orgánově specifické protilátky

Orgánově specifické protilátky se vyskytují u celé řady autoimunitních onemocnění. Jejich vyšetření má značný diagnostický význam. Přehled vyšetřovaných protilátek v naší laboratoři je uveden v tabulce.

Orgánově specifické protilátky	Klinika, indikace
Protilátky proti štítné žláze (aTg, aTPO, aTSH)	autoimunitní tyreoiditida
Protilátky proti Langerhansovým ostrůvkům (ICA)	Diabetes melitus I. typu
Anti-GAD	Diabetes melitus I. typu
Anti-IA2	Diabetes melitus I. typu
Anti-BMG	glomerulonefritida, Goodpastuerův syndrom, idiopatická plicní hemosideróza.
Protilátky proti parietálním buňkám (APCA)	chronická atrofická gastritida a perniciózní anemie
Protilátky vnitřnímu faktoru (AIFA)	chronická atrofická gastritida a perniciózní anemie
Protilátky proti spermii	autoimunitní poruchy reprodukce
Protilátky proti Zona pellucida	autoimunitní poruchy reprodukce
Protilátky proti ováriím	autoimunitní poruchy reprodukce, syndrom předčasného ovariálního selhání
Protilátky proti endomysiu (EMA)	celiakie, dermatitis herpetiformis
Protilátky proti tkáňové transglutamináze	celiakie, dermatitis herpetiformis

Vysvětlivky: TPO – tyreoidální peroxidáza, TgI – tyreoglobulin, GAD – dekarboxyláza kyseliny glutamové, IA2 – specifický ostrůvkový antigen, tyrozinkináza 2

Stanovení autoprotilátek má řadu úskalí. Diagnosticky relevantní autoprotilátky jsou heterogenní s ohledem na jejich specifitu, tj. rozpoznávají různé druhy epitopů. Rozdílné analýzy často detekují rozdílné subpopulace autoprotilátek. Výsledek stanovení pro konkrétní autoprotilátkovou specifitu se proto může lišit od metody k metodě. Byla-li užita k určení přítomnosti dané antigeny specifické pouze jedna detekční metoda, tak nikdy nemůžeme vyloučit možnost falešně pozitivního nebo falešně negativního výsledku. Příkladem efektivního přístupu k sérologické diagnostice systémových autoimunitních onemocnění může být kombinace vyšetřování antinukleárních autoprotilátek cestou nepřímé imunofluorescence a cestou enzymové imunanalýzy následované diferenciací autoprotilátkové specifity imunoblotem. Jediné vyšetření autoprotilátek pro stanovení diagnózy obvykle nestačí. Výsledek každého testu by měl být posuzován individuálně, a to v kontextu s dalšími vyšetřeními, výsledky laboratorních testů a zejména s klinickým stavem pacienta.



Sang Lab - klinická laboratoř, s. r. o.
Bezručova 10, 360 01 Karlovy Vary
Karlovarské imunologické centrum s. r. o.
Bezručova 10, 360 01 Karlovy Vary
TECTUM spol. s r. o.
Bezručova 10, 360 01 Karlovy Vary
Jiří Voženilek spol. s r. o.
Pražská 258, 276 01 Mělník

Hematocentrum s. r. o.
nám. Dr. M. Horákové 1313/8, 360 01 Karlovy Vary
VARAPALO s. r. o.
nám. Dr. M. Horákové 1313/8, 360 01 Karlovy Vary
ALERGOAMB s. r. o.
Bezručova 10, 360 01 Karlovy Vary

www.labin.cz