

## Diagnostika toxoplazmózy

Toxoplazmóza je jednou z nejčastějších zoonóz v ČR. Její prevalence se u nás pohybuje kolem 25 - 34 %.(1) Přesto v diagnostice se velice často setkáváme s problémy, které jsou zapříčiněny zejména ...

**více str. 2**

**Abbott**  
Diagnostics

## Komponentová diagnostika v alergologii

Poznatky o molekulární struktuře alergénů určují nové trendy v diagnostice a léčbě alergických onemocnění. Alergény sú definované prevažne ako látky proteínového alebo glykoproteínového charakteru ...

**více str. 4**

# Laboratorní noviny

[www.zlinskelaboratore.cz](http://www.zlinskelaboratore.cz)



biochemie  
hematologie  
cytogenetika  
imunochemie  
flowcytometrie  
molekulární biologie

**MEDIEKOS**  
LABOR



Biochemická a hematologická laboratoř MZ-BIOCHEM

MZ-BIOCHEM s.r.o., je součástí laboratoř IMALAB s.r.o.

Seznam akreditovaných metod naleznete na [www.imalab.cz](http://www.imalab.cz), [www.mediekoslabor.cz](http://www.mediekoslabor.cz) a [www.mz-biochem.cz](http://www.mz-biochem.cz)

06/2015

**Váš partner v laboratorní medicíně**

Dovolujeme si vás srdečně pozvat na konferenci

## Krajská konference laboratorní medicíny

ktehou budou pořádat naše laboratoře ve čtvrtek 12.11. 2015 v 16.00 hod v konferenčním sále hotelu Moskva.

Program konference najdete na našich webových stránkách ([www.zlinskelaboratore.cz](http://www.zlinskelaboratore.cz), [www.imalab.cz](http://www.imalab.cz), [www.mediekoslabor.cz](http://www.mediekoslabor.cz), [www.mz-biochem.cz](http://www.mz-biochem.cz)) a samozřejmě dostanete také včas pozvánku. Vedle pracovníků našich laboratoř jsme tentokrát přizvali i externí přednášející.

**Věříme, že vám touto cestou můžeme poskytnout zajímavé informace, které přispějí k lepší spolupráci mezi vámi, našimi klienty a v konečném důsledku pak k vyšší kvalitě péče o vaše pacienty.**

Těšíme se na setkání s vámi.

## Rok 2015 rychle běží ...

Vážená paní doktorko, pane doktore,

po nějaké době se Vám opět dostává do rukou další číslo Laboratorních novin. Příprava každého tištěného čísla těchto Laboratorních novin je poměrně časově náročná a možná právě i díky této skutečnosti si intenzivně uvědomujeme, že rok 2015 se přehoupal do své poslední třetiny. Věříme, že jste strávili příjemné léto, byť mnoho letních dní nepřipomínalo, že se nacházíme v mírném pásu, ale spíše počasí odpovídalo tropickým podmínkám. Pro začátek podzimů jsme pro Vás připravili informace o novinkách v našich laboratořích a doufáme, že Vás tyto informace zaujmou, ale zejména budeme opravdu rádi, když Vám přinesou něco nového a pozitivního do vaší klinické praxe. V tomto čísle jsme velký prostor věnovali zejména alergologii a imunologii, ve které se nám podařilo v posledních měsících výrazně rozšířit spektrum prováděných vyšetření.

Přejeme Vám příjemné a inspirativní čtení tohoto čísla Laboratorních novin a těšíme se na další spolupráci s Vámi.

**RNDr. Jaroslav Loucký, Ing. Silvia Reváková a MUDr. Vladimír Ježík**

## Nová imunologická vyšetření ve Zlínských laboratořích

**Od jara tohoto roku rozšiřují naše laboratoře postupně spektrum prováděných imunologických vyšetření. Začali jsme alergologickou diagnostikou, v rámci které jsme zavedli vyšetřování alergénových komponent (viz příspěvek RNDr. Bology) a vysoce citlivé stanovení specifického IgE systémem ImmunoCAP.**

Tento systém je považován za zlatý standard laboratorní diagnostiky alergií a doporučujeme jej využívat přednostně. Rozhodně a v každém případě by měl být využit pro stanovení specifického IgE proti hmyzím jedům. Posléze jsme přidali sérologická vyšetření pro diagnostiku celiakie, včetně stanovení protilátek proti endomysiu metodou nepřímé imunofluorescence. Pozitivní výsledek testu na protilátky proti tkáňové transglutamináze a současně protilátek proti endomysiu je téměř 100% specifický pro celiakii. Vyšetření je možné doplnit také o stanovení protilátek proti gliadinu nebo deaminovanému gliadinu, které se hodí k monitorování účinku bezlepkové diety.

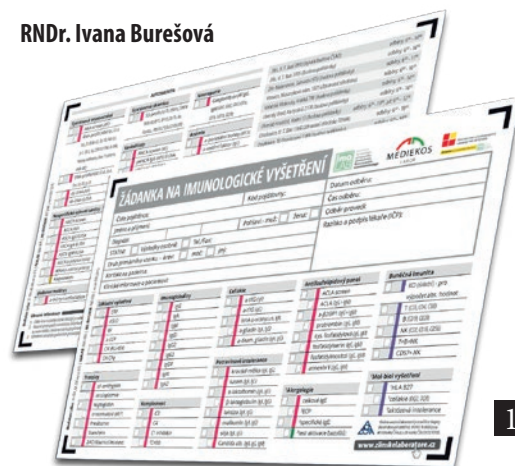
Nabízíme také vyšetření pro diagnostiku potravinových intolerancí – mléka a mléčných bílkovin, vaječné bílkoviny, sóji, ad. Nejnověji pak nabízíme širokou paletu vyšetření uplatňujících se v diagnostice systémových a jiných autoimunitních onemocnění. Jedná se

o vyšetření screeningová (metodou nepřímé imunofluorescence) i konfirmační (metodami ELISA nebo imunoblot). V této souvislosti upozorňujeme především na paletu vyšetření pomáhajících při diagnostice nespecifických střevních zánětů (IBD).

Aktuálně zavádíme stanovení fekálního kalprotektinu, vysoce stabilního proteinu obsaženého v myeloidních buňkách, kdy jeho nízké hodnoty naznačují spíše organickou příčinu klinických obtíží, kdežto zvýšené hodnoty souvisejí s rozpadem neutrofilů ve střevě a tedy s přítomným zánětem. Podrobnější informace najdete v příspěvku MUDr. Chrenovské. Do diagnostiky IBD spadají i další vyšetření, která mohou pomoci při rozlišení Crohnovy nemoci (obvykle pozitivní protilátky proti *S. cerevisiae*) a ulcerózní kolitidy (obvykle přítomny atypické ANCA). Zapomenout nesmíme ani na rozšířenou paletu protilátek proti různým typům fosfolipidů, kterým je věnován další příspěvek RNDr. Bology v tomto čísle Laboratorních novin.

Celou paletu nabízených imunologických vyšetření najdete na naší nové žádance, kterou jsme pro vás připravili (viz [www.imalab.cz](http://www.imalab.cz)) a jednotlivým vyšetřením se určité budeme postupně věnovat podrobněji v dalších číslech Laboratorních novin.

**RNDr. Ivana Burešová**



Toxoplazmóza je jednou z nejčastějších zoonóz v ČR. Její prevalence se u nás pohybuje kolem 25 - 34%.<sup>(1)</sup> Přesto v diagnostice se velice často setkáváme s problémy, které jsou zapříčiněny zejména nespecifickým klinickým obrazem a vysokým množstvím atypických laboratorních nálezů, kdy jejich interpretace bývá složitá a vyžaduje mnoho zkušeností. Na druhou stranu bez správné diagnostiky nelze onemocnění léčit, což může nežádoucí vést až k fatálním následkům.

Diagnostika se provádí nejčastěji pouze pomocí sérologických metod (IgG, IgM, IgA, IgE a KFR- v naší laboratoři provádíme stanovení IgG, IgM a KFR).

K upřesnění fáze infekce velmi napomůže vyšetření celkových titrů (např. KFR) a zároveň jednotlivých podtříd specifických protilátek. Toto využíváme zejména při detekci akutní fáze onemocnění. K verifikaci je nezbytné posouzení dynamiky protilátkové odpovědi. Kontrolní odběry jsou doporučeny provádět za 2-3 týdny (2). K upřesnění stáří infekce nám může pomoci zvláště u gravidních stanovení avidity IgG.

K první tvorbě protilátek dochází po cca 2 - 3 týdnech od primoinfekce. Jako první stoupají protilátky třídy IgA, IgM a IgE a maximálně dosahují po zhruba 2 - 3 měsících. Následně klesají až do negativity, ke které dochází nejprve u IgE (kolem 6 měsíců od nákazy), následně u IgA (kolem 9 měsíců) a nakonec u IgM (kolem 12 měsíců, mnohdy i déle). Protilátky IgG začínají stoupat o trochu později, maximálně dosahují 4 - 5 měsíců od nákazy, následně se udržují ve vyšších stabilních hladinách s následným pozvolným sestupem. Ve formě anamnestických protilátek pak perzistují v organismu většinou doživotně. Kopírují obvykle vývoj celkových protilátek.

Problémem v diagnostice může být falešně pozitivní, respektive nespecifická pozitivita výsledků, která může být způsobena faktory vnějšími (např. citlivostí zpracování a standardizačních přístrojů) nebo vnitřními, nejčastěji souvisejícími s imunitním nastavením organismu. Nespecificity vidáme zejména u akutních markerů infekce (IgM, IgA, IgE). Mnohdy se v klinické praxi setkáváme se situací, kdy protilátky, zejména třídy IgM, perzistují v nízké hladině dlouhodoběji (i několik let po primoinfekci), aniž to značí aktivitu infekce a ve skutečnosti již jde o latentní fázi toxoplazmózy.

MUDr. Hana Štroblová

• **Přeanalytická fáze při testování komplementu** - komplement je složitou soustavou kaskádovitě reagujících proteinů a jejich kofaktorů, ke kterým patří i různé aktivátory a inhibitory. Naše laboratoře nabízejí několik vyšetření dotýkajících se soustavy komplementu. Jednak stanovení hmotnostní koncentrace C3 a C4 složek komplementu a C1 inhibitoru a jednak funkční test aktivity komplementu při jeho aktivaci tzv. klasickou dráhou (CH50). Právě tento test ale vyžaduje rychlé zpracování odebrané srážlivé krve (do 2 hodin od odběru!), takže pokud požadujete toto stanovení, důrazně doporučujeme odběr pacienta v některé z našich odběrových místností. Jejich kompletní seznam najdete na <http://zlinskelaboratore.cz> nebo na našich žádankách. Jen tak můžeme garantovat správný výsledek vyšetření, nezatížený falešně sníženou hodnotou aktivity komplementu.

• Výrobce reagentů Roche, který je dodavatelem i pro laboratoře Imalab a MZ-Biochem, nás informoval o **prokázání interference terapeutických hladin sulfasalazinu a sulfapyridinu u stanovení ALT a AST**. Tato interference je pravděpodobně zapříčiněna vysokou absorpcí sulfasalazinu a sulfapyridinu při 340 nm, která je také měřicí vlnovou délkou u těchto testů.

Při testování se 754  $\mu\text{mol/l}$  sulfasalazinu nebo 1,2  $\text{mmol/l}$  sulfapyridinu bylo prokázáno falešné snížení hodnot ALT až o 70% a AST až o 30%.

#### V případě jakýchkoliv dotazů kontaktujte:

RNDr. Václava Malínka 602 542 214

Mgr. Janu Janatovou 601 575 236

#### Použitá literatura:

1) Kodym P, Malý M, Švandová M, Ležatková H, Bažoutová M, Vlčková J, Beneš Č, Zástěra M. Toxoplasmosis in the Czech Republic 1923 - 1999: First case to widespread outbreak. In: Petersen E, Pollak A., ReiterOwona I. (eds.): Recent trends in research on congenital toxoplasmosis. International Journal for Parasitology 2001; 31:125-132

2) Kodym P, Geleňky M. Prevence, diagnostika a léčba toxoplazmózy v graviditě. Actual Gyn. 2012;4:31-38

## Fekální kalprotektin v diagnostice nespecifických střevních zánětů

### Kalprotektin ve stolici je ideální screeningový test na přítomnost organického poškození tenkého a tlustého střeva (záněty, Crohnova choroba aj.)

Kalprotektin je 35 kDa Ca<sup>2+</sup> a Zn<sup>2+</sup> vázající protein,

- produkován neutrofilů, monocytů a makrofágů
- má více než 60% podíl na cytosolových proteinech neutrofilů
- před provedením odběru není potřebná dieta
- výhodný u osob s předpokládaným vyšším rizikem endoskopického vyšetření (děti, senioři, přidružené choroby)
- odhalí riziko IBD u pacientů ještě před manifestací klinických obtíží
- potenciální využití – marker pro monitorování nových terapeutických režimů
- výrazná antimikrobiální a protinádorová aktivita

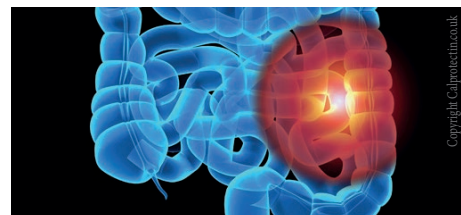
Fekální kalprotektin neboli kalprotektin ve stolici je moderní a lékařům mimo gastroenterologii jen málo známé vyšetření. Jeho význam nicméně postupně narůstá a zdá se, že ovlivní vyšetřovací a terapeutické postupy neinfekčních střevních zánětů. Už proto je vhodné o něm něco vědět.

**Princip:** Vyšetření fekálního kalprotektinu je typem laboratorního **vyšetření stolice**. Fekální kalprotektin je bílkovina, která se nachází v bílých krvinkách. Zcela logicky pak z koncentrace kalprotektinu ve stolici odhadujeme přítomnost a tíži zánětu ve stěně střeva. **Čím vyšší hodnota kalprotektinu, tím více bílýchrvinek ve střešní stěně a tím rozsáhlejší zánět.**

**Využití:** Vyšetření fekálního kalprotektinu má význam v diagnostice neinfekčních střevních zánětů jako je Crohnova nemoc a ulcerózní kolitida. Má-li člověk trávící potíže, provedeme vyšetření kalprotektinu a při normální hodnotě stav spíše uzavíráme jako funkční potíže (např. dráždivý tračník). Při zvýšené hodnotě vzniká podezření na zánět a je doporučena kolonoskopie a jiná klinická vyšetření. Vyšetření kalprotektinu nás ovšem informuje i o odpovědi zánětů na léčbu a ukázalo se, že ze zvýšení množství fekálního kalprotektinu (u pacienta s Crohnovou nemocí či ulcerózní kolitidou v klidové formě) můžeme odvodit nadcházející vzplanutí choroby.

**Nevýhody:** Jde o vyšetření nepřímé, které může být **falešně pozitivní** – zvýšený kalprotektin může být i u dalších nemocí jako je rakovina tlustého střeva, nebo infekční záněty střev. Není to až tak špatné, prostě si musíme uvědomit, že zvýšená hladina kalprotektinu nám říká, že je v trávicím systému něco špatně, ale nemůžeme zcela spolehlivě říci, co. Další nevýhodou je menší dostupnost. Prozatím se přeci jen jedná o novinku, která si musí v lékařské praxi teprve najít své místo.

**Výhody:** Hlavní výhodou je **neinvasivnost vyšetření**, potřebujeme jen vzorek stolice. Tato vyšetřovací metoda se může stát velice užitečnou v diagnostice a monitorování neinfekčních střevních zánětů u pacientů, kteří odmítají kolonoskopii nebo mají kontraindikace k provádění invazivního vyšetření.



### Hodnocení vyšetření:

**Normální hodnoty pod 50  $\mu\text{g/g}$ :** Hodnoty pod 50  $\mu\text{g/g}$  nesvědčí pro zánět GIT. U pacientů s nízkými hladinami pravděpodobně není potřebný invazivní zákrok ke stanovení příčiny zánětu.

**Zvýšené hodnoty mezi 50 - 200  $\mu\text{g/g}$ :** Hodnoty mezi 50 a 200  $\mu\text{g/g}$  mohou značit mírné organické onemocnění stejně jako zánět způsobený NSAID, mírnou divertikulitidou a IBD ve fázi remise. Lze doporučit opakování měření a provedení dalších vyšetření.

**Zvýšené hodnoty nad 200  $\mu\text{g/g}$ :** Hodnoty nad 200  $\mu\text{g/g}$  ukazují aktivní organické onemocnění se zánětem v GIT. Jsou doporučena příslušná další vyšetření a léčba.

Hladina cut-off doporučená pro dospělé (50  $\mu\text{g/g}$ ) může být použita také u dětí od 4 do 17 let bez ohledu na pohlaví.

**CAVE:** Autoimunitní choroba musí mít klinické příznaky, samotná přítomnost autoprotilátek nikdy! nestanoví diagnózu.

MUDr. Světlana Chrenovská



# Preanalytické požiadavky na biochemické markery screeningu VVV

**Dodrzenie preanalytických podmienok biochemických markerů, stejně jako přesné vyplnění nezbytných údajů na žádance, hraje významnou úlohu ve správném vyhodnocení screeningu VVV, ať už je to v 1. nebo v 2. trimestru těhotenství.**

Mezi doporučené biochemické markery 1. trimestru patří: PAPP-A, volný  $\beta$  hCG (optimální odběr 10+0 až 13+6 týden těhotenství), placentární růstový faktor PIGF (optimální odběr 11+0 až 13+6 týden těhotenství).

Doporučené laboratorní markery 2. trimestru jsou: hCG, AFP, uE3, (optimální odběr 15. až 17. týden těhotenství).

Stabilita séra (plazmy) pro jednotlivé markery je uvedená v Tab. 1. Jak je patrné z uvedené tabulky, mezi nejméně stabilní analyty patří zejména volný  $\beta$  hCG a volný estriol uE3. Stabilita markerů je ovlivněna zejména co nejrychlejší separací séra (plazmy), teplotou transportu a skladováním vzorku. Nedodrzenie těchto základních podmínek může vést k falešně pozitivním výsledkům. Příkladem mohou být zvýšené hodnoty volného  $\beta$  hCG, které jsou asociované s Downovým syndromem a preeklampií. Nizký volný estriol, který slouží pro monitorování funkce fetoplacentární jednotky může svědčit o nitroděložní tísní plodu při DS nebo Smith-Lemli-Opitzově syndromu.

Na našich odběrových pracovištích, stejně jako v laboratoři, se snažíme o minimalizaci chyb v preanalytické fázi, které tvoří obecně 50-80% všech laboratorních chyb. Stejně tak se snažíme o co největší informovanost odběrových sester a spolupracujících ambulantních lékařů v oblasti prenatalního screeningu, což může v mnoha případech předejít závažným problémům v těhotenství, příp. po porodu. Věříme, že vzájemnou spoluprací a hlavně komunikací mezi lékařem a laboratoří můžeme i nadále zlepšovat naše služby a přispět tak ke zvýšení kvality péče o nastávající maminky.

RNDr. Andrea Dolinová

Tabulka 1. Preanalytické požiadavky

Analyt	Odebíraný materiál (*)	Stabilita séra (plazmy) +20 až 25°C	Stabilita séra (plazmy) při +4 až 8°C	Stabilita séra (plazmy) při -20°C	Změna hladiny při nedodrzení preanalytiky
Volný $\beta$ hCG	plná krev	6 h	1 d	1 r	↑↑
hCG	plná krev	12 h	3 d	1 r	-
AFP	plná krev	12 h	7 d	1 r	-
Vol. estriol (uE3)	plná krev	6 h	1 d	1 r	↓↓
PAPP-A	plná krev	12 h	3 d	1 r	-
PIGF	plná krev	12 h	1 d	1 r	-

\*) Vlastní stanovení se provádí v krevním séru nebo plazmě.

Plnou krev je vhodné doručit do laboratoře do 3 h po odběru, nejpозději však do 8 h. Po odběru je potřeba co nejdříve separovat sérum pro stanovení volného  $\beta$  hCG a uE3.



## Antifosfolipidový syndrom (APS), antifosfolipidové protilátky (APLA)

**Tento syndrom je charakterizovaný přítomností arteriálních alebo venózných trombóz, opakovane predčasne ukončenými graviditami, trombocytopeniou a výskytom antifosfolipidových protilátok (APLA) v plazme. Prevalencia APS v populácii sa odhaduje na 2-4 %. APS môže byť primárny, t.j. vznikajúci bez známej príčiny alebo sekundárny, ktorý sa môže vyskytovať pri rôznych ochoreniach (tab. 1).**

Tab. 1 Choroby spojené s výskytom antifosfolipidových protilátok

<b>Infekčné ochorenia:</b>	- malária - spirochétove infekcie (leus, lepra) - mykoplazmové infekcie, tuberkulóza, rickettsiálne infekcie, lymská borelióza - vírusové ochorenia (vírusy hepatitíd, EBV, CMV, HIV)
<b>Autoimunitné ochorenia:</b>	- systémové ochorenia spojiva (SLE, reumatoidná artritída, sklerodermia, Sjögrenov syndrom, vaskulitída)
<b>Nádorové ochorenia:</b>	- tymómy - karcinómy (plúca, ovária, maternica, prostata, obličky) - hematologické malignity (lymfómy, myeloproliferatívne ochorenia, leukémie, Walden-strömova makroglobulinémia)
<b>Iné stavy:</b>	- zlyhanie obličiek

Pri APS telo produkuje protilátky proti fosfolipidom, pričom dochádza k ich interferencii s procesmi zrážania krvi. Antifosfolipidové protilátky sú heterogennou skupinou autoprotilátok izotopu IgA, IgG a IgM.

U kardiolipínu ako prvého bola popísaná asociácia s imunopatologickými stavmi. Nenachádza sa v membráne trombocytov a nie je ani súčasťou koagulačnej kaskády. Medzi fosfolipidy, ktoré sú súčasťou trombocytárnej membrány patria fosfatidylcholín (50-60 %), fosfatidyletanolamín (20-30 %), fosfatidylserín (10-15 %) a fosfatidylinozitol (asi 5%). Bolo zistené, že tzv. trombofilné antifosfolipidové protilátky, ktoré sú schopné vyvolať vznik cievej trombózy potrebujú k naviazaniu na fosfolipidy proteiny, ktoré sa označujú ako kofaktory, ktorými sú  $\beta$ -2-glykoproteín I, annexin V,

protrombin, trombomodulín, proteín C a S. Aj proti týmto kofaktorom existujú protilátky. **Pozícia kardiolipinových protilátok (ACLA) ako „zlatého štandardu“ pre stanovenie APLA je pomaly prekonávaná. Vyšetrením ACLA nedostaneme odpoveď na otázku, či ide o kofaktor-depedentné (patologické) protilátky alebo nie. Na základe štúdií sa zistilo, že v prípade recidivujúcich potratov u chorých s APS nebolo stanovením protilátok proti kardiolipínu zachytených dokonca až 91 % pacientov, v porovnaní so stanovením protilátok proti jednotlivým fosfolipidom, kedy sa záchyt pacientov výrazne zvýšil.**

### Anti-kardiolipín IgA/IgG/IgM (ACLA)

Tieto protilátky sú v organizme prítomné buď prechodne hlavne pri infekčných najmä vírusových alebo trvale pri autoimunitných ochoreniach (SLE, APS). V prípade positivity ACLA sa doporučuje doplniť vyšetrenie stanovením protilátok proti iným fosfolipidom. Medzi ochorenia, ktoré sú spojené s prítomnosťou ACLA patria aj arteriálne a venózne trombózy, opakované potraty, spomalenie rastu plodu, mozgové infarkty a infarkty myokardu u mladších pacientov, trombocytopenia, autoimunitná hemolytická anémia. Protilátky IgM majú najmenší klinický význam, zvýšená hladina IgG protilátok koreluje s rôznymi komplikáciami ochorenia a protilátky IgA majú vyššiu preukázanú hodnotu pri trombocytopenii ako protilátky IgG a IgM.

### Anti- $\beta$ -2-glykoproteín I IgG/IgM (GPI)

GPI je jednoreťazový plazmatický proteín, ktorý patrí do skupiny komplement kontrolujúcich proteínov. Vázbou s fosfolipidmi vytvára antigénne miesto pre antifosfolipidové protilátky. Stanovenie GPI protilátok doplnia diagnostiku APS a zároveň umožňuje lepšie a včas odhaliť nebezpečné autoprotilátky a tým teda aj hroziace riziko klinických komplikácií. Špecifita GPI protilátok IgG aj IgM pri diagnostike APS je až 98 %.

### Anti-fosfatidylserín IgG/IgM

Tieto protilátky sú relevantnejšie v patogenéze APS ako ACLA protilátky. V prípade suspektného APS a negativity protilátok ACLA sa obzvlášť odporúča vyšetrenie protilátok proti fosfatidylserínu. Stanovenie týchto protilátok umožňuje posúdenie rizika trombózy či potratu u pacientov so SLE alebo kolagenózou. Protilátky IgG aj IgM majú vysokú špecifitu pre diagnostiku APS (IgG 96 % a IgM 98 %).

### Anti-protrombín IgG/IgM

Ich pozitivita poukazuje na antifosfolipidový syndrom. Vyšetrenie týchto protilátok sa uskutočňuje pri podozrení na APS a pri negatívite protilátok proti ACLA. Stanovenie protilátok proti protrombínu umožňuje aj posúdenie rizika trombózy u vysokorizikových pacientov ako sú pacienti so SLE alebo sklerodermiou. Špecifita protilátok IgM pre APS je 98,7 % a pre IgG 97,3 %.

### Anti-fosfatidylinozitol IgG/IgM

Fosfatidylinozitol je fosfolipid, ktorý sa vyskytuje v bunkových membránach. Protilátky proti tomuto fosfolipidu sa vyskytujú spoločne s protilátkami proti ACLA a fosfatidylserínu. Veľký význam majú tieto protilátky u mladších pacientov s mozgovou ischémiou nejasného pôvodu, u ktorých sa vyskytujú v najväčšom zastúpení. Ich špecifita pre APS je IgG 96 % a IgM 97,3 %.

### Anti-Annexin V IgG/IgM

Annexin V je proteín, ktorého význam spočíva v inhibícii fosfolipid-dependentnej koagulačnej kaskády krvi. V prítomnosti vápnika sa silne a špecificky viaže na fosfatidylserín. Annexin V zohráva dôležitú tromboomodulačnú funkciu v placetárnej cirkulácii a pri apoptóze. Protilátky proti Annexínu V sa vyskytujú u pacientov s APS, SLE, inými kolagenózami, ale aj u pacientov s reumatoidnou artritídou. Tieto protilátky majú aj význam v patogenéze tehotenstva. Ich pozitivita sa môže vyskytovať aj pri negatívite ACLA protilátok. Pre komplexnú diagnostiku APS sa odporúča stanovenie protilátok proti Annexínu V súčasne s protilátkami proti ACLA, GPI a protrombínu. Naše imunologické laboratórium poskytuje v ponuke všetky hore uvedené antifosfolipidové protilátky.

RNDr. Pavol Bologna

# Komponentová diagnostika v alergológii

Poznatky o molekulárnej štruktúre alergénov určujú nové trendy v diagnostike a liečbe alergických ochorení. Alergéni sú definované prevažne ako látky proteínového alebo glykoproteínového charakteru. Alergénmi však môžu byť aj látky nebielkovinového charakteru, ako sú sacharidy, lipidy a anorganické látky. Výskumom molekulovej podstaty alergénov rozličných fylogeneticky vzdialených druhov rastlín a zvierat sa zistilo, že veľké množstvo alergénových molekúl má spoločné viaceré štruktúry. Prevažne ide o aminokyselinové sekvencie a ich sekundárne štruktúry, ktoré sú rozpoznávané T-lymfocytovými a B-lymfocytovými epitopmi. Taktiež boli identifikované aj bočné oligosacharidové retazce alergénových komponentov, ktoré ovplyvňujú ich reakciu s lektínovým receptorom prezentujúcich buniek (APC).

Z klinického hľadiska alergény delíme na hlavné a vedľajšie. Medzi alergénmi môže dochádzať k skřízenej reaktivite, ktorá závisí od ich chemického zloženia a biologickkej funkcie. Pri natívnych proteínoch môžu ich peptidové epitopy vykazovať veľkú variabilitu v závislosti od rozdielov v aminokyselinových sekvenciách. Práve pre túto variabilitu je nepravdepodobné, že by dochádzalo k skřízenej reakcii medzi nehomologickými proteínmi, alebo medzi podobnými proteínmi pochádzajúcimi z veľmi vzdialených príbuzných druhov. Rovnakú variabilitu aká je u peptidových epitopov nevykazujú sacharidové epitopy. Z tohto dôvodu je bežná skřízená reakcia medzi nehomologickými alergénmi a to dokonca aj medzi veľmi vzdialenými nepříbuznými druhmi (napr. medzi rastlinami a bodavým hmyzom). Veľmi jednoduchú štruktúru podobnú celému radu príbuzných i vzdialených rastlinných epitopov majú sekvencie aminokyselín profilínu. Preto špecifické protilátky proti profilínu v triede IgE vykazujú vysoký stupeň skřízenej reaktivity na rôzne druhy rastlinnej potravy.

Alergénové komponenty delíme na dve veľké skupiny. Prvú skupinu predstavujú tzv. natívne komponenty označené symbolom „n“, ktoré sú buď rastlinného alebo živočíšneho pôvodu. Do druhej skupiny patria synteticky pripravené komponenty označené symbolom „a“.

**V súčasnosti môžeme alergénové komponenty rozdeliť do nasledujúcich proteínových skupín:**

- PR-10 proteíny
- nešpecifické proteíny pre prenos lipidov (nsLTPs)
- profilíny
- zásobné proteíny
- krížovo reagujúce karbohydrátové determinanty (CCD)

## PR-10 proteíny (pathogenesis-related protein 10)

Sú to tepelne labilné proteíny, ktoré sú primárne lokalizované v dužine ovocia. Potravinu, ktoré ich obsahujú sú po varení a tepelnej úprave tolerované. Najčastejším lokálnym klinickým prejavom je orálny alergický syndróm. Bežné alergické reakcie na ovocie a zeleninu sú najčastejšie u obyvateľov severnej Európy. Hlavnou alergénovou komponentou tejto skupiny je komponenta Bet v 1, ktorá sa vyskytuje v peľoch brezy. Proteíny homologické s Bet v 1 sú veľmi rozšírené v rastlinnej ríši. S tohto dôvodu u pacientov s alergiou na peľ brezy je často pozorovaná potravinová alergia, ktorá sa dá vysvetliť práve skřízenou reagujúcimi protilátkami na homologické proteíny s Bet v 1 v rôznych potravinách. V južnej Európe kde sa breza vyskytuje zriedkavo, alebo vôbec, sa pozitívita v testoch na brezu dokazuje precítnosťou na homology Bet v 1 v iných stromoch (jeľša, lieska, hrab, buk a gaštan), prípadne senzibilizáciou na ďalšie peľové alergény ako je napr. homolog Bet v 2 v trave a burine (pleveľoch). 50 až 90 % alergikov na peľ brezy má aj potravinovú alergiu, ktorá úzko súvisí s orálnym alergickým syndrómom pri zjedení lieskových orechov, jablák, broskyne, čerešne. Klinicky sa citlivosť môže vyskytnúť aj pri konzumácii iných potravín (zeler, mrkva, sója, arašid). Tepelnou úpravou sa nič len trojrozmerná molekulárna štruktúra, ktorá je dôležitá pre väzbu na IgE molekuly pri akútnej alergickej reakcii. Táto zmena nemá vplyv na lineárne peptidy, ktoré sú dôležité pre oneskorenú fázu bunkových reakcií. Tento mechani-

zmus vysvetľuje, prečo sú hladiny IgE protilátok na peľové alergény vysoké aj mimo peľovej sezóny.

## Nešpecifické proteíny pre prenos lipidov, nsLTPs (non-specific lipid transfer proteins)



Tieto proteíny sú veľmi stabilné malé molekuly, ktoré sa nachádzajú v rastlinách. Primárne sú lokalizované v šupkách ovocia a zeleniny. Sú stabilné voči teplote ale aj tráviacim enzýmom. Alergickú reakciu môže vyvolať aj konzumácia spracovanej varenej stavy. Hlavne v južnej Európe vyvolávajú alergickú reakciu na ovocie a zeleninu. Často však môžu vyvolať závažné systémové reakcie. Primárne LTP alergia bola popísaná na broskyne, čerešne a jablák, ale tiež aj na lieskových orechoch. Závažné klinické symptómy na báze IgE protilátok proti nsLTPs boli popísané aj u potravín, medzi ktorými sa zatiaľ nenašla žiadna súvislosť (napr. kukurica, arašidy, jačmeň, hrozno, kapusta a ďalšie). Vzhľadom na svoju odolnosť voči tráviacim enzýmom je dôležitou charakteristikou nsLTP to, že ich molekuly nie sú poškodené alebo deštruované a teda sú imunologicky funkčné v tráviacom trakte a môžu tak vyvolať závažnú systémovú alergickú reakciu ako anafylaxia, žihľavka, angioedém alebo astmu. Chemická stabilita nsLTP je zodpovedná za to, že pacienti majú prejavy alergie aj po konzumácii spracovanej šťavy, alebo varených potravín. Menej alergických príznakov u pacientov sa môže dosiahnuť konzumáciou ošúpaného ovocia, nakoľko sa primárna alergénová zložka nsLTP vyskytuje v šupke ovocia alebo zeleniny. Riziko klinických príznakov je závislé od koncentrácie IgE protilátok proti nsLTP.

## Profilíny

Sú malé molekuly v cytoplazme jadrových buniek a zapájajú sa do funkcie intracelulárnych fibril buniek. Rastlinné profilíny sú popísané ako malé peľové alergény väčšiny rastlín a alergény potravín, pričom sa vyznačujú veľkou homológiou a krížovou reaktivitou so vzdialenými príbuznými druhmi. V strednej a južnej Európe sa prevalencia profilínovej senzibilizácie pacientov odhaduje na 10 – 35 %. V severnej Európe je skôr raritná. Táto prevalencia sa zvyšuje až na 55 % u pacientov s polyvalentnou peľovou alergiou, v ktorej dominuje peľ tráv. Profilíny sú dôležitou alergénovou zložkou paliny (pelyňku) a ambrosie. V oblasti Stredomorja sú dôležitou zložkou peľu platanu, olivy a cyprusu. Je dokázané, že hladina protilátok proti profilínom v sére pacientov koreluje s klinickými príznakmi. Pri niektorých potravinových alergiách bola zistená vysoká prevalencia senzibilizácie (napr. alergia na zemiak, mrkvu, zeler, pohánku, papriku, melón, banán, citrusové plody a paradajky).

## Zásobné proteíny

Prestavujú heterogénnu skupinu proteínov, ktorú delíme na dve rôzne podskupiny, a to cupíny a prolaminy. Toto rozdelenie je na základe rozdielnej sedimentačnej rýchlosti. Globulíny s 7/8S a 11S patria k cupínom a albumíny s 2S patria zase k prolaminom. Tieto zásobné proteíny sú lokalizované v semenách, orechoch a jadrách. Patria k ich dominantným alergénom. Majú zložité molekulárne štruktúry. Senzibilizácia zásobnými proteínmi je významná pri alergii na arašid, sóju, orechy, rôzne semená a obilniny. Zásobné proteíny sú stabilné voči teplote ale aj voči tráviacim enzýmom. IgE senzibilizácia je považovaná za významný rizikový marker závažných systémových reakcií. Skřízená reaktivita sa často zvyšuje s vekom pacienta. U viac ako polovice alergikov na arašid bola popísaná senzibilizácia aj na orechy. U ľudí s alergiou na arašid od detstva je riziko klinických príznakov závislé od hladiny špecifických IgE protilátok. V poslednej dobe sa rozsiahlymi štúdiami dokázalo, že u pacientov s alergiou na arašid prevažovala komponenta Ara h 2 a menej bola zastúpená komponenta Ara h 1 a Ara h 3. Neexistuje žiadny vzájomný vzťah medzi senzibilizáciou na zásobné proteíny a peľovou senzibilizáciou.

## Krížovo reagujúce karbohydrátové determinanty (Cross-reactive Carbohydrate Determinant), CCD

Jedná sa o glykoproteíny vyskytujúce sa v rastlinách a bezstavovcoch. Vo svojej molekule nesú sacharidy s uhľovodíkovými determinantami, ktoré neexistujú u cicavcov. Tieto determinanty sú pre človeka cudzími epitopami a preto sú vysoko imunogénne, čím môžu vyvolať tvorbu špecifických IgE protilátok. Na základe väzby sacharidu na proteín delíme tieto glykoproteíny na N-glykoproteíny, O-glykoproteíny, C-glykoproteíny a fosfoglykoproteíny. Najviac sú preskúmané dva uhľovodíkové determinanty - na fruktózu alebo xylózu viazaný N-glykán, ktorý sa vyskytuje u rastlín a bezstavovcov, ale sa nenachádza u cicavcov, čo vysvetľuje vysoký stupeň skřízených reakcií. Špecifické IgE protilátky proti nim sa označujú ako anti-CCD. Senzibilizácia proti CCD je veľmi málo a zriedkavo spojená s klinickými príznakmi. U veľmi malého percenta pacientov môže dôjsť k závažnej alergickej reakcii (pacienti s alergiou na zeler, paradajku, cuketu). Dôležitým faktorom pre klinický význam protilátok IgE CCD je, či sú alergénové komponenty monovalentné alebo polyvalentné. Ak je alergénová komponenta monovalentná nemôže nastať tzv. premostenie anti-IgE CCD viazaných na žímoch bunkách. Ak však ide o polyvalentnú komponentu pri ktorej existuje IgE odpoveď na iné proteínové determinaty, tak môže dôjsť k premosteniu a uvoľneniu histamínu a tým teda aj k vzniku klinických príznakov.

Spoločnosť Imalab s.r.o. Zlín ponúka v rámci diagnostiky alergií širokú paletu monokomponentov, ktorých stanovuje na analyzátoře Phadia ImmunoCAP. Ich zoznam nájdete na Žiadankách na alergologické vyšetrenie alebo na stránkach Imalab ([http://www.imalab.cz/images/file/Alergenove\\_komponenty.pdf](http://www.imalab.cz/images/file/Alergenove_komponenty.pdf)). Na týchto stránkach nájdete taktiež Tabuľku skřízených reakcií s kompletným zoznamom alergénových komponentov ponúknutých firmou Phadia, vrátane ďalších informácií o alergénových rodinách a klinickom význame niektorých alergénových komponentov (viz [http://www.imalab.cz/images/file/ImmunoCAP\\_X-reactMap.pdf](http://www.imalab.cz/images/file/ImmunoCAP_X-reactMap.pdf)).

RNRD. Pavol Bologna