

**UNIVERZITA KOMENKÉHO  
JESSENIOVA LEKÁRSKA FAKULTA**

**Daniela Kantárová**

**ZÁKLADNÉ PRINCÍPY  
DIAGNOSTIKY A LIEČBY  
AUTOIMUNITNÝCH CHORÔB**

**(Vysokoškolské skriptá)**

**Martin 2018**

**Recenzenti:**

Prof. MUDr. Peter Galajda, CSc.

Doc. MUDr. Vít Petrů, CSc.

**ZÁKLADNÉ PRINCÍPY  
DIAGNOSTIKY A LIEČBY  
AUTOIMUNITNÝCH CHORÔB**

Daniela Kantárová

Vydavateľ: Univerzita Komenského, Jesseniova lekárska fakulta

© MUDr. Daniela Kantárová, PhD.

Prvé vydanie

ISBN 978-80-8187-046-0

# **OBSAH**

## **ÚVOD**

### **1 DIAGNOSTIKA AUTOIMUNITNÝCH CHORÔB**

#### **1.1 ANAMNÉZA**

- 1.1.1 Anamnéza terajšieho ochorenia
- 1.1.2 Osobná anamnéza
- 1.1.3 Rodinná anamnéza
- 1.1.4 Pracovná a sociálna anamnéza

#### **1.2 OBJEKTÍVNE (FYZIKÁLNE) VYŠETRENIE**

- 1.2.1 Vyšetrenie lymfatických uzlín
- 1.2.2 Vyšetrenie sleziny
- 1.2.3 Vyšetrenie tonzíl a apendixu

### **2 VYŠETROVACIE METÓDY**

#### **2.1 IMUNOLOGICKÉ LABORATÓRNE VYŠETRENIA**

#### **2.2 OSTATNÉ POMOCNÉ VYŠETRENIA**

- 2.2.1 Histologické vyšetrenie
- 2.2.2 Sérologické vyšetrenie
- 2.2.3 Hematologické vyšetrenie
- 2.2.4 Biochemické vyšetrenia
- 2.2.5 Zobrazovacie metódy
- 2.2.6 Ďalšie vyšetrenia

### **3 PRINCÍPY TERAPIE AUTOIMUNITNÝCH CHORÔB**

#### **3.1 KORTIKOIDY**

#### **3.2 ANTIPROLIFERAČNÉ LÁTKY**

- 3.2.1 Metotrexát
- 3.2.2 Tiopuríny
- 3.2.3 Mykofenolát mofetil
- 3.2.4 Cyklofosfamid

#### **3.3 KALCINEURÍNOVÉ INHIBÍTORY**

- 3.3.1 Cyklosporín A
- 3.3.2 Tacrolimus

#### **3.4 mTOR INHIBÍTORY**

#### **3.5 BIOLOGICKÁ LIEČBA**

- 3.5.1 Monoklonové protilátky a fúzne proteíny
- 3.5.2 Intravenózne imunoglobulíny
- 3.5.3 Polyklonové protilátky

#### **3.6 IMUNOMODULAČNÁ LIEČBA PRI AUTOIMUNITNÝCH CHOROBAČH**

# ÚVOD

Imunitný systém je mimoriadne komplexným a zložitým „orgánom“, ktorého fungovanie už dávno nemôže byť vnímané len v zmysle ochrany pred infekciami. Najmä vo vyspelých krajinách v posledných rokoch pozorujeme výrazný nárast chorôb, ktorých podkladom je práve porucha fungovania imunitného systému – nie však v zmysle nárastu infekčných chorôb (ako to ešte stále môžeme pozorovať v rozvojových krajinách), ale zlyhania imunitného dohľadu v podobe imunodeficientných stavov a nádorových ochorení, resp. naopak premrštenej reakcie imunitného systému na vonkajšie podnety (alergické choroby) alebo dokonca na telu vlastné molekuly (autoimunitné choroby).

Práve posledné menované sa v ostatných rokoch dostávajú na popredné priečky morbidity a mortality (u žien v strednom veku už zaberajú tretiu priečku hneď za srdcovo-cievnyimi chorobami a malignitami). Autoimunitný proces – teda reakcia organizmu voči vlastnému tkanivu – môže pritom postihovať ktorýkoľvek orgán alebo tkanivo, ale tiež celý organizmus bez orgánovej špecificity. Vo všeobecnosti je veľkým úskalím diagnostiky autoimunitných chorôb ich mimoriadne nešpecifický klinický obraz s postupným nenápadným začiatkom a často viac rokov trvajúcim obdobím, kedy pacient navštevuje viacero odborných ambulancií bez stanovenia správnej diagnózy. Nápomocné v tomto procese sú najmä imunologické laboratórne vyšetrenia – v texte popisujeme vyšetrovacie metódy využívané vo viacerých odboroch medicíny práve s ohľadom na možnosti ich využitia pri diagnostike autoimunitných chorôb. Rovnako sa venujeme princípom imunosupresívnej liečby, ktorá je jedinou kauzálnou liečbou autoimunitných chorôb a ktorá v posledných rokoch zažíva nebývalý rozmach.

Predkladaným rukopisom chceme teda prispieť k lepšiemu poznaniu princípov diagnostiky a liečby autoimunitných chorôb medzi študentmi lekárskeho fakult s cieľom skvalitniť tak diagnostický, ako aj terapeutický proces v každodennej praxi.

# 1 DIAGNOSTIKA AUTOIMUNITNÝCH CHORÔB

Klinická symptomatológia autoimunitných chorôb je podmienená konkrétnym prebiehajúcim imunopatologickým mechanizmom v závislosti od konkrétneho orgánu (alebo orgánov), ktorý sa stal miestom samotnej autoimunitnej reakcie alebo ukladania imunokomplexov. Ich diagnostika spočíva v rozbere anamnézy, klinických príznakov, objektívneho nálezu, výsledkov vyšetrovacích metód (tak imunologických, ako aj ďalších pomocných). Samotný klinický obraz vedie totiž väčšinou len k podozreniu na autoimunitnú chorobu a vlastná diagnóza závisí na potvrdení laboratórnymi a ďalšími doplňujúcimi vyšetreniami.

Pri určovaní definitívnej diagnózy rozoznávame z hľadiska postupu diagnózu vstupnú, s ktorou chorého poslal k nám na vyšetrenie iný lekár; na ňu nadväzuje diagnóza pracovná, ktorá vychádza z našej anamnézy a fyzikálneho vyšetrenia. Konečná diagnóza je potom výsledkom kritického posúdenia všetkých získaných nálezov – ich konečnou syntézou.

## 1.1 ANAMNÉZA

Anamnéza (*gr. anamnesis* – rozpamätávanie sa) je súbor všetkých informácií o zdravotnom stave pacienta od jeho narodenia až do súčasnosti, ktoré lekár získal počas rozhovoru s ním (anamnéza priama, direktná), príp. s jeho príbuzným alebo sprievodcom (anamnéza nepriama, indirektná). Pritom iba podrobný a aj pri ďalších návštevách opakovane vykonávaný rozbor odpovedí na širokú paletu otázok umožní lekárovi zložiť z nich mozaiku, od ktorej sa následne odvinie ďalší adekvátny diagnostický (a následne aj terapeutický) postup. Vždy je ale pritom nevyhnutné si uvedomiť, že každá imunopatologicky podmienená choroba je systémovým ochorením, ktoré sa môže prejavovať len na jednom alebo naopak na viacerých orgánoch, v dôsledku čoho musíme každého vyšetrovaného jedinca posudzovať vždy komplexne.

Fyzikálne vyšetrenie vrátane anamnézy sa v klinickej imunológii a alergológii výraznejšie nelíši od bežného interného vyšetrenia. U niektorých imunopatogeneticky podmienených chorôb kvalitná, podrobná a do detailov idúca anamnéza už sama osebe umožňuje stanovenie

správnej konečnej diagnózy a väčšina ďalších vyšetrení je robená iba pre jej definitívne potvrdenie (platí to predovšetkým pre choroby s precitlivosťou I. typu voči peľovým a hmyzím alergénom). U autoimunitných chorôb je však skôr pravidlom, že fyzikálne vyšetrenie (t. zn. anamnéza a objektívne vyšetrenie) musí byť v rámci diferenciálnej diagnostiky doplnené laboratórnymi a ďalšími pomocnými vyšetreniami (imunologickými, biochemickými, hematologickými, sérologickými, histologickými, röntgenovými a inými).

Anamnéza tvorí vždy jeden celok. Jej členenie (terajšie ochorenie, osobná, rodinná, pracovná a sociálna, príp. ďalšie) je dôležité predovšetkým pre šandardizáciu komunikácie s pacientom, pre prehľadnosť jej záznamu a v neposlednom rade má aj didaktický význam. V žiadnom prípade však toto členenie nie je možné chápať ako dogmu. Tak, ako pre väčšinu alergických chorôb a imunodeficiencií, aj pre autoimunitné choroby, s ktorými pacienti prichádzajú do ambulancie klinického imunológa a alergológa, platí, že nepredstavujú urgentné situácie. Z tohto dôvodu nie je preto ani u nich rozhodujúce poradie jednotlivých zložiek anamnézy a súbor otázok viažucich sa k terajšiemu ochoreniu, s ktorým pacient prichádza, môže podľa potreby v konkrétnom prípade nasledovať až po rozbere jeho predchorobia, resp. odber jednotlivých zložiek anamnézy sa môže vzájomne prelínať a priebežne doplňovať. V písomnom zázname však anamnéza spravidla začína „terajším ochorením“. Toto označenie je pritom považované za terminus technicus, keďže „terajšie ochorenie“ môžu predstavovať aj chronické obtiaže, ak sú dôvodom vyhľadania lekárskej pomoci. Menej častým je preto tiež v tejto súvislosti v našej novšej literatúre zaužívaný termín anamnéza „momentálneho ochorenia“.

Vždy je tiež potrebné mať na pamäti, že počas anamnestického rozhovoru vzniká a začína sa formovať vzťah medzi lekárom a pacientom. Pri opakovaných vyšetreniach sa tento vzťah ďalej rozvíja a upevňuje. Je preto nesmierne dôležité, aby bol tento rozhovor vždy vedený v prívetivom tóne, v klude, bez nervozity a náhlenia. Iba maximálna dôvera, ktorá sa takto vytvorí, môže totiž prispieť k očakávanému diagnostickému a liečebnému výsledku. Z tohto dôvodu je tiež lekár nezastupiteľný – zdravotná sestra, študent medicíny, dotazník, resp. počítačový program môžu síce predpripraviť anamnestické údaje, ale lekár je za každých okolností povinný prehodnotiť, resp. doplniť ich počas vlastného pohovoru.

### 1.1.1 Anamnéza terajšieho ochorenia

Symptomatológia autoimunitných chorôb je nesmierne variabilná a závisí od mnohých okolností, napr. ktorý orgán, resp. orgány sa stali miestom autoimunitnej reakcie, v akom veku pacienta sa choroba manifestuje (autoprotilátky sa v nízkych koncentráciách vyskytujú aj fyziologicky, pričom ich výskyt stúpa s vekom; napr. antinukleové protilátky môžu byť pozitívne u osôb nad 60 rokov až v 20 – 40 %), v závislosti na veku môže byť odlišný aj klinický priebeh jednotlivých nozologických jednotiek, priebeh choroby modifikuje aj komorbidita pacienta a pod.

*Systémové autoimunitné choroby* často začínajú nešpecifickými príznakmi, ako sú únava, polyartralgie, febrilné stavy alebo subfebrílie, váhový úbytok, u detí neprospievanie. Veľmi často je u pacientov s počínajúcou tak systémovou, ako aj orgánovou autoimunitnou chorobou aj niekoľko rokov trvajúca anamnéza recidivujúcich infektov, ktorá je bežnou aj u imunodeficiencií. Širokú paletu týchto príznakov dokumentuje i skutočnosť (a mal by to vedieť aj lekár odoberajúci anamnézu), že prvým prejavom takých klinicky veľmi závažných chorôb ako sú napr. vaskulitídy stredne veľkých (nodózna polyarteritída), ale aj malých ciev (až u 2/3 pacientov s granulomatózou s polyangiitídou, tzv. Wegenerovou, ale aj Churgov-Straussovej syndrómom), či systémovým lupus erythematosus alebo Sjögrenovým syndrómom môžu byť aj očné prejavy (predná uveitída, episkleritída až s náhlými poruchami zrakovej ostrosti, niekedy aj s latenciou napr. po úraze oka – sympatická oftalmia). Aj prejavy chronickej nádchy rezistentnej na liečbu, ktoré často zvykneme v rutinej praxi považovať za „banálne“, môžu predchádzať rozvoj autoimunitnej choroby. *Orgánovo-špecifické choroby* sa však, naopak, môžu prejavovať až v dôsledku poruchy funkcie príslušného postihnutého orgánu (napr. hypotyreózou u tyreoiditíd, metabolickým rozvratom u diabetes mellitus 1. typu a pod.). Vždy však treba mať na pamäti, že aj systémové choroby môžu mať príznaky dominantne lokalizované len na jeden alebo niekoľko málo orgánov a vice versa orgánovo-špecifické autoimunitné choroby sa môžu klinicky dominantne manifestovať príznakmi celkovými.

Ak nie je z iných pomocných vyšetrení (resp. aj zo zdravotnej dokumentácie) možné jednoznačné vysvetlenie príčin, je u všetkých týchto stavov, obzvlášť pri pretrvávajúcej obtiaži, nevyhnutné, aby lekár už v procese odoberania anamnézy začal uvažovať aj o potrebe

imunologického laboratórneho vyšetrenia metódami I. voľby (za účelom vylúčenia eventuálnej autoimunitnej etiológie ochorenia).

Nezriedka je však, najmä v počiatočných fázach autoimunitných chorôb, klinická symptomatológia len veľmi chudobná. Indikáciou k imunologickému vyšetreniu pre podozrenie na autoimunitné ochorenia by preto mali byť tiež niektoré neobvyklé laboratórne nálezy v základných parametroch: napr. nevysvetliteľná zvýšená až vysoká FW, resp. poruchy v krvnom obraze – predovšetkým cytopénie, v hemokoagulačnom vyšetrení – trombofilné stavy, resp. naopak predĺženie aktivovaného protrombínového času (aPTT) a v biochemickom vyšetrení – napr. zvýšená aktivita pečeňových testov a amyláz, či močový nález. Tieto laboratórne nálezy môžu totiž predchádzať klinickým prejavom ochorenia, a preto môžu byť spočiatku len náhodným nálezom pri vyšetrení indikovanom z iných dôvodov (napr. preventívne, resp. predoperačné vyšetrenia, vstupné prehliadky zamestnancov a pod.) alebo môžu byť zistené pri vyšetrení pacienta z dôvodu nešpecifických, klinicky zatiaľ nejednoznačných celkových príznakov.

Na druhej strane však u niektorých vyšetrovaných osôb nie sú vzácnosťou ani odchýlky v spektre základných imunologických parametrov, ktoré sa takmer nijako nelíšia od nálezov u jedincov postihnutých evidentnou chorobou s autoimunitnou imunopatogenézou (v zmysle positivity jednej alebo aj viacerých autoprotílátok, najčastejšie antinukleových, ale napr. aj prítomnosťou zvýšených hodnôt cirkulujúcich imúnnych komplexov, či disproporčnými zmenami v hladinách jednotlivých tried imunoglobulínov). Nakoľko však u týchto osôb chýbajú akékoľvek klinické alebo iné známky (napr. anamnestické), ktoré by svedčili pre možnosť takejto imunopatologickej reakcie podmienenej choroby, používa sa pre takéto stavy označenie **autoimunitný laboratórny syndróm** (môže sa, a to prakticky vždy len prechodne, objaviť tiež počas imunostimulačnej liečby, napr. Isoprinosinom). Vo väčšine prípadov, z ktorých sa nevyvinie klinická manifestácia autoimunitnej choroby, tento autoimunitný laboratórny syndróm vymizne asi do pol roka. Inokedy však môže, naopak, predchádzať klinickému ochoreniu aj mnoho rokov (prognosticky nepriaznivým laboratórnym príznakom je napr. trvalé a postupné zvyšovanie hodnôt imunoglobulínov, zo základných vyšetrení potom stúpanie FW a z klinických príznakov objavenie sa subfebrílií až febrílií a artralgií).



Pri hodnotení zdravotného stavu osoby s autoimunitným laboratórnym syndrómom je teda potrebná veľká opatrnosť, aby nedošlo k jeho chybnej interpretácii v zmysle diagnostiky systémového ochorenia (s následnou snahou o imunosupresívny zásah). Z terapeutického hľadiska a pri posudzovaní pracovnej schopnosti týchto „iba“ laboratórne odchylných jedincov je namieste nielen obvyklá terapia v prípade interkurentných infekcií, ale vhodná je aj pracovná neschopnosť – nebezpečné je prechádzanie (resp. neliečenie) interkurentných infektov a nevyhnutná je aj ich dôkladná kontrola pred návratom do pracovného pomeru.

Podľa priebehu možno imunopatologické choroby rozdeliť na ochorenia, ktoré prebehnú jednorázovo a majú tendenciu k spontánnemu uzdraveniu, a na ochorenia prebiehajúce v atakách a remisiách, ktoré však postupne progredujú, a pokiaľ nie sú liečené (niekedy však aj napriek tomu), obvykle vedú k invalidite postihnutého alebo až k jeho smrti. Do prvej skupiny je možné zaradiť napr. reumatickú horúčku, postinfekčnú glomerulonefritídu; väčšina systémových, ale aj orgánových autoimunitných chorôb však patrí do druhej skupiny s častou nevyhnutnosťou doživotnej liečby.

V rámci anamnézy terajšieho ochorenia nesmie lekár nikdy pozabudnúť na získanie informácií o užívaní liekov tak v súčasnosti, ako aj pred objavením sa príznakov, resp. pred stanovením konečnej diagnózy. Tieto informácie je vždy povinný porovnať tiež s údajmi z pacientovej zdravotnej dokumentácie. Pri podozrení na autoimunitnú chorobu totiž okrem možných prejavov senzibilizácie (alergie), resp. nežiaducich účinkov doteraz užívaných liekov *en bloc*, ktoré je lekár povinný obligatórne zohľadniť pri indikovaní ďalšej liečby, by si mal byť tiež vedomý faktu, že niektoré lieky môžu (resp. mohli) byť v priamej etiologickej súvislosti s chorobou s autoimunitnou etiológiou. Po prvotnom stanovení konečnej diagnózy by mal lekár pacienta oboznámiť nielen s podstatnými aspektami jeho ochorenia (vrátane jeho prognózy), ale aj s možnými nežiaducimi účinkami konkrétnej indikovanej liečby, ako aj s nevyhnutnosťou jej pravidelného užívania. Často sa totiž stáva, že ak je pacient v remisii a dobre sa cíti, tak si imunosupresíva svojvoľne vysadí, čo má nezriedka za následok relaps choroby.

### 1.1.2 Osobná anamnéza

V osobnej anamnéze vlastnej diagnostike autoimunitných chorôb často predchádza rôzne dlhé oligosymptomatické obdobie s neurčitými príznakmi. Väčšinou sa však dá vypátrať nejaký

spúšťací faktor, ako je infekcia alebo stresová situácia, tehotenstvo, prípadne expozícia liekom alebo chemikáliám. Tieto udalosti sa môžu odohrať mesiace až roky pred vlastnými výraznejšími príznakmi (už v závislosti od konkrétnej nozologickej jednotky), ktoré nakoniec pacienta privedú k lekárovi. Inokedy však môže byť osobná anamnéza celkom chudobná a choroba sa prejaví až závažným poškodením niektorého dôležitého orgánu (napr. renálne zlyhanie, trombózy a embólie, patológia tehotenstva a pod.). Preto by sa lekár, ktorý má akékoľvek podozrenie na možnosť vývoja autimunitnej choroby u pacienta (vyplývajúceho či už z príznakov terajšieho ochorenia, osobnej či rodinnej anamnézy) mal vždy cielene pýtať na prítomnosť: problémov s kĺbami, bolesťou chrbta – napr. suspektná (susp.) reumatoidná artritída, ankylozujúca spondylitída; kožných eflorescencií (napr. susp. zmiešaná choroba spojivového tkaniva); pľúcnych obtiaží či kašľa (napr. susp. intersticiálne pľúcne procesy); ťažkostí so zažívacím traktom (napr. susp. idiopatické zápaly čreva); neurologických príznakov (napr. susp. sclerosis multiplex); problémov s močením (napr. susp. glomerulonefritídy) či očných príznakov (ktorákoľvek z vyššie uvedených nozologických jednotiek).

V osobnej anamnéze sa u niektorých pacientov môžeme počas vývoja ich choroby stretnúť aj s manifestáciou rôznych ďalších autoimunitných (orgánovo-špecifických i systémových) chorôb (tzv. kaleidoskop autoimunity).

Gynekologická anamnéza by mala byť obligatórnou súčasťou osobnej anamnézy aj v rámci ochorení „kmeňovo“ patriacich do odboru klinickej imunológie a alergológie (resp. vnútorného lekárstva), obdobne, ako to platí pre už uvedenú liekovú anamnézu v rámci terajšieho ochorenia. Pozornosť by sme mali zamerať predovšetkým na obdobie pohlavného dospievania; na prvú menštruáciu; na počet a priebeh gravidít, resp. prípadné potraty či neplodnosť; užívanie antikoncepcie a ukončenie menštruácie (menopauza). Lekár by si mal byť vedomý, že k manifestácii, resp. k relapsu autoimunitných chorôb u žien (ktorých sú „výsadou“), dochádza často práve v súvislosti s prvou menštruáciou, pôrodom, či začiatkom antikoncepcnej liečby. Navyše autoimunitný pôvod môžu mať aj habituálne potraty, ako aj neplodnosť.

### 1.1.3 Rodinná anamnéza

Hoci genetická predispozícia u autoimunitných chorôb hrá významnú úlohu, býva rodinný výskyt autoimunitných chorôb totožnej klinickej manifestácie skôr výnimkou ako pravidlom. V rodinách (nie však len u najbližších príbuzných, čiže rodičov a súrodencov, ale aj starých a prastarých rodičov, u sesterníc a bratrancov a pod.) sa však môžu kumulovať rôzne autoimunitné choroby alebo ďalšie imunopatologické stavy, vrátane imunodeficiencií alebo alergií. Je dôležité uvedomiť si aj skutočnosť, že rodinný výskyt autoimunitnej choroby často „preskakuje“ jednu generáciu.

Často tiež pozorujeme, že ak sa nejaké autoimunitné ochorenie vyskytne u dvojčiek, je väčšia pravdepodobnosť, že ochorejú obaja súrodenci, ak sú geneticky identickí (t. j. sú jednovaječné dvojčky), než ak sú rozdielni. Rodinnú záťaž vyjadrujeme najčastejšie indexom  $\lambda_s$ , ktorý sa vypočíta, keď sa riziko choroby súrodencov vydělí rizikom choroby v populácii; číslo 1,0 teda vyjadruje hodnotu pre choroby, ktoré rodinnú záťaž nemajú – pozri tab. 1. Teoreticky by sme však spoločný výskyt očakávali u 100 % jednovaječných dvojčiek, lebo sa zhodujú vo všetkých génoch. Keďže to tak nie je, poukazuje to na skutočnosť, že gény vnímavosti k autoimunitnej chorobe nie sú plne penetrantné a na fenotypový prejav (t. j. na jej klinické rozvinutie) sú potrebné aj environmentálne faktory (najčastejšie mikroorganizmy v podobe zjavnej alebo častejšie inaparentnej, najmä vírusovej, infekcie, ale napr. tiež xenobiotiká vrátane niektorých liečiv).

Ešte častejšie ako priame klinické príznaky, sa však v príbuzenstve postihnutej rodiny pozorujú abnormality v podobe prítomnosti autoprotilátok, či už rovnakých alebo aj rozdielných, aké sa vyskytujú u chorého, alebo sa nájde hypergamaglobulinémia a tieto nálezy v kontexte s pozitívitou rodinnej anamnézy by mali byť tiež dôvodom na dispenzarizáciu. Na druhej strane by však lekár mal mať vždy na pamäti, že o autoimunitnú chorobu ide až vtedy, keď autoimunitné reakcie vedú k poškodeniu tkanív, t. zn. až keď sa prejavia odpovedajúcou (príslušnou k suspektnej nozologickej jednotke) klinickou symptomatológiou v kontexte s odpovedajúcim laboratórnym nálezom. Nález autoprotilátok neznamena teda ešte automaticky diagnózu autoimunitnej choroby.

TAB. 1  
KONKORDANTNOSŤ VÝVOJA AUTOIMUNITNÝCH CHORÔB U MONO- A DIZYGÓTNÝCH DVOJČIAT

CHOROBA	KONKORDANTNOSŤ (%)			PREVALENCIA (%)	λs
	MZ	DZ	Súrodenci		
autoimunitný diabetes mellitus	30 – 50	0 – 13	6	0,4	15
sclerosis multiplex	25	0 – 5	3 – 5	0,1	20
systémový lupus erythematosus	24 – 57	2 – 5	2 – 5	0,2	20 – 40
reumatoidná artritída	12 – 15	3 – 4	2 – 4	0,24 – 1,0	5 – 10

pozn.: MZ – monozygótne dvojčatá, DZ – dizygótne dvojčatá, λs – súrodenecké riziko

#### 1.1.4 Pracovná a sociálna anamnéza

Táto anamnéza má aj v súčasnosti veľký význam, a platí to aj pre autoimunitné choroby. „Životný štýl“ totiž tiež nepochybne vplýva na funkciu imunitného systému s možným negatívnym účinkom aj v zmysle manifestácie chorôb s imunopatologickou etiológiou (rovnako ako autoimunitných však aj alergických chorôb, resp. imunodeficientných stavov). V tejto súvislosti je napr. známe, že aj psychické stresy (chronický stres) môžu viesť k aktivácii týchto chorôb, resp. že cigaretový dym, ale aj dym zo spaľovania uhlia tiež môžu indukovať niektoré autoimunitné choroby.

Pacienta sa pýtame na jeho postoj k práci, na pracovné podmienky vrátane prípadných rizikových faktorov, a tiež na pracovné zaťaženie. Lekára zaujímajú aj bytové podmienky pacienta, jeho rodinný život, spôsob stravovania (obezita môže byť príčinne spätá aj so systémovým zápalovým stavom), šport, ktorý pestuje, škodlivé návyky, najmä fajčenie a pitie alkoholu. U fajčiara zisťujeme množstvo vyfajčených cigariet za deň a dĺžku fajčenia. Chronické požívanie alkoholu sa môže podieľať na vážnom postihnutí vnútorných orgánov i centrálného nervového systému, čo je nevyhnutné brať do úvahy pri objektívnom vyšetrení pacienta.

## 1.2 OBJEKTÍVNE (FYZIKÁLNE) VYŠETRENIE

Po skončení odberu anamnézy nasleduje objektívne vyšetrenie – k jeho základným fyzikálnym vyšetrovacím metódam patria: vyšetrenie pohľadom (inšpekcia), pohmatom (palpácia), poklepom (perkusia) a posluchom (auskultácia). Ich použitie (v patričnom a odpovedajúcom rozsahu) je dané konkrétnou nozologickou jednotkou (tak orgánovo-špecifické choroby navzájom, ako aj pri ich porovnaní s orgánovo-nešpecifickými, sa pritom vyznačujú mimoriadnou pestrosťou ich konkrétnych klinických priebehov a nálezov v rámci objektívneho vyšetrenia).

Podrobnejšie teraz rozvedieme len fyzikálnemu vyšetreniu „dostupné“ orgány, ktoré z morfológického hľadiska zahrňujeme do imunitného systému – t. zn., ktoré sa nachádzajú v organizovaných tkanivách a orgánoch (s výnimkou tzv. primárnych, t. j. kostnej drene a týmusu a zo sekundárnych lymfoidných orgánov s výnimkou Peyerových plakov) a ktoré by mali byť obligatórnou súčasťou vyšetrenia každého pacienta, osobitne však pri podozrení na akúkoľvek chorobu s možnou imunopatogenetickou etiológiou. Stále totiž platí, že diagnózu možno stanoviť v 55 % na podklade anamnézy, v 20 % na podklade fyzikálneho vyšetrenia a v 20 % na podklade laboratórneho vyšetrenia; zvyšných 5 % zostáva zatiaľ neobjasnených.

Osobitne sme sa tiež venovali fyzikálnemu vyšetreniu pečene. Jednak preto, že jej zväčšenie často sprevádza zväčšenie sleziny (hepatosplenomegalia), ale tiež preto, že postihnutie pečene je aj častým sprievodným znakom mnohých systémových (orgánovo-nešpecifických) chorôb, ako sú napr. SLE, juvenilná idiopatická artritída, vaskulitídy stredných (napr. polyarteritis nodosa, m. Kawasaki) a malých ciev (napr. Wegenerova granulomatóza), antifosfolipidový syndróm a iné.

Keďže však autoimunitné procesy môžu postihnúť ktorýkoľvek orgán či tkanivo (či už len jeden alebo aj viaceré súčasne), je pochopiteľné, že problematika ich objektívneho vyšetrenia *en bloc* presahuje rámec tejto publikácie a je náplňou propedeutiky vnútorného lekárstva, resp. monografií jednotlivých medicínskych odborov.

### 1.2.1 Vyšetrenie lymfatických uzlín

Lymfatické uzliny (LU) sú uložené tak v telesných dutinách (uzliny mediastinálne, mezenterické a retroperitoneálne sú však prístupné fyzikálnemu vyšetreniu len pri ich

výraznom zväčšení, bežne ich preto verifikujeme hlavne rádiologickými zobrazovacími metódami), ako aj na povrchu tela, kde sú prístupné palpácii a ich zväčšenie (ako aj zmeny vzhľadu pokožky nad nimi) možno niekedy identifikovať aj zrakom (inšpekciou). Človek má asi 500 – 600 lymfatických uzlín, u zdravého však spravidla nie sú hmatné a akákoľvek hmatná uzlina je preto z tohto pohľadu považovaná za patologickú. Za normálnu sa považuje veľkosť do 1 cm (v submandibulárnej a v inguinálnej oblasti sa pripúšťa veľkosť do 1,5 cm), aj keď aj uzliny s veľkosťou do 1 cm môžu byť postihnuté závažnou chorobou. Na druhej strane môže v závislosti na lokalizácii ako aj habite vyšetrovaného uniknúť našej palpácii aj zväčšená LU. Veľkosť uzlín je potrebné vyjadrovať najväčším rozmerom v centimetroch (jej porovnanie s veľkosťou napr. fazule, či slivky je veľmi nepresné). Je si potrebné tiež uvedomiť, že vyšetrovaná uzlina je v skutočnosti menšia o hrúbku kože a podkožia, takže jednoznačný údaj o jej veľkosti nám poskytne iba niektorá zo zobrazovacích metód.

Pri fyzikálnom vyšetrení LU je najdôležitejšou metódou palpácia (uzlinu sa usilujeme chytiť do prstov alebo ju palpujeme sklzávou technikou) v dostupných oblastiach: hlavy a krku (lokalizácia pre- a retroaurikulárna, subokcipitálna, submandibulárna, submentálna, pozdĺž m. sternocleidomastoideus, supra- a infraklavikulárna), axily, ingviny, v oblasti femorálnej a v podkolenných jamkách.

Okrem lokalizácie zväčšených LU (tzv. lymfadenopatia, lymfadenomegália, adenomegália) si všímame aj ich konzistenciu (tvrdá je napr. pri metastázach nádorov, mäkká pri zápalových procesoch), prípadnú palpačnú bolestivosť (vzniká pri ich rýchlom zväčšení obvykle v rámci zápalového procesu, môže však byť spôsobená aj krvácaním do nekrotického centra uzliny, malígnym procesom teda nevylučuje; vo všeobecnosti je však vždy prognosticky závažnejšia uzlina, ktorá nebolí), pohyblivosť voči spodine a koži (patologickým nálezom je jej obmedzenie či vymiznutie). Z diferenciálno-diagnostických dôvodov je tiež dôležité zistenie, či sa jedná o regionálnu (ide o zväčšenie iba jednej LU alebo jednej skupiny uzlín, napr. axilárnych, v tom prípade je nevyhnutné vylúčenie infekcie, poranenia kože či nádoru v príslušnej spádovej oblasti; bolestivé zdurenie krčných uzlín je charakteristické napr. pre Kawasakiho chorobu a pod.), alebo ide o generalizovanú lymfadenopatiu (napr. pri SLE, RA, sarkoidóze, Sjögrenovom syndróme, autoimunitnom lymfoproliferačnom syndróme – tzv. Canaleovej-Smithovej chorobe, ale aj pri infekčnej mononukleóze). Z hľadiska anatomickej lokalizácie je zastúpenie novoizistenej lymfadenopatie nasledovné: regionálna 75 % (z toho

hlava a krk 55 %, supraklavikulárna 1 %, axilárna 5 %, ingvinálna 14 %) a generalizovaná 25 %.

Zväčšenie LU býva náhodným nálezom u pacienta vyšetrovaného z najrôznejších dôvodov. Pretože však nález zväčšených uzlín môže byť úvodným príznakom celého radu závažných chorôb (vrátane autoimunitných), zasluhuje si mimoriadnu pozornosť a v žiadnom prípade nie je možné tento nález bagatelizovať. Fyzikálnemu vyšetreniu sú prístupné iba periférne lymfatické uzliny, moderným zobrazovacím metódam (ultrasonografia, počítačová tomografia, magnetická rezonancia, pozitronová emisná tomografia) sú však dostupné aj uzliny vnútrohruďné a vnútrobrušné či panvové, náhodný nález ktorých musí byť rovnakým impulzom k vyšetreniu príčiny ich zväčšenia ako nález periférnej uzliny.

Príčinou zväčšených LU bývajú infekčné a zápalové procesy (akútne i chronické, lokálne i celkové; napr. vírusové: EBV, CMV, HIV, infekčné hepatitídy, bakteriálne: streptokokové, stafylokokové, chlamýdiové, TBC, parazitárne: toxoplazmóza), malígne hematologické choroby (napr. Hodgkinova choroba, non-Hodgkinove lymfómy, leukémie) či metastázy solídnych nádorov, ale aj autoimunitné systémové choroby (napr. reumatoidná artritída, juvenilná idiopatická artritída, systémový lupus erythematosus, dermatomyozitídy) či granulómové choroby. Závažnejšia je lymfadenopatia u dospelých (nemusí však tiež ešte znamenať vážnu chorobu). Deti veľmi rýchlo reagujú prechodným zväčšením LU na najrozličnejšie infekčné podnety a prítomnosť drobných uzlín, hlavne krčných, je preto u nich pomerne častým nálezom. Na druhej strane je zaujímavá skutočnosť, že zväčšenie lymfatických uzlín nie je obligatórnou podmienkou choroby s autoimunitnou etiológiou – lymfadenopatia sa nepozoruje (alebo len výnimočne) napr. pri psoriasis vulgaris.

Fyzikálny nález pri zväčšených uzlinách teda môže pomôcť pri diagnostike príčiny lymfadenopatie, ale nemá väčšinou patognomický význam. Presnú diagnózu často stanovíme až histologickým vyšetrením vybratej uzliny.

### 1.2.2 Vyšetrenie sleziny

Slezina je uložená v ľavom podbránicovom priestore – jej pozdĺžna os sleduje priebeh 10. rebra (u zdravého človeka nie je hmatateľná, nepresahuje teda ani rebrový oblúk). Patologické zväčšenie sleziny je len vzácné spôsobené jej primárnym ochorením. Väčšinou je však

vstupným a niekedy aj dominujúcim nálezom u mnohých systémových autoimunitných chorôb.

Palpácia sleziny (rovnako ako u pečene) je najdôležitejšou fyzikálnou vyšetровacou metódou – najčastejšie sa vyšetruje v dvoch polohách pacienta: na chrbte, resp. v pravej diagonálnej polohe (stredná poloha medzi polohou na pravom boku a vľahu vhodná pri malom a stredne veľkom zväčšení sleziny; ak cítime, že sa slezina v inšpiriu len dotkla končekov prstov, hovoríme, že „naráža“). Pohmatom sleziny sa informujeme o jej veľkosti (o koľko centimetrov presahuje rebrový oblúk, pri jej veľkom zväčšení udávame aj jej priečny rozmer), konzistencii (napr. mäkká, tuhšia, tvrdá), charaktere povrchu (napr. hladký, hrboľatý), ako aj citlivosti (bolestivosti). Toto vyšetrenie je sťažené pri obezite pacienta, neprimeranom napätí jeho brušnej steny, sťažuje ho tiež meteorizmus či ascites. Na druhej strane pri každom zistení rezistencie pod ľavým rebrovým oblúkom by sme mali myslieť i na možnosť zväčšenia iných orgánov, ktoré sú uložené v tejto oblasti (zväčšenie ľavej obličky, pankreasu – cauda pancreatis, nádor hrubého čreva – flexura lienalis alebo nádor žalúdka).

Poklep sleziny je značne nespoľahlivý a prakticky sa preto už dnes pri pozitívnom palpačnom náleze nepoužíva (i s ohľadom na súčasnú dostupnosť a možnosti ďalších vyšetровacích metód).

Splenomegáliu môže spôsobiť každá choroba, ktorá zväčšuje aj lymfatické uzliny. Samotné mierne (napr. pri SLE, RA, idiopatickej trombocytopenickej purpure) a stredne veľké (napr. pri hepatitídach, infekčnej mononukleóze, amyloidóze, pernicióznej anémii, slezinovom abscese či infarkte) zväčšenie sleziny nemusí pritom spôsobovať pacientovi žiadne obtiaže (jej chronické zväčšovanie sprevádza tiež menšia spontánna, resp. palpačná bolestivosť). K prejavom vyvolaným výraznou spleno-megáliou (napr. pri leukémiách, autoimunitnom lymfoproliferačnom syndróme – tzv. Canaleovej-Smithovej chorobe) patrí pocit tlaku pod ľavým rebrovým oblúkom či pocit plnosti (až obmedzujúci príjem potravy).

Často sa stretávame tiež s pojmom hypersplenizmus – ide o označenie pre zvýšenú aktivitu retikuloendotelového systému pri splenomegálii akejkoľvek etiológie, ktorej dôsledkom je pokles niektorého alebo i všetkých druhov krvných elementov (t. j. anémia a/alebo leukopénia a/alebo trombocytopénia).



### 1.2.3 Vyšetrenie tonzíl a apendixu

Aj keď tonzily a apendix patria tiež medzi sekundárne lymfoidné orgány, t. j. sú to tkanivá, ktoré majú všetky potrebné zložky na to, aby sa mohla vyvinúť adaptívna (špecifická) imunitná odpoveď, ich fyzikálne vyšetrenie nás bezprostredne neinformuje o stave imunitného systému a ich patologický nález nesvedčí ani pre suspektnú autoimunitnú etiológiu choroby. Aj napriek uvedenému sme sa však rozhodli (pre závažnosť ostatných možných príčin ich patologického nálezu) venovať im osobitnú kapitolu. Akékoľvek pochybenie pri ich vyšetrení, resp. jeho opomenutie v rámci kompletného objektívneho vyšetrenia, môže mať totiž závažné následky tak pre pacienta, ako aj pre samotného vyšetrujúceho lekára (bez ohľadu na to, či sa jedná o praktického lekára alebo aj špecialistu).

Tonzily (mandle) sú uložené pred faryngom. Bežnou inšpekciou pri otvorených ústach pozorujeme len časť ich povrchu (sú ponorené v jamkách a viditeľná je preto len ich prominujúca mediálna časť). Pri ich hodnotení si všimame, či sú hypertrofické alebo atrofické (ak pri vyšetrení mandle nevidíme, musíme v anamnéze cielene pátrať po tonzilektómii, naopak, až výrazne zväčšené môžu byť pri ich nádorovej infiltrácii alebo infekcii). Farba zdravých tonzíl sa podobá farbe sliznice dutiny ústnej (akútna tonzilitída je spojená s ich zdurením a začervenaním, peritonzilárny absces zapríčiňuje jednostranné vykľututie mäkkého podnebia), ich povrch je hladký alebo mierne hrboľatý. Pri zatlačení na zdravé mandle nevyteká nijaký obsah (vytekajúci bielosivo, žltkastý obsah je známkom opakovaných zápalov). Je samozrejmé, že pri vyšetrení tonzíl by v dutine ústnej nemali uniknúť našej pozornosti ani iné nálezy ako napr. orálna a faryngová suchosť, fisúry jazyka, angulárna cheilitída, či opuchy slinných žliaz (glandula parotis, sublingualis alebo submandibularis) pri Sjögrenovom syndróme.

Palpácia apendixu má veľký význam, ak ide o podozrenie na akútnu brušnú príhodu. Normálny apendix je nehmatateľný a nebolestivý. Môže byť rôzne uložený, preto sa netreba spoliehať na jeho lokalizáciu v typickom mieste (premieta sa na stenu brucha v mieste rozhrania vonkajšej a strednej tretiny spinoumbilikálnej spojnice – tzv. McBurneyov bod) – pri akútnej brušnej príhode nesmieme zabudnúť, že apendix môže byť lokalizovaný aj na ľavej strane (situs viscerum inversus).

#### 1.2.4 Vyšetrenie pečene

Pečeň je uložená v bránicovej klenbe tak, že asi 75 % jej tkaniva je vpravo a asi 25 % vľavo. U zdravého človeka sa zvyčajne nedá vyhmatať ani pod pravým rebrovým oblúkom v medioklavikulárnej čiare (dolný okraj pečene sa stáva hmatným počas inšpiria; jej povrch je hladký, pri palpácii je nebolestivá), jej zväčšenie – hepatomegáliu, ktorá sa často združuje tiež so zväčšením sleziny, možno preto diagnostikovať len vtedy, keď dolný okraj presahuje rebrový oblúk.

Poklep pečene má význam pre určenie jej veľkosti, ktorú vyjadrujeme ako vzdialenosť medzi jej horným a dolným okrajom (hornú hranicu je totiž možné určiť len poklepom). Klepeme v pravej medioklavikulárnej čiare od 2. rebra silným poklepom kaudálnym smerom tak, aby sme mohli zaznamenať prvú zmenu v zmysle stemnenia (odpovedá vrcholu pečeneovej klenby uloženému ešte pod silnou vrstvou pľúcneho tkaniva), naopak, dolnú hranicu je treba určovať veľmi slabým poklepom (pri ďalšom postupe smerom kaudálnym), pretože klepeme už len nad tenkou vrstvou pečeneového tkaniva, pod ktorou sú uložené duté orgány (z tohto dôvodu sme však pri poklepovom určovaní dolného okraja pečene často neúspešní a nahrádzame ho pohmatom). Veľkosť pečeneového stemnenia u zdravých dospelých osôb činí 8 – 12 cm (preto samotné zistenie, že dolný okraj pečene o „jeden či dva“ prsty presahuje rebrový oblúk ešte nemusí znamenať jej zväčšenie – i nezväčšená pečeň môže totiž rebrový oblúk presahovať napr. v dôsledku zníženého postavenia bránice pri emfyzéme pľúc). Perkusiou pečene je potrebné dokonale ovládať i vzhľadom k tomu, že je jedinou pomôckou pri určovaní veľkostí pečeni malých, t. j. takých, ktorých dolný okraj k okraju rebier ani nedosahuje.

Z fyzikálnych metód môže však (obdobne ako u sleziny) najviac informácií o stave pečene poskytnúť jej palpácia (pohľadom môžeme totiž len pri jej výraznom zväčšení u astenických, resp. kachektických ľudí pozorovať vykľutie v epigastriu, resp. pravom mezogastriu, naopak, u obéznych ani značná hepatomegália nemusí spôsobiť zistiteľné vykľutie brušnej steny). Okrem veľkosti ňou zisťujeme aj okraje pečene (u zdravého je ostrý, pružný), jej konzistenciu (mäkká, pružná), povrch (u zdravej pečene je hladký) a citlivosť (nemá byť palpačne bolestivá). Pri niektorých chorobných stavoch (ako napr. obezita, anasarka, veľký meteorizmus, ascites, ale napr. aj u pokročilej gravidity), je toto vyšetrenie výrazne sťažené (obdobne ako u sleziny). Zväčšenú pečeň môže, naopak, imitovať napr. zväčšená oblička,

chorobne zmenený žľčník, či nádor vychádzajúci z retroperitonea, ale tiež nízky stav bránice či emfyzém – tento nález však nepovažujeme za zväčšenie pečene sui generis.

Hlavnými príznakmi pečňových chorôb sú: žalúdočná a črevná dyspepsia (ide predovšetkým o nechutenstvo, nauzeu, meteorizmus a pocit plnosti v bruchu, časté sú aj poruchy stolice – predovšetkým striedanie hnačiek so zápchami), žltacka, resp. jej mierny stupeň označovaný ako subikterus, t. j. žlté sfarbenie sklér, ale aj kože a slizníc v dôsledku zvýšenia plazmatickej hladiny bilirubínu nad  $25 - 35 \text{ umol.l}^{-1}$  (prehepatálneho, hepatocelulárneho alebo cholestatického typu – jeho určenie je cennou pomôckou v ich diferenciálnej diagnostike, viac pozri v učebniciach gastroenterológie), ktoré je viditeľné pri dennom osvetlení (pozor na umelé svetlo). V pokročilejších štádiách pečňových chorôb sa stretávame aj so známkami portálnej hypertenzie, t. j. zvýšením žilového tlaku v riečišti v. portae, ktoré pacienta ohrozuje hlavne krvácaním z ezofageálnych varixov a spolu s ďalšími faktormi sa zúčastňuje aj na vzniku ascitu a pečňovej encefalopatie.

## **2 VYŠETROVACIE METÓDY**

Klinická symptomatológia autoimunitných chorôb je nesmierne variabilná a klinický obraz, ako aj fyzikálne vyšetrenie s jeho obmedzenými možnosťami, vedú preto väčšinou len k podozreniu na takéto ochorenie. Vlastná (konečná) diagnóza potom závisí na potvrdení laboratórnymi a ďalšími doplňujúcimi vyšetreniami (je výsledkom kritického posúdenia všetkých získaných nálezov; konečnou diagnózou sa tak môže stať už tzv. vstupná diagnóza, s ktorou chorého poslal k nám na vyšetrenie iný lekár alebo aj na ňu nadväzujúca tzv. pracovná diagnóza, ktorá vychádza z našej anamnézy a fyzikálneho vyšetrenia). Prvým predpokladom akejkoľvek liečby, resp. prevencie je pritom práve správna diagnóza imunopatologického procesu.

Imunologické vyšetrovacie metódy treba teda vždy posudzovať komplexne so zreteľom na klinický stav pacienta, ako aj na výsledky ostatných vyšetrení. Treba si totiž uvedomiť, že pri takej zložitej a jemnej regulácii imunitného systému môže dôjsť (a prakticky často aj dochádza) k zmenám, ktoré sú väčšinou dôsledkom, a nie príčinou choroby. Pri ich nesprávnej, resp. len jednostrannej interpretácii sa môže stať, že sa vyrobia tzv. „laboratórne syndrómy“.

Základným predpokladom dosiahnutia validných výsledkov je správny odber materiálu. Nakoľko však indikácia prevažnej väčšiny parametrov tzv. imunitného profilu jednotlivca spadá do kompetencie lekárov – špecialistov, podmienkami jednotlivých odberov sa nebudeme zaoberať (ako napr. že je zbytočné domáhať sa vyšetrenia bunkovej imunity pri zaslaní zrazenej krvi alebo, ak chceme vyšetriť zložky komplementu, je treba sérum čo najskôr zaslať do laboratória – pri dlhom transporte majú už totiž zmenené hodnoty).

### **2.1 IMUNOLOGICKÉ LABORATÓRNE VYŠETRENIA**

Imunologické vyšetrovacie metódy je nevyhnutné posudzovať komplexne vo vzťahu ku klinickému stavu pacienta a výsledkom ostatných pomocných vyšetrení. Pri tak zložitej a jemnej regulácii imunitného systému a jeho účasti na udržiavaní stálosti a nemennosti

vnútorného prostredia (homeostázy) každého jedinca v rámci tzv. neuro-endokrinnó-imunitného systému, môže totiž dôjsť k zmenám niektorých imunologických laboratórnych parametrov u akéhokoľvek ochorenia. Tieto odchýlky majú však len prechodný charakter (napr. vírusové infekcie a následná polyklonová aktivácia autoreaktívnych B-lymfocytov), a ak ich nájdeme, musíme imunologické vyšetrenie (vrátane laboratórneho) v určitom časovom odstupe zopakovať. Len ak sa tieto odchýlky vyskytujú aj v rámci rekonvalescencie a zmeny pretrvávajú, je potrebné uvažovať o možnosti imunopatologického stavu (v situáciách, pri ktorých je anamnéza a klinický stav suspektný z možnej imunopatológie, sa musí imunologické laboratórne vyšetrenie urobiť ešte pred zahájením akejkoľvek liečby – najmä imunosupresívnej). A práve rozpoznanie imunoregulačnej poruchy s tendenciou k vzniku autoimunitnej choroby (resp. *immune mediated inflammatory disorders* – IMID), príp. imunokomplexových komplikácií, je najväčším problémom. Vyžaduje od lekára adekvátnu interpretáciu výsledkov imunologických laboratórnych vyšetrení v ich dynamickom sledovaní a v kontexte s anamnézou, klinickými príznakmi a výsledkami ostatných pomocných vyšetrení (klinického imunológa, reumatológa, resp. lekára – špecialistu v nadväznosti na dominantne postihnutý orgán; väčšinou je však nevyhnutná ich úzka vzájomná interdisciplinárna spolupráca tak v rámci diagnostiky, ako aj liečby).

Po fyzikálnom vyšetrení pacienta pri podozrení na chorobu s autoimunitnou patogenézou (platí to rovnako aj pre ďalšie stavy s imunopatologickou etiológiou, ako sú atopia a imunodeficiencie) by mal lekár za účelom jej vylúčenia (po zohľadnení diagnostických guidelines) indikovať tzv. **imunologické laboratórne vyšetrenia prvej voľby**. Ak však chceme diagnózu definitívne potvrdiť, väčšinou s metódami I. voľby už nevystačíme a indikujeme **imunologické laboratórne vyšetrenia druhej voľby** (sú už vysoko cielené a ich indikácia preto prináleží lekárom-špecialistom – okrem klinických imunológov, či reumatológov, aj lekárom jednotlivých špecializácií v nadväznosti na orgán, resp. orgány, ktorých postihnutie v klinickom obraze konkrétnej autoimunitnej choroby dominuje, vrátane napr. možnosti indikovať vyšetrenie HLA-molekúl za účelom potvrdenia ich možnej asociácie so suspektnou nozologickou jednotkou).

### 2.1.1 Imunologické vyšetrenia I. voľby

#### ● sedimentácia erytrocytov

Sedimentácia erytrocytov (FW) je síce veľmi starou, ale stále nenahraditeľnou diagnostickou metódou (jej skratka *FW* pochádza zo začiatkových písmen mien autorov metódy jej stanovenia *Fahraeusa* a *Westergreena*) a spolu s proteínmi akútnej fázy je odrazom prebiehajúceho zápalu (zvýšenie hladiny jedného z proteínov akútneho zápalu – fibrinogénu, ktorý poznáme predovšetkým ako koagulačný faktor, mení priebeh sedimentácie červených krviniek). Zvýšená hladina fibrinogénu totiž spôsobuje, že erytrocyty začnú tvoriť tzv. peniažkovatenie (*rouleaux*), čoho výsledkom je ich rýchla sedimentácia. Peniažkovatenie súčasne spôsobí, že erytrocyty sedimentujú skôr, ako môže dôjsť k ich okysličeniu a výsledkom je tmavá masa v spodnej časti sedimentačnej rúrky (v minulosti označovaná ako „čierna žľč“, ktorá bola odstraňovaná a liečená púšťaním žilou).

Takmer všetky systémové autoimunitné choroby sú sprevádzané vzostupom jej rýchlosti (až do trojciferných, hlavne u vaskulítid a vice versa, ak je FW celkom v medziach normy, t. zn. do 20 mm/hod., neprichádza do úvahy žiadna závažná systémová autoimunitná choroba, jej sledovanie je však dôležité aj pre monitorovanie aktivity choroby (aj tu však existujú choroby, u ktorých výška FW nie je orientáciou v ich aktivite, ako napr. izolovaná vaskulitída CNS, Henochova-Schönleinova purpura, trombangiitis obliterans).

Vyšetrenie FW je teda veľmi nešpecifické a preto je potrebné interpretovať ho opatrne (a aj keď závisí hlavne od koncentrácie fibrinogénu, závisí tiež aj od ďalších parametrov, ako sú napr. počet a veľkosť erytrocytov, koincidujúce choroby, bakteriálne superinfekcie). Jej patologická hodnota (už od stredne zvýšenej, t. j. medzi 20 – 50 mm/hod.), obzvlášť pretrvávajúca, je však jednoznačne indikáciou k ďalšiemu diagnostickému procesu.

● **C-reaktívny proteín** (*C-reactive protein*; CRP) – je síce najdlhšie známy, ale stále klinicky najvýznamnejší proteín akútnej fázy zápalu (svoje pomenovanie získal na základe schopnosti reagovať s fosforylcholínom, hlavným zástupcom polysacharidu C v puzdre baktérií *Streptococcus pneumoniae*). Pôsobí ako opsonín a aktivuje tiež komplement klasickou cestou (považuje sa za primitívnu protilátku – tzv. ante-protilátku, ktorá chráni organizmus dovtedy, kým sa nevytvoria špecifické protilátky). Viaže sa však aj na poškodené

a odumierajúce (apoptotické) bunky, čím prispieva k reparačným procesom v poškodenom tkanive a zároveň tak bráni aj rozvoju autoimunitných procesov.

Vyšetrenie nie je zaťažené nešpecifickými chybami a je najčastejšie stanovovaným parametrom pri monitorovaní zápalu. Najčastejšie ide o zápalový proces spôsobený bakteriálnymi infekciami (vírusové a parazitárne spôsobujú iba jeho mierny vzostup), resp. reaktívny zápal na baktériovú infekciu (napr. fenomén molekulového mimikri voči  $\beta$ -hemolytickému streptokoku skupiny A pri reumatickej horúčke) ako aj ďalšie imunopatologicky podmienené zápal (napr. u reumatoidnej artritídy), jeho zvýšenie môžeme však pozorovať aj u „abakteriálneho“ zápalu (infarkt myokardu, trauma, pooperačné stavy, malígne nádory). Ide teda o nešpecifický parameter, ktorý síce do istej miery indikuje závažnosť stavu, ale neprispieva vždy k určeniu podstaty choroby.

CRP sa však čoraz častejšie stanovuje v zdravotníckych zariadeniach i priamo v terénnej ambulantnej praxi v režime POCT (skratka označujúca prevedenie vyšetrenie laboratórneho parametra na mieste ošetrenia pacienta – *point of care testing*). Jeho zvýšenie má určitú dynamiku, ktorá je rýchlejšia ako u FW – na prítomnosť zápalu reaguje v hodinách až stonásobným zvýšením koncentrácie, rýchlo však aj klesá (pre porovnanie zložky komplementu C3 a C4 stúpajú najmenej, len 1,5- až 2-krát). Je dôležitým markerom zápalu aj u pacientov s hypogamaglobulinémiou, u ktorých totiž obvykle nedochádza k zvýšeniu FW.

Zvýšené hodnoty CRP sú typické pre systémové autoimunitné choroby typu reumatoidnej artritídy alebo ich juvenilných foriem, Bechterevovej choroby a systémových vaskulítid. Zaujímavú dynamiku má u SLE, ktorý je vo svojej aktívnej fáze sprevádzaný veľmi výraznou zápalovou aktivitou (vrátane vysokej FW), ktorá však nevedie k zvýšeniu CRP a jeho nález svedčí pre komplikujúci (väčšinou infekčný) proces. CRP nebýva zvýšené ani u dermatopolymyozitíd, sklerodermie, Sjögrenovom syndróme a ani u väčšiny orgánovo-špecifických autoimunitných chorôb.

Autoprotílátky proti tzv. modifikovanému C-reaktívnemu proteínu (mCRP), autoantigénu vyskytujúcu sa tak na povrchu buniek tubulov, ako aj buniek vráskovca, dúhovky a ďalších tkanív oka, sa v súčasnosti považujú za etiopatogenetický faktor u syndrómu tubulointersticiálnej nefritídy s uveitídou (výskyt týchto autoprotílátok u tejto nozologickej jednotky je 100 %).

- **elektroforéza** – táto metóda nie je založená na reakcii antigén – protilátka (vo väčšine klinických laboratórií sú preto elektroforetické metódy doménou klinickej biochémie), ale na rozdelení rôznych proteínov (najčastejšie krvných bielkovín – albumín,  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ -,  $\beta$ - a  $\gamma$ -globulín) na základe ich pohyblivosti v elektrickom poli; v imunológii má význam predovšetkým gamafrakcia obsahujúca imunoglobulíny, elektroforeticky však zachytíme iba jej hrubé zmeny, t. j. *hypergamaglobulinémiu* (zvýšenie koncentrácie všetkých imunoglobulínov – väčšina stavov s podozrením na autoimunitnú chorobu je totiž sprevádzaná polyklonovou aktiváciou B-lymfocytov), *hypogamaglobulinémiu* (zníženie alebo absencia imunoglobulínov) a tiež *monoklonovú gamapatiu* (deformáciu gamafrakcie do úzkeho prúžku v prítomnosti tzv. paraproteínu – monoklonového imunoglobulínu); patologické nálezy je však potrebné ďalej ozrejmiť podrobnejšími metódami: imunoelektroforézou a kvantitatívnym stanovením imunoglobulínov;

- **imunoelektroforéza** – dôležitá pre diagnostiku monoklonovej gamapatie – t. j. určenie izotypu monoklonového imunoglobulínu (elektroforeticky a imunologicky homogénneho, tzv. M-komponenty či paraproteínu), ktorá môže byť alebo primárna – pri plazmocytóme najčastejšie v izotype IgG a IgA, pri Waldenströmovej makroglobulinémii v IgM, alebo sekundárna (benígna) – u chronických infekcií, systémových i orgánovo-spezifických autoimunitných chorôb; nález paraproteínu však nie je zriedkavý ani u starších ľudí (táto benígna tzv. idiopatická paraproteinémia sa vyskytuje až u 15 % osôb starších ako 70 rokov) – nikdy však nie je možné vylúčiť možnosť prechodu benígnej paraproteinémie do malígnej; pacienta je preto potrebné dispenzarizovať a sledovať prípadný vývoj anémie či koncentráciu imunoglobulínov (malígny zvrät hrozí pri zvyšovaní koncentrácie paraproteinémie a jej znižovaní u ostatných izotypov Ig);

- **kvantitatívne stanovenie imunoglobulínov** (IgG, IgA, IgG, príp. IgE) – ani toto vyšetrenie by nemalo chýbať už pri prvom komplexnom vyšetrení, orientačne totiž informuje o možnom, zatiaľ ešte bezpríznakovom ochorení (napr. vysoké a nízke hodnoty predovšetkým IgA naznačujú sklon k autoimunitnej systémovej chorobe, resp. aj k atopii) a v budúcnosti poslúži ako kontrola pri porovnaní hodnôt imunoglobulínov v prípade závažnejšej



a diferenciálne diagnosticky obtiažnejšej choroby, ktorá sa môže u pacienta v budúcnosti vyskytnúť a ktorá je sprevádzaná zvýšením hodnôt imunoglobulínov;

- **C3 a C4 zložky komplementu** – ich zvýšená spotreba pri aktivácii imunitného systému je v organizme kompenzovaná ich zvýšenou syntézou, ktorá u všetkých akútnych zápalových stavov prevažuje nad spotrebou – u závažných autoimunitných (imunokomplexových) chorôb je však už spotreba vyššia, a preto sú ich hodnoty znížené (ich nízke hodnoty sú preto nepriaznivým znamením napr. aj pre sepsu a vývoj multiorgánového zlyhania); ale napr. u autoimunitných tyreoiditíd, akútnej reumatickej horúčky, ulceróznej kolitídy, reumatoidnej artritídy, nodóznej polyarteritídy môže byť prítomné aj zvýšenie C3 – pozri aj nižšie;

- **cirkulujúce imunokomplexy (CIK)** – ich zvýšenie v sére ešte nemusí znamenať, že ide o imunokomplexovú chorobu (patogenetické sú CIK v tkanivách aktivujúce komplement – nevyhnutné je histologické vyšetrenie biopsie z postihnutých orgánov, napr. kože či obličiek); zvýšené hodnoty môžeme pozorovať napr. u kryptogénnej fibrotizujúcej alveolitídy, paraproteinémii, Sjögrenovom syndróme, primárnej biliárnej cirhóze (dynamika ich nálezu môže potom slúžiť aj ako kontrola úspešnosti liečby týchto chorôb);

- **autoprotílátky:**

- **antinukleové (ANA)** sú orgánovo-nešpecifické, môžu sa individuálne vyskytovať u všetkých systémových alebo orgánových autoimunitných chorôb, slúžia skôr ako screeningový test; v súčasnosti však u nás bez možnosti indikovania všeobecným lekárom pre dospelých (ich vyšetrenie môže indikovať len všeobecný lekár pre deti a dorast a to aj napriek tomu, že autoimunitné choroby sú doménou adolescencie a dospelosti – aj keď niektoré nozologické jednotky sa, samozrejme, vyskytujú aj v detskom veku). Dnes je už možná aj bližšia špecifikácia jednotlivých antigénov bunkového jadra (vrátane tzv. extrahovateľných nukleových antigénov), autoprotílátky voči ktorým už majú u jednotlivých nozologických jednotiek vyššiu senzitivitu i špecifitu, ich vyšetrenie však už patrí medzi metódy II. voľby, indikovanie ktorých prináleží lekárom-špecialistom – pozri nižšie,

• **antiimunoglobulínové** (proti IgG – tzv. *reumatoidný faktor*; RF) sú taktiež orgánovo-nešpecifické, patognomické sú síce najmä pre reumatoidnú artritídu (Sjögrenov syndróm, sarkoidózu), ale orientačné aj pre systémové imunopatologické stavy *en bloc* (vysoké titry pritom budia podozrenie na monoklonovú gamapatiu a/alebo vaskulitídu).

Nálezy v medziach normy, resp. negatívne nálezy v imunologických laboratórnych vyšetreniach I. voľby nám s vysokou pravdepodobnosťou vylúčia prítomnosť autoimunitnej (systémovej) choroby (*diagnosis per exclusionem*). Naopak, podozrenie na možné autoimunitné ochorenie (hlavne orgánovo-nešpecifické) môže podporiť najmä:

- zvýšenie hodnôt CRP (samozrejme bez možnosti vysvetlenia zápalovým procesom v organizme);
- hypergamaglobulinémia;
- paraproteinémia;
- zvýšenie koncentrácie všetkých alebo aspoň dvoch z vyšetovaných tried imunoglobulínov;
- zníženie hodnôt C3 a/alebo C4 (niekedy však aj zvýšenie – pozri vyššie);
- zvýšenie hodnôt CIK;
- pozitivita ANA a/alebo pozitivita RF (pozitivita ANA však nemusí svedčiť o tom, že ide o autoimunitnú chorobu; svedčí len pre tendenciu k tvorbe orgánovo-nešpecifických autoprotílátok a možnosť prípadných komplikácií v zmysle imunokomplexového postihnutia, aj keď iba prechodného, akými sú napr. artralgie, artritídy, tendosynoviitídy, myalgie, subfebrílie a môže byť iba známkou imunoregulačnej poruchy).

S nálezom positivity jednej alebo viacerých autoprotílátok (najčastejšie antinukleových, menej často proti hladkým svalom, ale vzácne napr. aj proti mikrozómom tyrocytov a rôznym ďalším typom), s disproporčnými (zvýšenými, zníženými) hodnotami IgG, IgA, IgM, ako aj cirkulujúcich imúnnych komplexov, s počtom T-lymfocytov na dolnej hranici normy (so zvýšeným tzv. imunoregulačným indexom – pomerom pomocných CD4<sup>+</sup> a cytotoxických CD8<sup>+</sup>-lymfocytov), sa totiž môžeme, okrem chorôb s autoimunitnou imunopatogenezou, stretnúť aj v rámci tzv. **autoimunitného laboratórneho syndrómu** (hodnoty C3 a C4 zložiek komplementu, ako aj hodnoty CH50 sú však vždy normálne – pozri kap. Imunologické vyšetrenia II. voľby – komplement):

- u zdravých osôb (ich výskyt stúpa s vekom – najmä u žien v siedmej dekáde a vyššie, je tiež častejší u príbuzných pacientov s rôznymi autoimunitnými chorobami, pričom ku klinickej manifestácii nemusí u nich dôjsť do konca života);
- u pacientov vyšetrených vo včasných štádiách po akútnych infekčných zápaloch (rôzne typy autoprotílátok, ktoré však obvykle časom vymiznú), ale aj u chronických infekcií a zápalov, napr. recidivujúcej tonzilitíde, herpetických infekciách (či už ide o „pravé“ autoprotílátky, najčastejšie antikardiolipidové – ACLA alebo antiimunoglobulínové – RF, alebo skrížene reagujúce antiinfekčné protílátky), pričom adekvátne liečba infekcií vedie k vymiznutiu autoprotílátok;
- u niektorých imunodeficiencií (deficiencia IgA však môže predisponovať k autoimunitným chorobám);
- prechodne aj po imunostimulačnej liečbe (a *vice versa* u pacientov s verifikovaným autoimunitným laboratórnym syndrómom pristupujeme k podaniu imunostimulačných látok veľmi opatrne, pozitivita ANA sa považuje za relatívnu kontraindikáciu ich podania).

Pri dlhodobom pretrvávaní a obzvlášť pri progresii nálezu v rámci autoimunitného laboratórneho syndrómu je vhodná dispenzarizácia u klinického imunológa i s ohľadom na jeho možnosti ďalšej diferenciálnej diagnostiky metódami II. voľby.

### 2.1.2 Imunologické vyšetrenia II. voľby

Tieto nadväzujú na nálezy z vyšetrovacích metód I. voľby (v kontexte s príslušným klinickým nálezom) a slúžia na potvrdenie diagnózy autoimunitnej choroby (metódy II. voľby nie sú jednoznačne vymedzené a ich indikácia prináleží prevažne lekárom-špecialistom). U autoimunitných chorôb totiž nemusí byť vždy prítomné zvýšenie hladín imunoglobulínov a ani pozitivita bežne vyšetrovaných autoprotílátok (ANA, reumatoidný faktor) – platí to najmä pre dermatomyozitídu, polymyozitídu, ale i niektoré vaskulitídy a obzvlášť pre orgánové imunopatologické stavy (endokrinopatie, choroby gastrointestinálneho traktu a iné), u ktorých je potrebné vyšetriť niektoré orgánovo-špecifické autoprotílátky.

#### • proteíny akútnej fázy zápalu

Proteíny akútnej fázy zápalu (*acute phase proteins*; APP) sú dôležitou súčasťou nespecifickej imunity a patria medzi principiálne molekuly imunitného systému. Sú výsledkom priameho

pôsobenia prozápalových cytokínov (IL-1, IL-6, TNF) na bunky pečene (dočasne zvýšia syntézu viac ako 30 rozdielnych proteínov plazmy, niektoré – ako napr. pentraxín 3 – sa však môžu pod vplyvom týchto cytokínov tvoriť aj v bunkách imunitného systému, ako sú dendritové bunky, makrofágy) po aktivácii imunity infekčnými, ako aj neinfekčnými stimulmi (popáleniny, poranenia, nádorové procesy, ale aj autoantigény). K hlavným predstaviteľom týchto tzv. *pozitívnych APP* (ich koncentrácia počas zápalu stúpa) patria: C-reaktívny proteín (CRP), pentraxín 3, C3 a C4 zložky komplementu,  $\alpha_2$ -makroglobulín, fibrinogén, sérový amyloid A (proteín so zatiaľ neznámou funkciou, jeho výrazný vzostup, spolu s CRP, pozorujeme u záchvatov horúčky sprevádzajúcich autozápalové choroby),  $\alpha_1$ -antitrypsín, orosomukoid, ceruloplazmín.

Druhá skupina proteínov sa, naopak, pri zápale znižuje – ide o tzv. *negatívne APP* (patria sem transportné a štruktúrne proteíny, ako napr. albumín, transferín, prealbumín a ďalšie), ktoré tak umožňujú organizmu sústrediť sa na syntézu najmä tých proteínov, ktoré sa zúčastňujú na zápalových imunitných a reparačných procesoch.

Väčšina z týchto parametrov má však aj iné funkcie (napr. ako koagulačné faktory; antioxidačné látky; proteíny vychytávajúce kovy) a ako APP sa stanovujú výnimočne (s výnimkou CRP, orosomukoidu a prokalcitonínu).

Reakcie akútnej fázy zápalu predstavujú teda uniformnú adaptačnú odpoveď na poškodenie tkanív v dôsledku infekcie, ale aj iných neinfekčných procesov, ktoré môžu mať imunitný (autoimunitné, hypersenzitívne, autozápalové, potransplantačné reakcie, malígne procesy a iné) alebo i neimunitný (popálenie a iné úrazy, ožiarenie a pod.) podklad; ide o nešpecifickú reakciu organizmu.

- **C-reaktívny proteín** (*C-reactive protein*; CRP) – klinicky najvýznamnejší proteín akútnej fázy zápalu – pozri vyššie.
- **orosomukoid** ( $\alpha$ -1 kyslý glykoproteín) – pôsobí protizápalovo (potláča aktivitu neutrofilov, inhibuje ich chemotaxiu a oxidačný metabolizmus ako aj aktiváciu komplementu, pri zápale sa zvyšuje s obdobnou dynamikou ako CRP).
- **prokalcitonín** – patrí medzi tzv. nové ukazovatele zápalu, ku ktorým patrí ešte neopterín, adhezívne molekuly a solubilné cytokínové receptory. Dlhé roky sa považoval len za prohormón (je prekursorom kalcitonínu, ktorý v spolupráci s parathormónom reguluje hladinu kalcia). Je však pritom zaujímavé, že ani jeho výrazné zvýšenie vyvolané infekciou nevedie

k zvýšeniu hladiny samotného kalcitonínu a ani k dysregulácii hladín kalcia v sére. Je vysoko špecifickým ukazovateľom systémovej bakteriovej (či mykotickej) infekcie, zatiaľ čo sa jeho hladina podstatne nehýbe pri vírusových, malígnych a ani autoimunitných procesoch. Z tohto dôvodu sa tiež interpretácia jeho zvýšených hladín využíva v diferenciálnej diagnostike medzi zápalom spôsobeným bakteriálnou infekciou (napr. u septických stavov) a zápalom iného pôvodu.

Presná funkcia odpovede akútnej fázy je však zväčša neznáma. Zvýšenie opsonizačnej schopnosti plazmy a zvýšenie hladín antiproteináz napomáhajú mechanizmom nešpecifickej imunity (najmä fagocytóze) a chránia tak tkanivá pred poškodením. A hoci odpoveď akútnej fázy charakterizuje rýchly začiatok a odoznenie, v prípade chronického zápalu, resp. chorôb (autoimunitných, lokálnych či systémových bakteriových infekciách alebo malignitách) môže pretrvávať. Trvalé zvýšenie sérového amyloidu A môže potom viesť k jeho depozícii do interstícia a interferovať tak s funkciou orgánu či tkaniva (napr. s glomerulárnou filtráciou, kontrakciou myokardu a pod.) – u takýchto pacientov sa vŕyvíja choroba, ktorú označujeme ako amyloidóza (nejedná sa teda o autoimunitnú chorobu, ide len o jej asociáciu s proteínmi akútnej fázy).

### • autoprotilátky

Jednotlivé typy autoprotilátok majú určitú:

- špecifitu (definovanú ako pravdepodobnosť, že u osôb bez príznakov autoimunitnej choroby bude aj vyšetrenie autoprotilátok negatívne – čím je teda aj vo všeobecnosti špecifita akéhokoľvek parametra, testu *en bloc* vyššia, tým je menej falošne pozitívnych nálezov,
- senzitivitu (definovanú ako pravdepodobnosť, že u pacientov s autoimunitnou chorobou je aj vyšetrenie autoprotilátok pozitívne – čím je teda senzitivita *en bloc* vyššia, tým je aj menej falošne negatívnych nálezov).

Sú asociované s rôznymi typmi autoimunitných chorôb (pri terapii sa ich titry väčšinou znižujú, u niektorých pacientov počas remisie choroby môže dôjsť aj k ich spontánnemu vymiznutiu). Aj keď zvýšenie koncentrácie protilátok, ktoré sú pre danú chorobu patognomické, obvykle odráža aktivitu choroby, je nevyhnutné uviesť, že v mnohých prípadoch nález autoprotilátok a aktivita choroby nekorelujú – u niektorých autoimunitných

chorôb sa vyskytujú autoprotilátky diagnostické pre určitú chorobu, ktoré majú však skôr regulačný charakter (niekedy dokonca snád' aj protektívny) a na samotnej patogenéze tkanivového poškodenia sa podieľajú skôr mechanizmy bunkovej imunity (IV. typ). Zvýšené hladiny autoprotilátok ani nemusia vždy znamenať prítomnosť choroby – môžu sa totiž vyskytnúť aj u zdravých osôb (najmä vyššieho veku či prvostupňových príbuzných pacientov). Naopak, niektoré autoprotilátky sú prediktívne – vyskytujú sa aj mnoho rokov pred samotným začiatkom klinickej manifestácie choroby (napr. antimitochondriálne autoprotilátky u primárnej biliárnej cirhózy). O iných autoprotilátkach je zas možné povedať, že sú asociované s určitou autoimunitnou chorobou (o ich úlohe v patogenéze choroby nie je totiž veľa známeho) – sú čiastočne diagnostické, aj keď nie celkom špecifické, sú namierené proti ubikvitárnym antigénom, ale pritom ku klinickej manifestácii dochádza len v určitom orgáne (napr. ANCA protilátky u idiopatických zápalov čreva, či protilátky proti F-aktínu u autoimunitných hepatítid).

Diagnostické je vyšetrenie autoprotilátok v sére – obdobne, ako samotné autoimunitné nozologické jednotky, môžeme ich teda rozdeliť na:

**1. orgánovo-nešpecifické** – proti ubikvitárnym autoantigénom nachádzajúcim sa prakticky v každej jadrovej bunke (pozri tab. 2):

- antinukleové (**ANA**): proti jednovláknovej (**ssDNA**) – autoimunitná hepatitída alebo dvojvláknovej DNA (**dsDNA**) – systémový lupus erythematosus; proti RNA (**RNA**) – difúzna choroba spojiva; ich nízke titry je však možné zistiť aj u niektorých zdravých osôb (až u 20 – 25 %) predovšetkým vo vyššom veku – väčšinou však ide len o nízke hladiny málo afinitných autoprotilátok izotypu IgM (počet osôb s vysokými titrami sa v zdravej populácii odhaduje na maximálne 1 %), existujú však i prípady s vyššími hladinami IgG autoprotilátok bez prítomnosti manifestnej choroby;

- extrahovateľné nukleové (**ENA**): proti ribonukleoproteínu U1, resp. U2 (**anti-RNP**) – zmiešaná choroba spojivového tkaniva (MCTD); proti Ro (**SS-A**), resp. proti La (**SS-B**) – primárny Sjögrenov syndróm, systémový lupus erythematosus; proti Jo-1 (**Jo-1**; označenie pochádza zo skratky priezviska pacienta, u ktorého sa táto protilátka prvý raz dokázala; dnes už vieme, že ide o histidyl-t-RNA-syntetázu) – polydermatomyozitída; proti Smithovmu

antigénu (**Sm**) – systémový lupus erythematosus (špecificita je takmer 100 %); proti histónom – systémový lupus erythematosus (vrátane liekmi indukovaného); proti topoizomerase 1 (**Scl-70**) – sklerodermia (najmä difúzna forma), proti Mi-2 (**Mi-2**; komplex jadrových proteínov neznámej funkcie) – dermatomyozitída, proti Ku (**Ku**, DNA-viažúci proteín dimér) – polymyozitída asociovaná so sklerodermiou;

- anticentromérové (**ACA**): proti centromérovým proteínom CENP-A, B, C – CREST syndróm, sklerodermia (limitovaná forma), primárna biliárna cirhóza;

- antinukleolové: proti nukleolovému proteínu (**PM-Scl**) – polymyozitída asociovaná so sklerodermiou;

- anticytoplazmové: u jednotlivých nozologických jednotiek vaskulitíd namierené proti proteináze 3 neutrofilov (**c-ANCA**) – granulomatóza s polyangiitídou (tzv. Wegenerova granulomatóza), ktorá sa však nachádza aj v monocytoch, makrofágoch, endotelových bunkách a epitelových bunkách alveol alebo renálnych tubulov; resp. proti myeloperoxidáze neutrofilov (**p-ANCA**) – eozinofilná granulomatóza s polyangiitídou (tzv. Churgov-Strausovej syndróm), mikroskopická polyangiitída, nekrotizujúca kosáčiková glomerulonefritída; proti rôznym cytoplazmovým antigénom neutrofilov (**ANCA**) sa vyskytujú aj u primárnej sklerotizujúcej cholangitíde, autoimunitnej hepatitíde, ulceróznej kolitíde, kryptogénnej fibrotizujúcej alveolitíde; proti cytoplazmovému antigénu SRP (*signal recognition particle* – proteín slúžiaci na transport novosyntetizovaných proteínov do endoplazmového retikula; **anti-SRP**) – polymyozitída; proti cytoplazmovému baktericídneho permeabilitu zvyšujúcemu antigénu (anti-BPI) – cystická fibróza, Crohnova choroba, ulcerózna kolitída, autoimunitné hepatitídy;

- antiimunoglobulínové: proti IgG (tzv. reumatoidný faktor – **RF**) – reumatoidná artritída, systémový lupus erythematosus, kryoglobulínová vaskulitída, Sjögrenov syndróm, primárna biliárna cirhóza;

- anticitrulínové: proti cyklickým citrulínovým peptidom (**anti-CCP**) – reumatoidná artritída;

TAB. 2

## ORGÁNOVO-NEŠPECIFICKÉ AUTOPROTILÁTKY A S NIMI ASOCIOVANÉ AUTOIMUNITNÉ CHOROBY

Skupina autoprotilátok	Cieľový antigén	Asociované choroby	
		najčastejšie	niektoré z ďalších
antinukleové (ANA)	ds-DNA	SLE	Sjögrenov sy, a. hepatitída, a. tyreoiditída
anticentromérové (ACA)	centromerový proteín CENP-A, B, C	CREST sy	primárna biliárna cirhóza, limitovaná SSc
extrahovateľné nukleové (ENA)	Sm	SLE	
	ribonukleoproteín U1	MCTD	SLE, prekryté sy
	SS-A/Ro	Sjögrenov sy	SLE
	SS-B/La	Sjögrenov sy	SLE
	topoizomeráza I Scl-70	SSc	
	histidyl-t-RNA syntetáza Jo-1	polymyozitída, dermatomyozitída	alveolitída
	Históny	liekmi indukovaný lupus erythematosus	SLE, SSc, RA
	komplex proteínov Mi-2	dermatomyozitída	
	DNA-viažuci proteín Ku	polymyozitída/SSc prekrytý sy	SLE, Sjögrenov sy, SSc
antinukleolové	nukleolový proteín PM-Scl	polymyozitída/SSc prekrytý sy	polydermatomyozitída, SSc
anticytoplazmové	proteínáza 3 c-ANCA	granulomatóza s polyangiitídou	cystická fibróza
	myeloperoxidáza p-ANCA	mikroskopická polyangiitída, Churgov-Straussovej sy, idiopatická progredujúca GN	SLE, RA, JIA, m. Crohn, ulcerózna kolitída a iné a. Choroby
	transportný proteín SRP	polymyozitída	
	baktericídny permeabilitu zvyšujúci proteín BPI	cystická fibróza	m. Crohn, ulcerózna kolitída, a. hepatitídy, vaskulitídy
anti-Ig - reumatoidný faktor (RF)	IgG	RA	rôzne vaskulitídy a iné a. choroby
anticitrulínové (anti-CCP)	cyklické citrulínové peptidy	RA	vo veľmi malom % u ostatných a. chorôb
antimitochondriové (AMA)	alutamát-pyruvát dehydrogenáza	primárna biliárna cirhóza	Sjögrenov sy
anti-liver-kidney microsomes (ALKM)	P450	a.hepatitída II.typ	Sjögrenov sy
antifosfolipidové (ACLA)	kardiopilid difosfatidyl-glycerol	antifosfolipidový sy	SLE
proti hladkým svalom	F-aktín	a.hepatitída I.typ	primárna biliárna cirhóza, vírusové hepatitídy



- antimitochondriové: proti glutamát-pyruvát dehydrogenáze mitochondrií (**AMA**) – primárna biliárna cirhóza, Sjögrenov syndróm;
- liver – kidney microsomes: proti cytochrómu P450 (**LKM**) – autoimunitná hepatitída II. typ, Sjögrenov syndróm;
- antikardiolipidové: proti fosfolipidom, najčastejšie kardiolipidu, t. j. difosfatidyl-glycerolu; **ACLA** (bližšou analýzou antifosfolipidových protilátok sa však zistilo, že nie sú namierené proti fosfolipidom, ale proteínom, ktoré ich viažu – ide najmä o  $\beta_2$ -glykoproteín I, protrombín a annexín V; možno ich identifikovať aj funkčnými testami, ktorými sa meria predĺženie doby koagulácie – pretože sa ACLA najčastejšie detegovali pri SLE (pozitívne sú u 30 – 40 % pacientov so SLE), dostali tiež označenie ako „lupusový antikoagulant“) – antifosfolipidový syndróm, systémový lupus erythematosus; ich prítomnosť by však mala byť dokázaná pri dvoch odberoch s intervalom najmenej 12 týždňov (má ich totiž aj 5 % zdravých osôb);
- proti hladkým svalom: proti F-aktínu (**ASMA**) – autoimunitná hepatitída I. typ, primárna biliárna cirhóza;
- proti modifikovanému C-reaktívnemu proteínu (**mCRP**) – syndróm tubulointerstíciovej nefritídy a uveitídy).

**2. orgánovo-špecifické** – imunitná odpoveď (t. j. autoproti látky, resp. autoreaktívne T-lymfocyty) je namierená proti autoantigénu, ktorý je špecifický len pre daný orgán (ten však zatiaľ ešte u niektorých chorôb, ako napr. psoriasis vulgaris, vitiligo a iné, ešte nebol presne definovaný), konkrétne najmä proti:

- receptoru štítnej žľazy pre TSH (**anti-TSH**); tyreoidovej peroxidáze (**anti-TPO**); tyreoglobulínu (**anti-TG**) – m. Graves-Basedow;

- receptoru pre TSH (na rozdiel od m. Graves-Basedow pôsobia však inhibične a nie stimulačne); tyreoidovej peroxidáze (**anti-TPO**); tyreoglobulínu (**anti-TG**); mikrozómom tyrocytov – m. Hashimoto;
- bunkám Langerhansových ostrovčekov (**ICA**); dekarboxyláze kyseliny glutámovej (**GADA65**); inzulínu (**IAA**); tyrozínfosfatáze  $\beta$ -buniek (**IA-2A**) – autoimunitný diabetes mellitus (DM1A);
- antigénom buniek kôry nadobličiek (autoantigény cytoplazmy predstavujú enzýmy zúčastňujúce sa steroidogenézy, predovšetkým 21-hydroxyláza P450c2 exprimovaná výhradne v kôre nadobličiek, ale aj P450c17 a P450scc, ktoré okrem buniek kôry nadobličiek produkujú aj ovária, testes a placenta) – m. Addison, resp. autoimunitný polyglandulový syndróm 1 alebo 2;
- parietálnym bunkám žalúdka (enzýmu protónovej pumpy  $H^+/K^+$ -ATP-áze); tzv. vnútornému faktoru (intrinsic faktor – **IF**) – perniciózna anémia;
- rôznym antigénom gonád (predovšetkým proti zona pellucida, ale aj proti enzýmom zúčastňujúcim sa steroidogenézy P450c17 a P450scc, ktoré však produkuje aj placenta a bunky kôry nadobličiek) – autoimunitné poruchy reprodukcie (spôsobujú ich aj protilátky proti spermiiám) a syndróm predčasného ovariálneho zlyhania;
- receptoru pre acetylcholín (**anti-AChR**) – myastenia gravis;
- antigénom priečne pruhovaných svalov (napr. aktínu, myozínu, tropomyozínu) – myastenia gravis asociovaná s tymómom;
- gangliozidom motorických a senzorických nervov a nervových koreňov – periférne demyelinizačné neuropatie (z nich najčastejší Guillainov-Barrého syndróm);
- bázičnému myelínovému proteínu (**MBP**) – sclerosis multiplex;

- membránovým antigénom erytrocytov – hemolytická anémia; autoprotílátky sa detegujú tzv. Coombsovým testom: priamym (zistuje sa prítomnosť protílátok nadviazaných na červených krvinkách po pridaní Coombsovho séra obsahujúceho heterológne protílátky proti ľudskému IgG – ak sú erytrocyty obalené autoprotílkami, heterológne protílátky sa na ne nadviažu, dochádza k ich aglutinácii a test je pozitívny) alebo nepriamym (v sére chorého sa zisťujú voľné autoprotílátky, ktoré sú neaglutinačné, a preto sa tiež nazývajú aj ako „inkompletné protílátky“; k séru je potrebné pridať ľudské erytrocyty od zdravej osoby s krvnou skupinou 0 – ak sú prítomné autoprotílátky, nadviažu sa na pridané červené krvinky a po pridaní Coombsovho séra dôjde už k aglutinácii rovnakým mechanizmom ako pri priamom teste), najvyššia afinita v tomto teste sa dosahuje buď pri 37° C (teplotné autoprotílátky) alebo pri nízkych teplotách 4 – 5° C (chladové autoprotílátky – s erytrocytmami pri 37° C nereagujú a ak boli na ne predtým nadviazané, tak sa pri tejto teplote od nich uvoľňujú);

- antigénom trombocytov – trombocytopénia;

- membránovým antigénom neutrofií – neutropénia;

- bazálnej vrstve epidermis – pemfigus;

- zatiaľ neznámy autoantigén kože (cytokeratín 17) – psoriasis vulgaris;

- melanocytom – vitiligo;

- retinovému S-antigénu – uveitída;

- vimentínu, myozínu, tropomyozínu, keratínu – febris rheumatica;

- proteínom teplotného šoku (**HSPs**; heat shock proteins) – ateroskleróza;

- bazálnej membráne glomerulov (**anti-GBM**) – Goodpasturov syndróm (tzv. anti-GMB choroba);
- bazálnej membráne tubulov (**anti-TBM**) – akútna interstíciová nefritída, syndróm tubulo-interstíciovej nefritídy a uveitídy.

Pre autoimunitné choroby, ktoré nie sú sprevádzané výskytom autoprotílátok, je však laboratórna diagnostika neľahká a spočíva na iných kritériách. Prínosom je u nich histologické vyšetrenie vzorky odobranej z postihnutého tkaniva (granulómy, infiltrácia lymfocytmi – pozri kap. Ostatné pomocné vyšetrenia – Histologické vyšetrenia). Histologické vyšetrenia) alebo vyšetrenie typu lymfocytov vyplavených z postihnutého tkaniva (bronchoalveolová laváž, cerebrospinálna tekutina). Na druhej strane však ani nález autoprotílátok neznamena ešte automaticky diagnózu (v nízkych koncentráciách sa totiž vyskytujú aj fyziologicky – ich výskyt stúpa s vekom, preto je možné nález autoprotílátok vo vyššom veku považovať za viac menej fyziologický; naopak, u detí je potrebné venovať prítomnosti autoprotílátok väčšiu pozornosť a deti dispenzarizovať.

Pri adekvátnej terapii sa titry autoprotílátok väčšinou znižujú, niekedy môže v remisii choroby dôjsť aj k ich spontánnemu vymiznutiu. Naopak, zvýšenie koncentrácie autoprotílátok, ktoré sú pre danú chorobu patogenetické, obvykle odráža jej aktivitu. V mnohých prípadoch však nález autoprotílátok a aktivita choroby nekorelujú. Pacientov preto zbytočne nestrašíme diagnózou iba na základe prítomnosti autoprotílátok. Pre interpretáciu nálezu ich pozitivity je potrebné mať dostatok skúseností a z tohto dôvodu prináleží lekárom špecializovaných ambulancií, ako sú klinický imunológ, reumatológ, gastroenterológ, neurológ, nefrológ, endokrinológ, ale aj diabetológ, pneumológ a iní. Okrem poznania asociácií autoprotílátok s určitými nozologickými jednotkami je totiž potrebné vziať do úvahy napr. aj skutočnosť, z ktorého laboratória výsledok pochádza, aká je metóda ich stanovenia – čím je citlivejšia, tým skôr zachytí aj nízke titry fyziologických autoprotílátok (imunofluorescencia vs. ELISA alebo westernblot vs. RIA). Navyše, rôzne typy autoprotílátok je možné nájsť aj u pacientov vyšetrených vo včasných štádiách po prekonanom infekčnom zápale a niektoré autoprotílátky sa zase môžu vyskytovať aj u chronických infekcií (či už ide o „pravé“ autoprotílátky alebo

o skrížene reagujúce antiinfekčné protilátky), adekvátne liečba infekcie vedie však k ich vymiznutiu.

### ● imunoglobulíny

Stanovenie koncentrácie imunoglobulínov (Ig) má v diagnostike autoimunitných chorôb väčšinou len pomocný význam, u väčšiny systémových chorôb býva *hyperimmunoglobulinémia* (predisponovať k autoimunitným chorobám môže však aj deficiencia IgA; tento fakt môže preto komplikovať interpretáciu výsledkov a je potrebné s tým počítať i u chorôb, u ktorých by sme očakávali zvýšené hodnoty IgA). Vysoká koncentrácia IgG býva spojená s diagnózou primárneho Sjögrenovho syndrómu, IgG a IgA bývajú vysoké u autoimunitných hepatítid. Znížená koncentrácia IgG môže zas byť odrazom nefrotického syndrómu pri prebiehajúcom postihnutí obličiek. Vysoké IgM je typické pre primárnu biliárnu cirhózu, naopak znížené IgM sprevádza predovšetkým pokročilé štádiá systémového lupus erythematosus. Izolované zvýšenie IgA sprevádza nešpecifické zápaly čreva, pľúcne imunopatologické stavy a Bechterevovu chorobu, so zvýšením IgE sa stretávame u niektorých vaskulítid (najmä u Churg-Strausovej syndrómu) i ďalších systémových chorôb (napr. dermatopolymyozitíd).

### ● cirkulujúce imunokomplexy

Aj význam stanovenia cirkulujúcich imunitných komplexov v diagnostike autoimunitných chorôb je len obmedzený – vyšetrenie je veľmi nešpecifické (zachytiť prakticky akýkoľvek imunokomplex v sére, v žiadnom prípade teda nie je možné rozlíšiť špecifické patologické komplexy) a ani ich zvýšenie v sére nemusí teda znamenať, že ide o imunokomplexovú chorobu (III. typ reakcie z precitlivenosti) a *vice versa* ich negativita diagnózu autoimunitnej choroby ešte nevylučuje – patogenetické sú totiž imunokomplexy uložené priamo v tkanivách (*in situ*). Aj napriek uvedeným limitom sa však stanovenie CIK používa v diagnostickej mozaike najmä tých imunopatologicky podmienených chorôb, u ktorých dôležitú úlohu hrá abnormálna odpoveď na exogénny alebo endogénny antigén III. typu (tzv. hypersenzitivita spôsobená imunokomplexami), resp. u ktorých t. č. ešte stále chýba jednoznačný patognómický laboratórny parameter (napr. u kryptogénnej fibrotizujúcej alveolitídy môže mať až 50 % pacientov zvýšené hodnoty CIK).

## • komplement

U imunokomplexových chorôb je potrebné komplement vyšetriť:

- kvantitatívne – jeho C3 a C4 zložky (vyšetrenie ostatných zložiek sa robí iba na špecializovaných pracoviskách v zahraničí), systém vykazuje výraznú dynamiku: najskôr dochádza k jeho aktivácii a k zvýšenej tvorbe týchto zložiek v pečeni (v počiatočnej fáze alebo pri reaktivácii), neskôr dochádza k jeho väzbe a ukladaniu imunokomplexov. V takýchto prípadoch je možné zachytiť štádium zvýšenia zložiek (najmä C3) a následne ich zníženie (pri vychytávaní v imunokomplexoch väčšinou dochádza k výraznejšiemu zníženiu C4), naopak, C3 býva izolovane znížená pri postreptokokovej glomerulonefritide zrejme v dôsledku aktivácie alternatívnej dráhy – k jej stanoveniu sa používa test AH50 ako alternatíva k CH50, ktorý sa používa u klasickej cesty. Monitorovanie koncentrácie komplementu má preto význam pre sledovanie aktivity choroby (a tým aj účinnosti terapie) a je prínosnejšie ako stanovenie cirkulujúcich imunokomplexov v sére (nevypovedá totiž nič o aktuálnej depozícii imunokomplexov v cieľových tkanivách, ako napr. v koži či obličkách). Deficiencia zložiek komplementu (predovšetkým C2 a C4) môže, naopak, predisponovať k rozvoju imunokomplexovej choroby.

- kvalitatívne – z funkčných testov sa doporučuje vyšetrenie tzv. celkovej hemolytickej aktivity komplementu, ktoré je indikované pri podozrení na poruchu kdekoľvek v komplementovej kaskáde aktivovanej klasickou cestou (classical pathway; CH50 alebo CH100), predovšetkým mimo zložiek C3 a C4, ktoré je totiž možné jednoducho vyšetriť aj kvantitatívne (pozri vyššie). Hlavnou indikáciou tohto funkčného testu je preto podozrenie na nedostatočnú funkciu membránolytického komplexu (výsledný membrány atakujúci komplex spôsobuje lýzu erytrocytov pridaných do testovacieho systému). Obdobne, ako u hladín C3 a C4, má však pre sledovanie vývoja choroby väčší význam sledovanie jeho dynamiky.

Alternatívna cesta komplementu sa vyšetruje buď stanovením kľúčových faktorov (ako sú napr. faktor B, properdín), alebo funkčne stanovením hemolytickej aktivity alternatívnej cesty komplementu (alternative pathway; AH50).

## • HLA

Posledné desaťročie minulého storočia sa stalo prevratným aj z hľadiska širokého zavádzania metód molekulárnej genetiky do rutinej laboratórnej praxe. DNA-metodiky takto preskočili

výskumné pracoviská a sú k dispozícii aj v bežných laboratóriách klinickej imunológie, biochémie a iných. Metóda, ktorá uskutočnila túto metodickú revolúciu, sa označuje ako polymerázová reťazová reakcia (*polymerase chain reaction*; PCR).

V nadväznosti na uvedené k možnostiam diagnostiky aj u niektorých autoimunitných chorôb priamo v klinickej praxi pribudlo stanovenie HLA-molekúl I. a II. triedy. Jeho podkladom je poznanie ich výraznej vzájomnej asociácie (ako prvá bola už v roku 1973 popísaná asociácia medzi ankylozujúcou spondylitídou a HLA-B27). Vyjadruje sa tzv. relatívnym rizikom (RR) – označuje, koľkokrát sa určitá choroba vyskytuje častejšie u ľudí vlastniacich príslušnú molekulu oproti osobám, ktoré ju nemajú (tab. 3).

TAB. 3  
ASOCIÁCIA NIEKTORÝCH HLA-ALEL S AUTOIMUNITNÝMI CHOROBAMI

CHOROBA	HLA-MOLEKULA	RELATÍVNE RIZIKO
Bechterevova choroba	B27	87,4
Uveitída	B27	10,4
Psoriasis vulgaris	Cw6	13,3
Goodpasturov syndróm	DR2	15,9
Sclerosis multiplex	DR2	4,18
Sjögrenov syndróm	DR3	9,7
Gravesova-Basedowova choroba	DR3	3,8
Systémový lupus erythematosus	DR3	5,8
Myasthenia gravis	DR3	2,5
Dermatomyozitída	DR3	3,9
Pemphigus vulgaris	DR4	14,4
Reumatoidná artritída	DR4	4,0
Guillainov-Barrého syndróm	DR3	4,8
Celiakia	DR3	10,8
	DR7	4,8
	DR7/DR3	60,0
	DQ2	38,5
Diabetes mellitus 1A	DR3	3,3
	DR4	6,41
	DR3/DR4	47,0

pozn.: Relatívne riziko (RR) udáva, koľkokrát častejšie sa daná choroba vyskytuje u jedincov s identickou HLA-alelou/molekulou ako u jedincov, ktorí ju nemajú

Prirodzená selekcia, ako jedna z možností interpretácie vzniku väzbovej nerovnováhy HLA-génov, je zodpovedná aj za tzv. „autoimunitný haplotyp“ (existencia väzbovej nerovnováhy medzi alelami determinujúcimi molekuly HLA-A1, -B8, -DR3, -DQ2), ktorý vlastní približne

až 10 miliónov Európanov. Spája sa s vnímavosťou na mnohé autoimunitné choroby, ako je autoimunitný diabetes mellitus, myastenia gravis, systémový lupus erythematosus, sklerodermia, celiakia (ale aj akcelerovaná progresia HIV-infekcie – AIDS).

Najvýraznejšia je už uvedená asociácia HLA-B27 s ankylozujúcou spondylitídou, uveitídami, nešpecifickými črevnými zápalmi a reaktívnymi artritídami. Autoimunitný nešpecifický genotyp predstavuje kombinácia HLA-A1, -B8. Reumatoidná artritída je tiež asociovaná s niektorými alelami v oblasti HLA-DR4. Prehľad dôležitých asociácií medzi HLA-molekulami a chorobami je uvedený v tab. 3. Ďalšou oblasťou indikácie k vyšetreniu HLA sú aj nežiaduce účinky liekov: niektoré komplikácie farmakoterapie sú častejšie u nositeľov určitej kombinácie HLA.

#### • vyšetrenie bunkovej imunity

Vyšetrovanie bunkovej imunity pri podozrení na systémové autoimunitné choroby nie je u dospelých vo väčšine prípadov indikované. U detí a adolescentov je skôr vhodné v rámci diferenciálnej diagnostiky, či sa nejedná o prejav autoimunity pri vrodenej imunodeficiencii.

• **subpopulácie T-lymfocytov** – ich stanovenie sa dnes robí výhradne metódou prietokovej cytometrie. Rozmedzie ich normálnych hodnôt v krvi je však veľmi široké, takže ako patologické je možné hodnotiť len veľmi podstatné odchýlky od normy. Určitú hodnotu má i pomer CD4<sup>+</sup>- a CD8<sup>+</sup>-lymfocytov. Za normálnych okolností je prvého typu dvakrát viac ako druhého – z toho vyplýva, že fyziologická hodnota tohto pomeru má byť okolo 2,0. Pre autoimunitnú etiológiu choroby svedčí skôr jeho výrazné zvýšenie, aj keď jeho normálna alebo znížená hodnota (napr. v dôsledku sprievodného imunodeficitu, či už primárneho alebo sekundárneho) túto etiológiu jednoznačne nevylučuje.

U chorôb, u ktorých sa nevyskytujú autoprotílátky, je indikované vyšetrenie bunkovej imunity vo vhodne odobratom materiáli z postihnutého tkaniva alebo orgánu. Jedná sa predovšetkým o stanovenie subpopulácií T-lymfocytov v bronchoalveolovej laváži pri podozrení na sarkoidózu a iné imunopatologické pľúcne stavy, resp. v cerebrospinálnej tekutine pri podozrení na demyelinizačné ochorenia, predovšetkým na sclerosis multiplex.

• **funkčné testy *in vivo*** – jednou zo základných metód imunologického vyšetrenia sú kožné testy, ktorými zisťujeme stav obranyschopnosti i precitlivenosti na jednotlivé antigény. Pri prvom type hypersenzitívnych reakcií vzniká po aplikácii antigénu (alergénu) reakcia za 10 až



15 minút (urtikový pupenec s vyblednutím, difúzne začervenené okolie). Pri III. type sa difúzny infiltrát v mieste vpichu zjaví za 6 až 8 hodín. Oneskorená precitlivenosť sa zisťuje za 24 až 48 hodín a charakterizuje ju indurácia a začervenenie. Majú význam predovšetkým pri alergických stavoch a pri reakciách oneskorenej precitlivenosti. Ich význam pri imunokomplexových chorobách je dnes už výrazne obmedzený, nakoľko v klinickej praxi sa kožné testy na zisťovanie tretieho typu precitlivenosti už nepoužívajú v dôsledku zavedenia novších exaktnejších diagnostických metód.

- **funkčné testy *in vitro*** – indikácie k ich vyšetreniu sa do určitej miery zhodujú s indikáciami vyšetrení T-lymfocytových subpopulácií – hlavnou indikáciou je podozrenie na bunkový deficit, tak primárny (predovšetkým u ťažkej kombinovanej imunodeficiencie – *severe combined immunodeficiency disease*; SCID), ale jeho zníženie pozorujeme aj u celého radu sekundárnych imunodeficiencií (napr. u diabetikov, pacientov s chronickým obličkovým zlyhaním), ale tiež u pacientov s aktívnymi štádiami systémových autoimunitných chorôb, ako napr. u sarkoidózy. Tieto testy síce konštatujú určitý defekt, ale nevyjadrujú sa k jeho príčinám, preto by nemali byť metódou prvej voľby.

Funkcia B-lymfocytov sa väčšinou stanovuje nepriamo, t. j. sleduje sa produkcia protilátok proti proteínovým (obvykle voči tetanu) alebo polysacharidovým (obvykle proti pneumokokom) antigénom. Doménou ich využitia je však diagnostika imunodeficiencií.

Ďalšia z možností sledovania funkcie lymfocytov sa zakladá na monitorovaní ich blastической transformácie. Lymfocyty sa dostanú do mitotickej aktivity a menia sa na blastické bunky, resp. dôjde k ich úplnému rozdeleniu po podaní mitogénu (na rozdiel od antigénov aktivujú mitotické delenie nielen jedného klonu buniek, ale mnohých klonov – ide o polyklonovú aktiváciu, testuje sa teda celá populácia T-, resp. B-lymfocytov). Na rutinné vyšetrenie sa používajú: fytohemaglutinín (PHA) – stimuluje prevažne subpopuláciu CD4<sup>+</sup>, zatiaľ čo konkanavalín A (Con. A) prevažne CD8<sup>+</sup> T-lymfocytov; stafylokokový proteín A stimuluje špecificky B-lymfocyty a PWM (pokeweed mitogen) stimuluje T-aj B-lymfocyty (v súčasnosti sa však už prechádza od stimulácie buniek nešpecifickými mitogénmi k špecifickej stimulácii pomocou monoklonových protilátok, napr. anti-CD3).

Niektoré testy blastической transformácie (správnejšie aktivácie lymfocytov) sú založené na princípe, že aktiváciu lymfocytov sprevádzajú zmeny v zastúpení a expresii niektorých povrchových membránových molekúl, ktoré sa nazývajú aktivačné. Včasným aktivačným

znakom, ktorý sa objavuje na povrchu aktivovaných lymfocytoch už po niekoľkých hodinách (vrchol však dosahuje až na druhý deň), je molekula CD69. Neskoršími aktivačnými znakmi sú CD25 (tzv. alfa podjednotka receptora pre IL-2 – objavuje sa po cca 48 hodinách), znaky CD71 (transferínový receptor) a HLA-DR nadobúdajú svoj vrchol po cca 72 hodinách.

Normálne hodnoty majú však v teste blastickej transformácie (opäť obdobne ako u subpopulácií T-lymfocytov) veľký rozptyl. Nízke hodnoty proliferácie po stimulácii mitogénmi svedčia pre bunkový deficit, ktorý je následne potrebné definovať ďalšími metódami a vyšetrením. Vysoké spontánne hodnoty proliferácie môžu zas sprevádzať stavy spojené s celkovou aktiváciou imunitného systému, akú sú systémové zápalové stavy, vrátane autoimunitných, sepsa, bakteriálne infekcie a ďalšie.

## 2.2 OSTATNÉ POMOCNÉ VYŠETRENIA

Pre konečnú diagnózu akejkoľvek choroby, vrátane imunopatologicky podmienenej, je vždy dominantný klinický obraz, uvedené pomocné vyšetrenia sú vždy len doplňujúce a musia sa preto posudzovať v korelácii s klinickým obrazom (obdobný je i prístup k terapii). Vždy totiž liečime chorého človeka, jeho konkrétne obtiaže, jeho chorobu a nie napr. jeho *rtg* alebo *EMG* nález.

### 2.2.1 Histologické vyšetrenie

Cieľom imunohistochemických metód je znázornenie lokalizácie konkrétnej molekuly v bunkách (prítomných však aj v suspenzii, napr. z cerebrospinálnej tekutiny, bronchoalveolárnej laváže a pod.) a tkanivách (odobraných biopsiou) pomocou špecifických protilátok (je to typická interdisciplinárna metóda uplatniteľná v imunológii a patológii). U autoimunitných chorôb má preto diagnostický, patogenetický a do určitej miery i prognostický význam. Z mnohých aplikácií, ktoré súvisia s diagnostikou imunopatologických stavov ide najčastejšie o hodnotenie zloženia bunkového infiltrátu u autoimunitných chorôb, detekciu uložených imunokomplexov a zložiek komplementu v tkanivách. V nadväznosti na skutočnosť, že autoimunitné choroby (či už orgánovo-nešpecifické alebo orgánovo-špecifické, resp. orgánovo-lokalizované) nemajú jednotnú

imunopatogenézu a môžu postihovať ktorýkoľvek orgán, je aj histologický nález nesmierne variabilný:

- **lymfatické uzliny** (LU) – vo všeobecnosti sa doporučuje, aby LU presahujúce priemer 1,5 cm, ktorých veľkosť sa do mesiaca nezmenší, boli podrobené histologickému vyšetreniu. Ak ide o generalizované zväčšenie, je najvhodnejšie získať reprezentatívnu vzorku uzliny z krku alebo axily – z ingviny sa extirpácia prevádza len vtedy, keď uzliny v týchto oblastiach nie sú dostupné (z dôvodu častých chronických zápalov v tejto oblasti a na dolných končatinách, ktoré podmieňujú nešpecifické histologické zmeny v LU).

- **slinné žľazy** – ich biopsia je najpresnejším ukazovateľom postihnutia pri Sjögrenovom syndróme.

- **cievy** – hoci pre žiadnu vaskulitídu (dokonca ani pre užšie vymedzenú podskupinu ANCA asociovaných vaskulítid) neexistujú patognomické histologické nálezy (a to ani pri biopsiách viscerálnych orgánov), zostáva vyšetrenie bioptickej vzorky jedným zo základných diferenciálnodiagnostických postupov tejto nozologickej jednotky (za tzv. „zlatý štandard“ sa považuje napr. u obrovskobunkovej artritídy).

- **svaly** – histologické vyšetrenie svalovej biopsie s typickým nálezom je základnou oporou klinickej diagnózy u idiopatických zápalových myopatií – zatiaľ čo pri dermatomyozitíde sú primárnym terčom poškodenia kapiláry (myocyty sú postihnuté až sekundárne), tak polymyozitída (vzhľadom k rozdielnej imunopatogenéze) známky poškodenia kapilár nejaví (cytotoxické T-lymfocyty aj makrofágy napádajú zdravé nenekrotické svalové vlákna).

- **koža** – má nezastupiteľné miesto napr. v diferenciálnej diagnostike pľuzgierových autoimunitných chorôb kože a slizníc (intraepidermové vs. subepidermové).

- **obličky** – ich biopsia stále zostáva základom pre klasifikáciu glomerulonefritíd (GN). Zmeny môžu postihovať: len niektoré glomeruly (fokálne), len niektoré kapilárne kľučky (segmentálne) alebo všetky glomeruly (difúzne), resp. všetky kapilárne kľučky v glomerule (globálne zmeny). V nadväznosti na množstvo buniek v glomeruloch (zvýšenie

môže byť spôsobené či už ich infiltráciou krvnými elementami ako sú neutrofily, lymfocyty, monocyty alebo zmnožením, t. zn. proliferáciou mezangiómových, endotelových alebo epitelových buniek) delíme glomerulonefritídy na:

- neproliferatívne – bunkovosť glomerulov nie je zvýšená (napr. nefropatia, resp. nefrotický syndróm s minimálnymi zmenami glomerulov; fokálna segmentálna glomeruloskleróza; membránová GN) a poškodenie glomerulárnej kapilárnej steny sa prejavuje predovšetkým nefrotickou proteínúriou;

- proliferatívne – so zvýšeným počtom buniek v glomerulovom klbku: zmnožené môžu byť buď bunky vo vnútri kapilárneho klbka, t. j. mezangiómové (membránoproliferačná GN, IgA nefropatia), endotelové, neutrofily a monocyty – endokapilárna proliferácia alebo môže dochádzať k zmnoženiu buniek tvoriacich výstelku Bowmanovho púzdra, t. j. parietálnych epitelových buniek, ale tiež vcestovaných monocytov so vznikom tzv. kosáčikov – extrakapilárna proliferácia (predstavuje vždy závažné poškodenie glomerulárnej kapilárnej steny a prítomnosť kosáčikov vo väčšine glomerulov je typická pre rýchlo progredujúce glomerulonefritídy, ako napr. antireálna GN, Goodpasturov syndróm, ANCA-asociované vaskulitídy).

Pod membránovými celulárnymi zmenami rozumieme zhrubnutie steny glomerulovej kapiláry spôsobené abnormálnymi depozitmi proteínov (imunokomplexov) na epitelovej strane bazálnej membrány, zatiaľ čo pod membránovo – proliferáčnymi zmenami rozumieme proliferáciu buniek spojenú so zhrubnutím steny kapilár.

Pre stanovenie typu glomerulonefritídy je dôležité imunofluorescenčné vyšetrenie. Depozitá (imunoglobulínov, komplementu, event. fibrínu) môžu byť totiž lokalizované: mezangiálne (IgA nefropatia, Henoch-Schönleinova purpura), subendoteliálne (lupusová nefritída), epimembránové (akútna GN a membránové nefropatie) alebo intramembránové (membránové nefropatie, Goodpasturov syndróm). Typ imunofluorescencie (granulárny, lineárny, pauciimunitný) má zásadný význam pre rozlíšenie rôznych foriem rýchlo progredujúcej GN. Pri nefrotickom syndróme s minimálnymi zmenami glomerulov sa však nezistia nijaké patologické zmeny ani vo svetelnom, ani v imunofluorescenčnom mikroskope – odhalí ich až elektrónová mikroskopia. Pri fokálnej segmentálnej glomeruloskleróze sa imunohistologickým vyšetrením biopotickej vzorky zistí fokálna segmentová glomeruloskleróza – t. zn. postihnutý (jazvením) nie je celý glomerulus (len jeho časť) a

postihnuté sú len niektoré glomeruly: typicky na začiatku choroby patologické zmeny postihujú iba niektoré glomeruly nachádzajúce sa vedľa seba v tesnej blízkosti (juxtamedulové), čo môže spôsobiť, že pri povrchových biopsiách obličiek sa patologické zmeny spočiatku ani nemusia zachytiť. Postupne sa však postihnutie glomerulov rozšíri aj na ďalšie oblasti obličky (až do jej kôry). Membránoproliferačnú glomerulonefritídu je možné, v nadväznosti na histologický nález, rozdeliť na: typ I (s výraznou proliferáciou mezangiómových buniek; proteíny – IgM, IgG, C3, C4 a C1q – sú deponované do mezangia a do subendotelového priestoru) a typ II (depozity – najčastejšie C3 – sa nachádzajú priamo v bazálnej membráne); mezangioproliferačnou (membránoproliferačnou) GN je aj IgA nefropatia, resp. postihnutie obličiek pri Henochovej-Schönleinovej purpure (v dôsledku mezangiómových depozít imunokomplexov obsahujúcich IgA, s nekrózami a s tvorbou kosáčikov a rôznym stupňom sklerózy).

Histologické vyšetrenie obličiek je však dôležité napr. aj pre stanovenie definitívnej (konečnej) diagnózy akútnej interstíciovej nefritídy či syndrómu interstíciovej nefritídy a uveitídy. Charakterizuje ho tubulointersticiový edém a zápalová infiltrácia (prevažne lymfocytmi, plazmocytmi a histiocytmi), často sú prítomné aj eozinofily a granulómy. Vaskulárna komponenta či postihnutie glomerulov však nebývajú prítomné.

- **pľúca** – typický je nález intraalveolového krvácania a nekrotizujúcej alveolitídy pri Goodpasturovom syndróme. Pri sarkoidóze (ale napr. aj pri tuberkulóze) je v dôsledku imunopatologickej reakcie IV. typu charakteristickým nálezom tvorba epiteloidných granulómov tvorených makrofágmi a epiteloidnými bunkami, ktoré, spolu s tzv. obrovskými bunkami granulómov, pochádzajú zrejme z makrofágov ako odraz ich reakcie na pretrvávajúcu prítomnosť antigénu (s rôznym zastúpením lymfocytov, neutrofilov, eozinofilov a plazmatických buniek); následná fibróza vzniká v dôsledku produkcie cytokínov (najmä IL-1), ktoré stimulujú proliferáciu fibroblastov (tvoria akýsi „múr“, ktorý obkolesuje bunkový konglomerát uvedený vyššie a ktorý takto izoluje chorobné ložisko od zdravého tkaniva) a produkcie kolagénu – granulómy sa, v nadväznosti na výskyt choroby, najčastejšie vyskytujú vo vnútrohruďných lymfatických uzlinách a pľúcach (intrathorakálna sarkoidóza), pri mimohruďných prejavoch však môžu byť postihnuté aj mnohé ďalšie orgány a tkanivá, z hľadiska biptickej verifikácie dostupnejšie (ako napr. koža, príušné žľazy, periférna

lymfadenopatia), ale aj menej dostupné (ako napr. pečeň, slezina, obličky, centrálny nervový systém, myokard, oči).

● **kostná dreň** – jej vyšetrenie (v sternálnom punktáte a trepanobiopтической vzorke) je dôležité najmä pri diagnostike autoimunitných chorôb hematopoetického systému – napr. zatiaľ čo pri aplastickej anémii je dreňový útľm reprezentovaný výrazným znížením celularity kostnej drene, v ktorej krvotvorné tkanivo nahrádza tukové (prítomné však môžu byť početnejšie bunky monocyto-makrofágového systému, plazmocyty či tkanivové bazofily, niekedy býva výraznejšia aj lymfocytóza), tak pri pernicióznej anémii je kostná dreň hypercelulárna so zmnožením megaloblastovej erytropoézy s posunom k menej zrelým formám (odtiaľ pochádza aj jej názov „megaloblastová anémia“), v granulocytárnej rade nachádzame obrovské metamyelocyty a paličky, megakaryocyty bývajú hypersegmentované.

● **črevo** – jeho vyšetrenie je dôležité:

- pri celiakii – zavedenie bezlepkovej diéty pred stanovením diagnózy je hrubou chybou, pretože tak klinické prejavy, ako aj sérologické a histologické zmeny môžu regredovať (diagnóza je potom nejednoznačná a obtiažna); postihnuté je najmä duodenum a jejunum, smerom k ileu má rozsah zmien klesajúcu tendenciu, histopatologicky je možné sledovať štyri štádiá (takéto porušenie architektiky črevnej sliznice je však prítomné len u tzv. klasickej, atypickej a silentnej formy – pozri tab. 4):

I. štádium – v dôsledku zvýšenej cievnej permeability dochádza k tkanivovému edému, extravaskulárnej depozícii fibrinogénu, k influxu polymorfonukleárných leukocytov, ktoré neskôr nahrádzajú lymfocyty (celý proces sa odohráva v lamina propria, poškodenie epitelových buniek sa ešte nepozoruje);

II. štádium je charakterizované infiltráciou T- i B-lymfocytmi, početnejšie však bývajú i eozinofily a mastocyty, dĺžka klkov je však ešte normálna, len krypty sú už predĺžené a tiež infiltrované lymfocytmi (zrejme ako kompenzácia zvýšenej straty epitelových buniek z povrchu klkov);

III. štádium, tzv. deštruktívne charakterizuje už atrofia klkov (a vývoj malabsorpčných príznakov);

IV. štádium sa vyznačuje úplným vymiznutím klkov a možnosťou vývoja ulcerácií (ulcerózna jejunitída) alebo lymfómov, najmä tzv. EATL – kryptogénneho T-lymfómu združeného s celiakiou (nevyhnutné je imunohistologické vyšetrenie intraepiteliálnych lymfocytov).

- pri nešpecifických črevných zápaloch – histopatologický obraz je charakterizovaný:

- Crohnova choroba (postihuje predovšetkým tenké a/alebo hrubé črevo) – akumuláciou lymfocytov a plazmocytov v blízkosti slizničných krýpt; nasleduje influx makrofágov, z ktorých niektoré sa neskôr menia na veľké epiteloidné bunky a tak prispievajú k vzniku granulómov (sú považované za vysoko charakteristické pre túto nozologickú jednotku); nahromadenie buniek na spodine krýpt sa napokon prejaví pri tvorbe abscesov, zatiaľ čo podobný proces na povrchu krýpt spôsobí skôr vznik vredov; zápalový proces sa teda začína *de novo* a v konečnom dôsledku spôsobí aj poškodenie epitelových buniek; transmuralný charakter zmien sa prejaví predovšetkým pri fibróze, pri ktorej dochádza k nepravidelnému zhrubnutiu steny s hypertrofiou muscularis mucosae (čo je aj príčinou striktúr);

- ulcerózna kolitída (tenké črevo nie je primárne postihnuté) – edémom sliznice hrubého čreva, hyperémiou a krvácaním, pri ťažšom priebehu môžu vzniknúť aj vredy; v stene čreva sa tiež nájdu početné lymfocyty, plazmocyty, makrofágy a eozinofily – niekedy črevný epitel invadujú aj neutrofily zapríčiňujúce abscesy krýpt (až na fulminantný priebeh zostáva však chorobný proces obmedzený na mukózu a submukózu); na rozdiel od m. Crohn (pozri vyššie) ide teda primárne o poškodenie epitelových buniek s následným šírením do hlbších vrstiev tkaniva.

- **pečeň** – zatiaľ čo histologické vyšetrenie biopsie (stačí aj necielené, lebo postihnutie je difúzne) u primárnej biliárnej cirhózy nie je pre jej diagnózu v súčasnosti už považované za nevyhnutné, tak nález u autoimunitnej hepatitídy je považovaný za charakteristický – infiltrácia portálnych priestorov mononukleárnymi leukocytmi, ktoré prechádzajú do okolia a vytvárajú periportálny infiltrát, známy ako „interface hepatitis“, či predtým „piece-meal nekrózy“; časté sú infiltráty z plazmatických buniek; fibróza patrí k včasným nálezhom (u časti pacientov je už v okamžiku stanovenia diagnózy prítomná aj cirhotická prestavba); bežným je

tiež nález proliferácie ciev a žľčovodov (nález však nie je patognómický – podobné obrazy je totiž možné nájsť aj u chronických vírusových hepatítid, poliekových hepatítid, primárnej sklerotizujúcej cholangitíde a primárnej biliárnej cirhóze).

TAB. 4  
KLINICKÉ FORMY CELIAKIE

FORMA	PROTILÁTKY	BIOPSIA	PRÍZNAKY
klasická	pozit.	pozit.	pozit.
atypická	pozit.	pozit.	atypické (extraintestinálne)
silentná	pozit.	pozit.	negat. (často pozit. RA)
latentná	pozit.	↑ IEL	negat.
potenciálna	pozit. / negat.	↑ IEL / negat.	väčšinou negat.

pozn.: IEL – intraepitelové lymfocyty, RA – rodinná anamnéza

Pri primárnej sklerotizujúcej cholangitíde (PSC) je biopsia pečene indikovaná v prípade minimálnych zmien v cholangiograme a tiež u pacientov s vysokými hodnotami IgG a aminotransferáz – vo všeobecnosti však môže i histologický nález vzbudzovať rozpaky (PSC má totiž značne fokálny charakter distribúcie v pečňovom parenchýme; u niektorých pacientov sú zápalové zmeny sústredené v okolí veľkých žľčovodov v hile a patológ v štandardnej biopsii nájde len sekundárne nešpecifické dôsledky cholestázy). Typickým nálezom je periduktálna fibróza s cibulovitým vrstvením spojivového tkaniva, ďalej sú prítomné zápalové zmeny a edém, žľčovody atrofujú a postupne sa jazvia.

- **pankreas** – je pochopiteľné, že vzhľadom k limitovaným možnostiam, ako aj existencii iných validných markerov v diagnostike autoimunitného diabetes mellitus, biopsia pankreatického tkaniva nepatrí k rutinným vyšetreniam. Z hľadiska etiopatogenézy choroby je však podporným nálezom, že u novodiagnostikovaných diabetikov 1. typu vírusová infekcia zanecháva na pankreatickom tkanive tzv. vírusový podpis (*virus signature*): zvýšenú expresiu HLA-molekúl I. triedy (ktorá robí pankreatické  $\beta$ -bunky „lepšie viditeľnými“ pre imunitný systém), IFN- $\alpha$  a v neposlednom rade infiltráciu pankreatického tkaniva aktivovanými cytotoxickými CD8<sup>+</sup> lymfocytmi (ktoré sa priamo podieľajú na rozvoji inzulinídy a deštrukcii pankreatického tkaniva).



- **mozog a miecha** – v rámci diferenciálnej diagnózy neurologických chorôb s autoimunitne podmienenou poruchou myelinizácie má histologické vyšetrenie (aj vzhľadom k jeho ešte limitujúcejším možnostiam, ako je tomu pri pankrease a tiež existencii pomocných vyšetrovacích metód, medzi ktorými má zásadné miesto magnetická rezonancia) len okrajové postavenie. U sclerosis multiplex prichádza do úvahy u jej zriedkavej tzv. tumefatívnej formy (tumor-like demyelinizačné lézie CNS klinicky, rádiologicky a niekedy aj patologicky napodobňujúce tumory; tieto intrakraniálne lézie bývajú spravidla viac ako 2 cm veľké a správajú sa agresívnejšie ako typické SM ložiská; často tiež môžu imitovať cerebrálne abscesy alebo gliómy). Samotný histologický nález lézií u SM závisí od veku plakov – čím je ložisko staršie, tým viac je perivaskulárne infiltrované makrofágmi, astrocytmi a lymfocytmi, a tým menej je v ňom zachovaných axónov a oligodendrocytov. Remyelinizácia v CNS je možná, ale morfológicky ani funkčne nie je celkom plnohodnotná a je ju preto možné histologicky oddiferencovať od pôvodnej.

U neuromyelitis optica, tzv. Devicov syndróm ložiská demyelinizácie postihujú hlavne optický nerv a miechu (mozog len okrajovo) a sú odlišné od lézií pri SM – dominantnými bunkami infiltrujúcimi lézie sú neutrofily, bunky, ktoré pri SM prakticky chýbajú (pozri vyššie).

### 2.2.2 Sérologické vyšetrenie

U väčšiny systémových autoimunitných chorôb býva v dôsledku polyklonovej aktivácie B-lymfocytov zvýšená aj koncentrácia protilátok proti celému radu mikroorganizmov: časté sú vysoké titry protilátok proti vírusu Epsteina-Barrovej, proti ostatným herpetickým vírusom (HSV, CMV), ale aj proti boréliám, či toxoplazmóze. Tento fakt je potrebné mať na pamäti, aby u pacienta nebola mylne postavená diagnóza napr. EB virózy či toxoplazmózy, alebo aj ďalších infekcií, za ktorou sa v skutočnosti skrýva systémová autoimunitná choroba. Na druhej strane zase bývajú tieto infekcie niekedy sprevádzané aj autoimunitnými fenoménmi (početnými autoprotiľátkami), ktoré vymiznú po adekvátnej terapii.

### 2.2.3 Hematologické vyšetrenie

Systémové autoimunitné choroby sú obvykle sprevádzané poklesom krvných elementov (cytopenie – lymfopénia, neutropénia, anémia, trombocytopénia) – v sére je niekedy možné

prekážať aj autoprotilátky voči nim. Často však u nich býva tiež zmnoženie počtu eozinofilných leukocytov (najvyššie hodnoty dosahuje u eozinofilnej granulomatózy s polyangiitídou tzv. Churgov-Straussovej syndrómu).

U izolovaných autoimunitných cytopénií sa zníženie týka určitej krvnej rady (u perniciózneho anémie sa v krvi objavujú megaloblasty) – ostatné orgánovo-špecifické autoimunitné choroby odchyľky v krvnom obraze nemávajú.

Hemokoagulačným vyšetrením je možné zistiť prítomnosť tzv. cirkulujúceho antikoagulans. Najčastejšie ide o antifosfolipidové protilátky – možno ich identifikovať aj funkčnými testami, ktorými sa meria predĺženie doby koagulácie (spontánne predĺženie aktivovaného parciálneho tromboplastínového času – aPTT nekorigovateľné pridaním normálnej plazmy); pretože sa najčastejšie detegovali pri SLE, niekedy sa označujú aj ako „lupusový antikoagulant“.

#### **2.2.4 Biochemické vyšetrenia**

U autoimunitných chorôb je možné stretnúť sa s mnohými odchýlkami, ktoré odrážajú postihnutie rôznych orgánov, napr. zvýšené pečeňové testy môžu svedčiť pre autoimunitné hepatitídy; zvýšená aktivita kreatínkinázy pre myozitídu alebo autoimunitnú tyreoiditídu s hypotyreózou; zvýšená aktivita amyláz pre Sjögrenov syndróm; zvýšené koncentrácie urey a kreatinínu, prípadne močový nález proteinúrie alebo erytrocytúrie pre postihnutie obličiek.

#### **2.2.5 Zobrazovacie metódy**

##### **• röntgenové (rtg)**

- kĺbov – má mimoriadny význam v diferenciálnej diagnostike ich postihnutia: napr. neerozívne artritídy (u SLE, Sjögrenovho syndrómu a iných chorôb) vs. erozívne (napr. u reumatoidnej artritídy); známky sakroileitídy u m. Bechterev; typické zmeny u sarkoidózy a pod.

- hrudníka – môže znázorniť pleurálne výpotky u SLE a RA alebo známky pľúcnej fibrózy – tiene typu mliečneho skla s maximom v dolných pľúcnych poliach u kryptogénnej fibrotizujúcej alveolitídy. Z rtg snímku možno tiež vysloviť podozrenie na tymóm (asociácia s myastenia gravis a hypogamaglobulinémiou), symetrické postihnutie stredných pľúcnych

polí drobnými niekoľko milimetrovými nodulmi, až splývajúcimi rozsiahlymi infiltrátmi s noduláciou na okrajoch zatienenia, svedčí pre Goodpasturov syndróm.

Podľa rtg obrazu rozoznávame u vnútrohrodnej sarkoidózy tri štádiá: I. – symetrické, polycyklické zväčšenie hilarových uzlín bez súčasného postihnutia pľúc – bilaterálna hilarová lymfadenopatia, tzv. BHL syndróm, II. – zväčšenie hilarových uzlín s postihnutím pľúc (tento tzv. „útek do pľúc“ – v priebehu choroby dochádza k zmenšeniu hilarových uzlín pri progresii pľúcneho postihnutia, je patognomický) a III. – iba postihnutie pľúc.

- čreva – jeho kontrastné vyšetrenie (irigoskopia) je síce menej presné, ale uplatňuje sa všade tam, kde nie je možné urobiť kolonoskopiu v plnom rozsahu, napr. v dôsledku striktúr pri idiopatických črevných zápaloch.

#### • ultrasonografia (USG)

- lymfatických uzlín – je ľahko dostupná a nezaťažujúca a patrí preto už medzi zobrazovacie metódy prvej voľby. Exaktne nás informuje hlavne o počte a lokalizácii uzlín (ultrazvuková diagnostika sa uplatňuje hlavne v povrchových lokalizáciách – krk, axily, ingviny), ich veľkosti (z hľadiska zobrazovacích metód, t. j. platí to i pre počítačovú tomografiu, magnetickú rezonanciu i pozitronovú emisnú tomografiu, sa považujú za zväčšené, ak presahujú 1 cm, avšak aj uzliny o veľkosti do 1 cm môžu byť postihnuté závažnou chorobou, napr. metastázami malígneho tumoru), tvare a perfúzií. Tieto informácie v naprostej väčšine umožňujú vysloviť podozrenie na nádorovú etiológiu postihnutia LU.

- sleziny – je jej základným zobrazovacím vyšetrením, ktorým najrýchlejšie získame prehľad o rozmeroch, ložiskovom postihnutí či prítomnosti akcesórnej sleziny (kongenitálna anomália asi u 10 % ľudí).

- pečene – patrí tiež k jej základným zobrazovacím vyšetreniam nielen vo vzťahu k jej veľkosti, ale aj štruktúre (napr. aj vrátane vylúčenia dilatácie extrahepatálnych žľčovodov v rámci diferenciálnej diagnostiky primárnej biliárnej cirhózy); nález zhrubnutia steny žľčovodov s nepravidelnými dilatáciami pri podozrení na primárnu sklerotizujúcu cholangitídu však už v dnešnej dobe nemá dostatočnú vypovedajúcu hodnotu (a musí byť doplnený MRCP a/alebo ERCP či PTC – pozri nižšie).

- štítnej žľazy – má dôležité miesto v diferenciálnej diagnostike jej chorôb s autoimunitnou etiopatogenezou, takže biopsia väčšinou nie je potrebná (niekedy je však nevyhnutná

k odlíšeniu inej etiológie suspektných uzlov, napr. u karcinómu či lymfómu). U autoimunitnej tyreoiditídy je štítna žľaza väčšinou zle ohraničená, môže byť normálnej veľkosti, zväčšená, ale aj atrofická; parenchým je často nehomogénny (striedajú sa hypoechogénne okrsky s hyperechogénnymi väzivovými pruhmi), niekedy je prítomná aj uzlovitá prestavba; vaskularizácia a prekrvenie štítnej žľazy býva znížené. Naproti tomu u Gravesovej-Basedowovej choroby je štítna žľaza väčšinou zväčšená, hypoechogénna (v počiatočných štádiách homogénna); neskôr dochádza k uzlovitej prestavbe parenchýmu a strate homogénnej štruktúry; typickým nálezom včasných štádií je jej zvýšené prekrvenie, ktoré ustupuje s klesajúcou aktivitou choroby.

#### **• počítačová tomografia (CT) a magnetická rezonancia (MR)**

- lymfatických uzlín – používajú sa k posúdeniu lymfadenopatie v oblasti hrudníka, brucha a panvy.
- sleziny – pri podozrení na hematóm či absces v nej je indikované CT vyšetrenie brucha (i s podaním kontrastnej látky).
- nervového systému – majú význam napr. u demyelinizačných chorôb (u pacientov s klinicky potvrdenou sclerosis multiplex odhalí MR vyšetrenie typické mnohopočetné lézie bielej hmoty mozgu v 95 %, v oblasti miechy je úspešnosť detekcie lézií do 75 – 85 %); môžu byť prínosom aj pre diagnostiku postihnutia svalov u myozitíd.
- žľčovodov a pankreatického ductu – pri podozrení na primárnu biliárnu cirhózu sa ich vyšetrenie magnetickou rezonanciou v dnešnej dobe (v dôsledku ochrany pacientov pred možnými komplikáciami invazívnych postupov) stáva už metódou voľby, pričom má len o málo menšiu diagnostickú presnosť.

Endoskopická retrográdna cholangiopankreatikografia (ERCP) či perkutánná transhepatálna cholangiografia (PTC) nasledujú teda až vtedy, keď je MR nediagnostické (typickým obrazom sú okrajové nerovnosti žľčovodov, krátke prstencovité striktúry s vloženými normálnymi či dilatovanými segmentami – obraz ruženca, postihnutie intrahepatálnych žľčovodov býva intenzívnejšie). U pacientov v počiatočných fázach choroby či s tzv. „small-duct disease“ môže však cholangiogram vykazovať len minimálne alebo aj žiadne patologické zmeny a diagnóza sa potom opiera skôr o histologické vyšetrenie – aj pri normálnom

cholangiogramy je teda diagnóza možná, ale mala by byť stanovovaná so zvýšenou opatrnosťou (dôležitým sa v takom prípade javí súčasný výskyt ulceróznej kolitídy).

- malej panvy – ideálne vyšetrenie k vylúčeniu abscesov, resp. k detekcii fistúl a perianálneho postihnutia u idiopatických chorôb čreva.

#### • **pozitrónová emisná tomografia (PET)**

PET lymfatických uzlín je užitočná v prípadoch, keď ani USG, ani CT nemôžu s určitosťou vylúčiť nádorový charakter lymfadenopatie a kde lokalizácia takejto uzliny neumožňuje jej jednoduché bioptické verifikovanie (ďalšie uplatnenie našla táto vyšetrovacia metóda pri monitorovaní efektu liečby).

#### • **angiografia (AG)**

Je významnou súčasťou (nález aneuryziem, resp. zúženia artérií) v mozaike diagnostiky vaskulitíd (spolu s klinickým nálezom, výsledkami laboratórneho vyšetrenia, ako aj histologického vyšetrenia biptickej vzorky postihnutého tkaniva, ako napr. kože, svalu, obličky a iných).

#### • **echokardiografia**

Možno ňou napr. verifikovať perikardiálny výpotok (klinicky nemý totiž sprevádza až 40 % pacientov s RA; častý je aj u pacientov so SLE, u ktorých je niekedy možné prekázať aj vzácnu Liebmann-Sachsovu endokarditídu).

#### • **elektromyografia (EMG)**

Je nevyhnutným doplnkom v diagnostike porúch periférneho nervového systému (nervosvalové poruchy). Pomáha pri určení typu lézie, jej lokalizácii už aj u subklinických porúch (je dôležitá pre diagnózu myastenia gravis, v obmedzenej miere aj pre diagnózu myozitíd).

## 2.2.6 Ďalšie vyšetrenia

- **lumbálna punkcia** – vyšetrenie cerebrospinálneho likvoru (CSF) je dôležité pri podozrení na demyelinizačné ochorenie CNS, ale aj pri postihnutí CNS u iných autoimunitných chorôb, napr. vaskulitídach.

U sclerosis multiplex nachádzame v likvore zvýšený index IgG (t. zn. zvýšenie pomeru IgG: albumín naznačujúce intratekálnu produkciu imunoglobulínov) a/alebo prítomnosť oligoklonovej skladby IgG (*oligoclonal bands*, OCB). Až 8 % vzoriek likvoru pacientov bez SM vykazuje však tiež prítomnosť OCB (väčšinou ide o následok chronickej infekcie CNS, vírusových syndrómov a neuropatií), ich prítomnosť u monosymptomatických pacientov predikuje významne vyššiu mieru progresie do SM ako u tých, ktorí OCBs nemajú.

CSF je u väčšiny SM pacientov normálny, tlak likvoru tiež. Celkový počet elementov je spravidla vo fyziologickom rozmedzí (v náleze dominujú lymfocyty, pričom väčšinou ide o T-lymfocyty), len u menej ako 5 % presahuje 15 buniek. $\mu\text{l}^{-1}$  a len zriedkavo prekročí 50 buniek. $\mu\text{l}^{-1}$ . Pri výraznejšej pleocytóze ( $> 50 \mu\text{l}^{-1}$ ) je potrebné myslieť na iné ochorenia.

- **bronchoalveolová laváž (BAL)**

Jej cytologická analýza prietokovým cytometrom (hlavne stanovenie pomeru  $\text{CD4}^{+}$ - a  $\text{CD8}^{+}$ -lymfocytov) predstavuje v súčasnosti, i vzhľadom k jej dostupnosti, neinvazívnu metódu, ktorá sa významnou mierou uplatňuje v diferenciálnej diagnostike intersticiálnych pľúcnych chorôb (napr. sarkoidóza *versus* kryptogénna fibrotizujúca alveolitída – pozri ďalej), stanovení ich aktivity ako aj sledovaní účinku terapie (tieto zmeny sa predtým dali hodnotiť iba pomocou invazívnych pľúcnych biopsií).

V bronchoalveolárnej lavážnej tekutine sa u chorôb s autoimunitnou imunopatogenezou hodnotí bunkový rozpočet, t. j. percentuálny podiel lymfocytov, polymorfonukleárov a eozinofilov, umožňujúci posúdiť typ a aktivitu intersticiálnych pľúcnych procesov – na tomto podklade sa rozoznáva tzv. lymfocytová alveolitída (lymfocyty  $> 15\%$ ), granulocytová alveolitída (neutrofily  $> 3\%$  a eozinofily  $> 1\%$ ); o subklinickej alveolitíde hovoríme, ak sa u vyšetrovaného nachádzajú odchýlky v bunkovom rozpočte bez toho, aby mal klinické a rtg prejavy pľúcneho ochorenia. Pomer subpopulácií lymfocytov  $\text{CD4}^{+}:\text{CD8}^{+}$  (tzv. imunoregulačný index – IRI) je taktiež nápomocný pri odlíšení lymfocytovej alveolitídy pri sarkoidóze ( $\text{IRI} > 3,5$ ) od exogénnej alergickej alveolitídy ( $\text{IRI} < 1,3$ ).

BAL je však možné použiť napr. aj na zistenie: koncentrácie liekov či patogénov pri oportúnnych pľúcnych infekciách u imunosuprimovaných pacientov, nádorových buniek pri okultnom bronchogénnom karcinóme, diagnostickým prínosom je aj nález azbestových teliesok pri azbestóze a pod.

#### ● synoviálny výpotok

Jeho zápalový charakter (zakalenie, s celularitou nad 2000 jadrových buniek na 1 mm<sup>3</sup> s prevahou polymorfonukleárných leukocytov) potvrdzuje diagnózu napr. reumatoidnej artritídy (v synoviálnom výpotku rovnako ako v sére môžu byť prítomné aj RF či ANA) alebo ankylozujúcej spondylitídy.

#### ● endoskopia

Je zásadným vyšetrením pre stanovenie diagnózy nešpecifického zápalu čriev, u ťažších stavov však môže byť pre pacienta (predovšetkým v dôsledku nevyhnutnosti jeho prípravy pred vyšetrením) pomerne zaťažujúca. Limitujúcim faktorom vyšetrenia sú aj komplikácie choroby, napr. striktúry. Jeho nespornou výhodou je možnosť odberu bioptických vzoriek s ich následným histologickým vyšetrením, ktoré môže tiež výrazným spôsobom prispieť k stanoveniu diagnózy.

Kolonoskopicky je sliznica u ulceróznej kolitídy červená, presiaknutá, po dotyku endoskopom krváca, cievna kresba je vymiznutá. Má jemne zrnitý (granulovaný) vzhľad, u pokročilejších stavov sú prítomné aj ulcerácie a hnisavá exsudácia. Ani v kludovom štádiu však sliznica nie je celkom normálna – má zrnitý vzhľad s prekrytou cievnu kresbou. U Crohnovej choroby sú na sliznici známky zápalu s aftoidnými a neskôr veľkými vredmi, niekedy až bizarného vzhľadu, prebiehajúcimi obvykle v dlhej osi čreva, s fistulami, „dlažbovými kameňmi“, ktoré vznikajú hyperpláziou nepostihnutej sliznice v oblastiach medzi vredmi. Zmeny sú segmentálne, vyskytujú sa tzv. „preskočené okrsky“ (skip areas) s normálnym nálezom, ktoré často zostávajú individuálne konštantné.

### 3 PRINCÍPY TERAPIE AUTOIMUNITNÝCH CHORÔB

**Systémové autoimunitné choroby**, vzhľadom na ich systémový charakter, vyžadujú komplexnú starostlivosť lekárov viacerých odborností, v strede ktorých by mal byť špecialista – klinický imunológ, ktorý koordinuje nielen ich diagnostiku, ale aj adekvátnu terapiu (t. j. správne indikovanú a upravovanú podľa individuálneho priebehu choroby). Pri **orgánovo-špecifických autoimunitných chorobách** sa klinický imunológ podieľa (v spolupráci s príslušným špecialistom) na ich diagnostike, liečbu obvykle zabezpečuje špecialista príslušného odboru podľa toho, v ktorom orgáne alebo tkanive dochádza k manifestácii autoimunitnej reakcie.

Kauzálnu liečbu autoimunitných chorôb predstavuje **imunosupresívna liečba**, ktorá potláča abnormálnu aktivitu imunitného systému. Pravdepodobne najmä pomerne časté a nezanedbateľné nežiaduce účinky imunosupresív sú príčinou faktu, že mnohé autoimunitné choroby sú v súčasnosti ešte stále liečené skôr **substitučnou terapiou** exogénnymi preparátmi (napr. liečba inzulínom u *diabetikov 1. typu*, podávanie vitamínu *B12* pri *pernicióznej anémii*, substitúcia hormónov štítnej žľazy pri *autoimunitnej tyreoiditíde*), ako kauzálnou imunosupresívnou liečbou. Situácia sa však mení, keďže tejto liekovej skupine a eliminácii nežiaducich účinkov sa v súčasnosti venuje veľká pozornosť.

Nielen vzhľadom na stúpajúcu incidenciu a prevalenciu autoimunitných chorôb nadobúdajú stále väčší význam **preventívne opatrenia**. Za najrizikovejšiu časť populácie sa pritom považujú jedinci s genetickou predispozíciou k vývoju choroby a pozitívnou rodinnou anamnézou (najmä prvostupňoví príbuzní pacientov) a ďalej jedinci s dokázanou pozitivitou autoprotílátok (zatiaľ bez klinických prejavov choroby). Aj na dnešnej úrovni poznatkov už dokážeme týchto jedincov identifikovať – či už vyšetrením konkrétnych suspektných autoprotílátok u prvostupňových príbuzných, resp. genetického rizika, ktorého najväčšiu časť predstavujú pri väčšine autoimunitných chorôb gény hlavného histokompatibilného systému. V prípade správnej identifikácie rizikovej populácie a jej následným pravidelným sledovaním sme potom schopní chorobu odhaliť už v jej počiatočných štádiách, čo z týchto jedincov robí ideálnych adeptov na podanie imunosupresívnej liečby. Jej výsledky totiž, okrem iného, často závisia práve od rýchlosti podania. Skoré podávanie imunosupresívnej liečby totiž spomalí



deštruktívny proces, zmierni oxidačný stres a šetrí reziduálne bunky.

Práve vzhľadom na uvedené sa imunosupresívna terapia v súčasnosti uplatňuje skôr u orgánovo-nešpecifických chorôb, nakoľko pri orgánovo-špecifických je v čase ich klinickej manifestácie veľká časť tkaniva už ireverzibilne deštruovaná autoimunitnými procesmi. Výnimkou v tomto smere môže však byť napr. sclerosis multiplex, pri liečbe ktorej sa už od deväťdesiatych rokov minulého storočia používa liečba cytokínom interferón  $\beta$ . Tento má tlmivý účinok na tvorbu prozápalových cytokínov (najmä IFN- $\gamma$ ) a znižuje expresiu adhezívnych molekúl zodpovedných za prienik zápalových buniek do CNS. Kontraindikované je jeho použitie pri neuromyelitis optica, u ktorej môže vyvolať ťažký relaps choroby.

Najčastejšie používaným imunosupresívom v liečbe autoimunitných chorôb aj na začiatku 21. storočia ostávajú kortikoidy, ktoré sú, aj napriek dnes už všeobecne známemu širokému spektru nežiaducich účinkov, používané vo väčšine medicínskych odborov. Budeme sa však, pochopiteľne, venovať aj relatívne novej terapeutickému modalite – biologickej liečbe s imunomodulačným účinkom, teda liečbe monoklonovými protilátkami a fúznymi proteínmi, ktoré cielene zasahujú do imunopatologických procesov. Ich zavedenie do klinickej praxe sa totiž v súčasnosti považuje za podobný milník v kauzálnej liečbe autoimunitných chorôb, ako bolo v minulom storočí použitie kortikoidov.

Najčastejšou komplikáciou imunosupresívnej liečby je vo všeobecnosti zvýšený výskyt oportunistických infekcií, obzvlášť u pacientov liečených kombináciou imunosupresív. K predisponujúcim faktorom patrí najmä vyšší vek, výrazná malnutícia a komorbidity. Vo všeobecnosti sa liečba kortikosteroidmi spája najmä s mykotickými (kandidovými) infekciami, liečba azatioprinom s vírusovými (herpetickými) a liečba monoklonovými protilátkami s anti-TNF účinkom s intracelulárnymi (mykobaktériovými, listériovými) infekciami.

### 3.1 KORTIKOIDY

Kortikoidy patria medzi najdlhšie, ale stále ešte najčastejšie používané imunomodulačné farmaká. Príčinou ich širokého využitia v klinickej praxi je najmä ich silný protizápalový a

imunosupresívny účinok, ale aj ďalšie prospešné účinky – protialergický, membrány stabilizujúci a antiproliferatívny. O jedinečnosti tejto skupiny liekov svedčí aj fakt, že v histórii medicíny sa niekedy zvykne rozoznávať éra pred objavením kortizolu, t. j. do roku 1948 ako „BC“ (*before cortisol*) a po objavení tohto lieku ako „AC“ (*after cortisol*).

Chemické zloženie a počet uhlíkových atómov v molekule umožňuje ich delenie na kortikosteroidy s 19 (androgény) a 21 (mineralokortikoidy; glukokortikoidy – tento zaužívaný názov je odrazom silnej asociácie protizápalového účinku kortikoidov a ich vplyvu na metabolizmus glukózy) uhlíkovými atómami. Hlavným prirodzeným kortikoidom ľudského organizmu je kortizol, ktorého denná tvorba je približne 20 mg. Exogénnym chemickým ekvivalentom endogénneho kortizolu, ktorý sa na aktívny hormón konvertuje v pečeni, je hydrokortizón.

Kortikoidy používané v praxi sú syntetické molekuly s výrazným protizápalovým a minimálnym mineralokortikoidným efektom (tab. 5). Vo všeobecnosti však pre všetky syntetické kortikoidy platí, že čím väčšia je ich protizápalová a imunosupresívna aktivita, tým väčší je aj ich glukokortikoidný účinok.

TAB. 5  
EKVIVALENTNÉ DÁVKY KORTIKOIDOV A POROVNANIE ICH BIOLOGICKÉHO POLČASU A VYBRANÝCH ÚČINOKOV

KORTIKOID	BIOLOGICKÝ POLČAS (HOD.)	PROTIZÁPALOVÝ ÚČINOK	MINERALOKORTIKOIDNÝ ÚČINOK
hydrokortizón	8	1,0	1,0
prednizón	16 – 24	4,0	0,8
prednizolón	16 – 24	4,0	0,8
metylprednizolón	16 – 40	5,0	0,8
triamcinolone	12 – 36	4,0	0,0
betametazón	36 – 54	30,0	0,0
dexametazón	36 – 54	30,0	0,0

Kortikoidy ovplyvňujú bunky dvojakým mechanizmom účinku:<sup>[1][2]</sup>

- *genomický* (teda interakciou s receptormi v cytosole) – je podmienený indukciou, resp. inhibíciou syntézy pro- a protizápalových molekúl;<sup>[1][2]</sup>

- *negenomický* – tento špecifický mechanizmus účinku, ktorý sa objaví už niekoľko minút po podaní kortikoidov, je podmienený interakciou s celulárnymi membránami a je mediovaný membránovými receptormi.

Protizápalový účinok kortikoidov je sprostredkovaný inhibíciou syntézy prozápalových cytokínov (IL-1, IL-6, IL-8, TNF, IFN- $\gamma$ ), receptorov pre cytokíny (IL-2R), adhezívnych molekúl (ICAM-1), rastových faktorov (napr. insulin-like growth factor 1) a enzýmov (kolagenáza, elastáza). Ďalej blokujú tvorbu prostaglandínov a leukotriénov, proliferáciu fibroblastov a novotvorbu ciev, rovnako obmedzujú depozíciu kolagénu. Samotný imunosupresívny účinok je výsledkom indukcie syntézy imunosupresívnych cytokínov TGF- $\beta$  a IL-10, pôsobením ktorých dochádza aj k diferenciácii indukovaných regulačných T-lymfocytov (iTreg). Ďalej inhibujú syntézu IL-2, znižujú antigénovo-prezentačnú funkciu makrofágov a znížením proteosyntézy ovplyvňujú aj tvorbu protilátok. Redistribúciou lymfocytov (najmä pomocných T<sub>H</sub>) mimo cirkulácie navodzujú lymfopéniu, spôsobujú depléciu monocytov a eozinofilov a indukujú neutrofiliiu. V klinickej praxi sa kortikoidy podávajú:<sup>[1][SEP]</sup>

- *systémovo*: perorálne, intravenózne, intramuskulárne a subkutánne;
- *lokálne*: za účelom aplikácie priamo na poškodené tkanivo (a následným znížením potrebnej terapeutickkej dávky tak aj minimalizovať nežiaduce účinky) boli vyvinuté ďalšie lokálne formy: externé, inhalačné a intraartikulárne.

Podávanie kortikoidov by malo sledovať prirodzený cirkadiánny rytmus endogénnej sekrécie kortizolu, ktorá je najvyššia v ranných hodinách. Pri použití nižších dávok sa zvyčajne podáva jedna ranná dávka, pri použití vyšších dávok tieto delíme na 2 – 3 jednotlivé dávky.<sup>[1][SEP]</sup>

Najčastejšie lokálne nežiaduce účinky inhalačnej a intranasálnej liečby sú faryngitída, dysfónia, zachrípnutie, bronchospazmus a orofaryngeálna kandidóza. Do pľúc sa dostane (v závislosti od typu inhalátora) približne 10 – 20 % inhalovaného lieku, ktorý je následne absorbovaný do systémovej cirkulácie a určuje výskyt systémových nežiaducich účinkov.

Systémové nežiaduce účinky kortikoidov závisia od spôsobu podania lieku (perorálne podávanie má za následok najčastejší výskyt nežiaducich účinkov), ďalej od dĺžky terapie, biologického polčasu užívaného kortikoidu a sú priamo úmerné dávke. Dlhšie trvajúca liečba kortikoidmi vedie k rozvoju iatrogénneho Cushingovho syndrómu. K jeho najčastejším kožným prejavom patria pletora tváre, akné, ekchymózy a purpurovo červené strie.

V laboratórnom obraze u pacientov zachytávame polyglobúliu, leukocytózu s neutrofiliiou a lymfocytózou, zníženie počtu eozinofilov, hypokaliémiu, hyperkalciúriu a príp. aj hyperglykémiu. Vzhľadom na spomínanú inhibíciu proteosyntézy je pozorované zhoršené

hojenie rán, svalová hypotrofia a slabosť. Rastie hmotnosť (pacienti sú obézni s mesiačikovitou tvárou), objavuje sa retencia tekutín a artériová hypertenzia (resp. kompenzácia preexistujúcej hypertenzie sa zhoršuje), poruchy v metabolizme glukózy vedú k rozvoju prediabetu alebo sekundárneho diabetes mellitus. Kardiovaskulárny trakt ďalej „trpí“ akceleráciou aterosklerózy, poruchami srdcového rytmu pri hypokaliémii, trombembolizmom. Pomerne častou poruchou je osteoporóza s kompresívnymi fraktúrami chrbtice, najmä u starších, resp. imobilných jedincov a žien po menopauze. Následkom porušenej resorpcie kalcia je aj nefrolitiáza, výnimkou nie je ani aseptická nekróza hlavice femuru. Dlhodobá kortikoterapia je aj príčinou sekundárneho imunodeficientného stavu, ktorý sprevádzajú recidivujúce, často oportunistické infekcie alebo aktivácia latentnej infekcie. Z praktického hľadiska je dôležité pripomenúť, že liečba kortikoidmi môže pokrývať príznaky lokálnej, ale aj celkovej zápalovej reakcie. Nezanedbateľné sú aj psychické zmeny – pacienti môžu byť emotívne labilní, depresívni alebo euforickí, môžu sa demaskovať latentné psychózy.

Pri dlhodobej kortikoterapii je teda potrebné pravidelné sledovanie hmotnosti, tlaku krvi, výskytu periférnych edémov, kardiálnej kompenzácie, lipidogramu, koncentrácie glukózy v sére, resp. v moči a vnútroočného tlaku. Ak užívaná denná dávka kortikosteroidov presahuje 7,5 mg a liečba trvá viac ako 3 mesiace, je nutná suplementácia kalcium a vitamínom D. Indikácia antiresorbčnej liečby bisfosfonátmi na redukciu rizika kortikoidmi indukovanej osteoporózy závisí od ďalších rizikových faktorov a výsledku merania hustoty kosti (kostná denzitometria). V prípade paralelného užívania nesteroidových antiflogistík by sa mala podávať aj gastroprotektívna medikácia (inhibítory protónovej pumpy), resp. preferovať užívanie COX-2 selektívnych antiflogistík.

Možnosť sekundárnej supresie osi hypothalamus – hypofýza – nadoblička s možným rozvojom adrenálnej insuficiencie je nutné zvažovať pri plánovanom ukončení kortikoterapie (k najčastejším nešpecifickým klinickým prejavom patrí anorexia, nauzea, vracanie, letargia, teplota, celková slabosť, posturálna hypotenzia).

V snahe predchádzať útlmu osi hypothalamus – hypofýza – nadoblička a endogénnej tvorby kortikoidov je však možné tieto používať v kombinácii s inými imunosupresívami s cieľom jednak využiť rozdielny potenciál liekov, ale zároveň tiež znížiť dávky a tým aj výskyt nežiaducich účinkov. Ďalšími zásadami sú (samozrejme, v rámci možností): čo najrozsiahlejšie použitie lokálnej aplikácie kortikosteroidov namiesto systémového podávania

a postupné znižovanie dávok. Existuje viacero schém na ukončenie liečby (tab. 6), vo všeobecnosti však platí, že pri aplikácii viacerých denných dávok sa začína vysadením večerných a končí vysadením ranných dávok; ďalej sa odporúča redukcia dávky o 20 % á 2 – 4 dni po fyziologickú dávku, resp. redukcia dávky o 50 % za 2 – 4 týždne. Po dosiahnutí 50 % fyziologickej dávky (1 – 1,5 mg/m<sup>2</sup>/deň) je možné liečbu ukončiť. Rovnako je možné očakávať aj zhoršenie základnej choroby liečenej kortikoidmi – tzv. syndróm ukončenia kortikoterapie (*steroid withdrawal syndrome*).

TAB. 6  
ODPORÚČANÉ ZNIŽOVANIE DÁVKY GLUKOKORTIKOIDOV PO VIAC AKO 3-TÝŽŔŇOVOM UŽÍVANÍ

PREDNIZÓN ALEBO EKIVALENTNÁ DÁVKA	SCHÉMA ZNIŽOVANIA DÁVKY
≥ 7,5mg	znižovať rýchlejšie, napríklad o 2,5 mg každé 3 – 4 dni
potom	
< 5mg	redukovať o 1 mg každé 2 – 4 týždne

Z praktického hľadiska by bolo ideálne, keby o liečbe kortikoidmi existovala prístupná informácia (akýsi „preukaz pacienta na kortikoterapii“), aby sa na túto skutočnosť myslelo a bolo podľa toho možné upraviť liečbu podávanú napr. aj pri akútnych stavoch ohrozujúcich život (ako sú polytraumy, popáleniny a iné).

Vo všeobecnosti platí, že s ohľadom na klinickú aktivitu autoimunitnej choroby sa striedajú obdobia remisie s postupnou detrakciou dávky kortikoidov (resp. až vysadením liečby) s exacerbáciami, ktoré vyžadujú opätovné zvýšenie dávky. Nezriedka sa dnes využíva aj kortikoterapia podávaná ako tzv. pulzná liečba, teda niekoľkodňové podanie vysokej dávky (spravidla 500 – 1000 mg metylprednizónu) intravenózne – presun minerálov (najmä kália) však môže byť príčinou komorových arytmií a potenciál k vyvolaniu ulcerácií žalúdočnej sliznice vyžaduje súčasné podanie inhibítorov protónovej pumpy. Najčastejšími indikáciami pre tento režim kortikoterapie sú membranózne glomerulonefritídy, systémový lupus erythematosus, lupusová nefritída a samozrejme, tiež rejekcie pri orgánových transplantáciách.

## 3.2 ANTIPROLIFERAČNÉ LÁTKY

Do tejto skupiny imunosupresív zaraďujeme: metotrexát, tiopuríny, mykofenolát mofetil a cyklofosamid.

### 3.2.1 Metotrexát

Metotrexát je analóg kyseliny listovej, ktorý ovplyvňuje syntézu DNA, RNA a viacerých dôležitých enzýmov. V rámci imunitnej odpovede inhibuje proliferáciu T-, ale aj B-lymfocytov a indukuje apoptózu aktivovaných buniek.

Najširšie je využívaný v liečbe reumatoidnej artritídy – je najčastejšie používaným liekom zo skupiny DMARD (*disease modifying anti-rheumatic drugs*), ďalej u pacientov s vaskulitídami, psoriatickou artritídou a SLE.

K nežiaducim účinkom, ktoré môžeme čiastočne zmierniť súčasným podávaním folátov, patria hepatotoxicita, stomatitída a ulcerácie v dutine ústnej, pľúcna fibróza, nefrotoxická a vplyv na kostnú dreň (anémia, neutropénia).

### 3.2.2 Tiopuríny

Azatioprin je analóg purínov, ktorý sa v pečeni metabolizuje na 6-merkaptopurín. Inhibíciou syntézy DNA ovplyvňuje všetky deliace sa bunky. Z pohľadu imunitného systému ovplyvňuje najmä aktivitu NK-buniek, potláča proliferáciu aktivovaných T- a B-lymfocytov a zastavením bunkového cyklu promyelocytov znižuje počet cirkulujúcich monocytov.

Z autoimunitných chorôb je podávaný najčastejšie v liečbe nešpecifických črevných zápalov, reumatoidnej artritídy, systémového lupus erythematosus a polymyozitídy. Samotné podávanie azatioprínu má nevýhodu v neskorom nástupe jeho imunosupresívneho účinku, ktorý sa môže prejaviť až po 3 – 6 mesiacoch, preto sa často používa v kombinácii najčastejšie s redukovanou dávkou kortikosteroidov, ktoré majú rýchly nástup terapeutického efektu.

Azatioprin je výhodný u tých pacientov, ktorí vyžadujú dlhodobú alebo trvalú imunosupresívnu liečbu, má totiž pri dlhodobom podávaní oveľa nižší výskyt nežiaducich účinkov ako kortikosteroidy. K najvýznamnejším nežiaducim účinkom patrí myelotoxická často s granulocytopéniou a trombocytopéniou (a vzácne aj s apláziou červenej rady), ďalej

hepatotoxicita a alopecia. Tak, ako ostatné imunosupresíva, zvyšuje riziko oportunistických infekcií a malignít. Nevyhnutné je pravidelné sledovanie krvného obrazu v intervale 4 – 6 týždňov a hepatálnych testov v intervale 4 – 6 mesiacov. Z praktického hľadiska je dôležitý fakt, že alopurinol výrazne zvyšuje hladiny azatioprínu, a preto musí byť jeho dávkovanie pri súčasnej liečbe oboma prípravkami redukované. Toxické účinky azatioprínu zvyšujú aj inhibítory angiotenzín-konvertujúceho enzýmu.

Podanie azatioprínu je, rovnako ako u všetkých ostatných imunosupresív, rizikové pre plod, avšak v indikovaných prípadoch, kedy potenciálny prospech matky prevažuje nad rizikami pre plod, je najčastejšie používaným imunosupresívom.

### 3.2.3 Mykofenolát mofetil

Mykofenolát mofetil je prirodzený produkt fermentácie rôznych plesní (*Penicillium stoloniferum*, *Penicillium echinulatum*) a pôsobí ako nekompetitívny inhibítor enzýmu, ktorý je nevyhnutný pre *de novo* syntézu purínových nukleotidov. Má cytostatický účinok na lymfocyty a inhibuje aktivitu tak pomocných, ako aj cytotoxických T-lymfocytov a potláča syntézu protilátok.

Najčastejšie sa používa ako prevencia rejekcie transplantovaných orgánov, z autoimunitných chorôb u pacientov s lupusovou nefritídou.

Výhodou je, že mykofenolát mofetil nie je hepato-, ani nefrotoxický, z nežiaducich účinkov sa najčastejšie pozorujú gastrointestinálne príznaky (nausea, bolesti brucha a hnačky). V porovnaní s azatioprínom je menej častá aj leukopénia a anémia, nezanedbateľné je naopak riziko oportunistických infekcií.

### 3.2.4 Cyklofosfamid

Cyklofosfamid patrí medzi alkylačné cytostatiká, ktoré predstavujú chemicky rôznorodú skupinu látok. Reagujú s nukleovými kyselinami nezávisle od fázy bunkového cyklu a atakujú nukleofilné časti molekúl, kde sa nachádzajú atómy kyslíka, dusíka alebo fosforu. Konečným efektom neopraveného poškodenia DNA je indukcia apoptózy.

Cyklofosfamid ovplyvňuje bunkovú aj humorálnu imunitu – najvýznamnejšie inhibuje aktiváciu B-lymfocytov a tým tvorbu protilátok, tlmí aj aktivitu T-lymfocytov a potláča syntézu IL-2, IL-3, IFN- $\gamma$  a TNF- $\alpha$ . Ďalej inhibuje usmrcovanie baktérií vo fagocytoch (v

dôsledku potláčania fúzie fagozómov s lyzozómami). Naopak, zvyšuje transkripciu TGF- $\beta$ 1 a jeho imunosupresívnu aktivitu.

Najčastejšími indikáciami jeho podania sú systémový lupus erythematosus, sklerodermia, polymyozitída, reumatoidná artritída, glomerulonefritída, myasthenia gravis a vaskulitída. Často je používaný na zvládnutie akútneho zhoršenia choroby.

Alkylčné cytostatiká výrazne interferujú s proliferujúcimi bunkami hematopoézy. Dochádza k dlhodobému a niekedy aj trvalému poškodeniu krvotvorby. Často sa prejavuje amenorea, oligospermia a sterilita. Pri liečbe sa ďalej stretávame s gastrointestinálnymi ťažkosťami, hemoragickým zápalom močového mechúra, alopeciou a, samozrejme, so zvýšenou náchylnosťou na infekčného choroby a vznik malignity.

### 3.3 KALCINEURÍNOVÉ INHIBÍTORE

Do tejto skupiny imunosupresív zaradíme cyklosporín A a tacrolimus (v minulosti známy ako FK506).

#### 3.3.1 Cyklosporín A

Cyklosporín A (CsA) patrí medzi základné piliere imunosupresívnej liečby pri orgánových transplantáciách. Mechanizmus účinku CsA je odlišný od predchádzajúcich imunosupresív. Neovplyvňuje totiž syntézu nukleových kyselín ani proteínov; v cytoplazme buniek, z ktorých najcitlivejšie sú T-lymfocyty, sa viaže na špecifický väzbový proteín – cyklofilín A a vytvára tak komplex, ktorý inhibuje kalcineurín (fosfatázu ovplyvňujúcu aktiváciu a inhibíciu viacerých proteínov). Dochádza k inhibícii syntézy IL-2, IL-3, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  a aktivácie T-lymfocytov. Ďalej tlmí aktiváciu B-lymfocytov a inhibuje usmrcovanie baktérií vo fagocytoch (v dôsledku potláčania fúzie fagozómov s lyzozómami). Naopak, zvyšuje transkripciu TGF- $\beta$ 1 a jeho imunosupresívnu aktivitu.

Je indikovaný predovšetkým u reumatoidnej artritídy, systémového lupus erythematosus a psoriatickej artritídy.

Medzi nežiaduce účinky zaradíme najčastejšie artériovú hypertenziu a nefrotoxicitu. Ďalej sa, okrem hepatotoxicity a neurotoxicity, stretávame aj s hyperlipoproteinémiou a



proaterogénnou aktivitou, hyperurikémiou a gastrointestinálnymi symptómami. Ojedinelá nie je ani hyperplázia gingívy a hirsutizmus.

Nezanedbateľný je interakčný potenciál cyklosporínu A. Napr. spoločné podanie s niektorými statínmi môže mať za následok zvýšenie ich hladiny (hladinu rosuvastatínu zvyšuje cyklosporín až sedemnásobne), príp. až rhabdomyolýzu a *vice versa* môže však dôjsť aj k zníženiu účinku cyklosporínu – liekové interakcie zvyšujúce, resp. znižujúce biologickú dostupnosť cyklosporínu uvádza tab. 7. Účinnosť liečby výrazne znižuje aj grapefruit. Nefrotoxický potenciál znásobuje spoločné podanie napr. s tacrolimom, metotrexátom, niektorými antibiotikami (aminoglykozidmi, amfotericínom B, vankomycínom a ciprofloxacínom) či nesteroidnými antireumatikami.

TAB. 7  
LIEKOVÉ INTERAKCIE CYKLOSPORÍNU A

Lieky zvyšujúce koncentráciu cyklosporínu	Lieky znižujúce koncentráciu cyklosporínu
makrolidové antibiotiká	barbituráty
ketokonazol, ukonazol	karbamazepín
verapamil, diltiazem	fenytoín
perorálne kontraceptíva	rifampicín
simvastatín, atorvastatín	oktreotid
alopurinol	orlistat
amiodarón	ticlopidín

### 3.3.2 Tacrolimus

Tacrolimus (FK506), rovnako (ale 10- až 100-krát účinnejšie) ako CsA, blokuje fosfatázovú aktivitu kalcineurínu (táto skutočnosť je príčinou antagonizmu medzi CsA a FK506). Okrem inhibície syntézy IL-2 inhibuje aj syntézu IFN- $\gamma$ , IL-3, IL-4 a IL-5, čím blokuje včasnú aktiváciu CD4<sup>+</sup>-lymfocytov. Z nežiaducich účinkov má, v porovnaní s CsA, rovnaký nefrotoxický účinok; hypertenzia, dyslipoproteinémia a hirsutizmus sa však vyskytujú menej často. Liečba tacrolimom sa spája aj s vyšším výskytom hyperglykémie, novodiagnostikovaného diabetes mellitus a neurotoxických prejavov ako tras, parestézie, závraty, poruchy spánku a epileptické paroxyzmy.

### 3.4 mTOR INHIBÍTORY

mTOR inhibítory, sirolimus (rapamycin, prirodzený produkt baktérie *Streptomyces hygroscopicus*) a jeho hydrofilný analóg everolimus, predstavujú alternatívu kalcineurínových inhibítorov v imunosupresívnej liečbe. Podobne, ako CsA a FK506, sa viažu na ten istý cyklofilín, avšak ich pôsobenie je odlišné – neinhibujú totiž syntézu IL-2, ale potláčajú proliferáciu buniek indukovanú interleukínom IL-2. Mechanizmus účinku sa zakladá na zásahu do bunkového delenia, inhibuje aktivitu viacerých kináz, predovšetkým mTOR (*mammalian target of rapamycin*), čo spôsobí redukciu syntézy proteínov bunkového cyklu (výsledkom je, že bunka sa prestáva deliť). Navyše sa efektorové cytotoxické T-lymfocyty presúvajú do sekundárnych lymfoidných orgánov.

Z autoimunitných chorôb je použitie mTOR inhibítorov indikované pri autoimunitných hematologických chorobách, systémovom lupus erythematosus, reumatoidnej artritíde a nešpecifických črevných zápaloch.

Ich podávanie komplikujú leukopénia a trombocytopénia, v laboratórnom obraze zachytávame hypertriacylglycerolémiu. V dôsledku antiproliferačného účinku dochádza aj k oneskorenému hojeniu a dehiscencii rán.

### 3.5 BIOLOGICKÁ LIEČBA

Uvedenie biologickej liečby do klinickej praxe môžeme už dnes označiť za jeden z najdôležitejších prelomov v liečbe autoimunitných chorôb. Táto liečba totiž priamo ovplyvňuje vlastnú progresiu choroby a nielen klinické symptómy, ako tomu bolo pri veľkej väčšine doteraz používaných liečiv – táto skupina je označovaná aj ako BRM (*biological response modifiers*).

Ako biologický liek môžeme označiť preparát pripravený biotechnologickými postupmi, teda produkciou v biologickom vektore (tab. 8). Od „klasických“ liekov (pripravených najčastejšie organickou syntézou) sa okrem technicky omnoho náročnejšieho spôsobu prípravy líšia veľkosťou a stabilitou molekuly (molekuly biologických liečiv sú väčšie a náchylnejšie k degradácii) a ďalej aj selektivitou, ktorá klasickým liekom často chýba a cieleným,

regulačným zásahom do biologických (etiopatogenetických) procesov. Biologické liečivá sú zhodné (alebo veľmi podobné) s látkami produkovanými v samotnom organizme, prípadne sú ich funkčnými agonistami alebo antagonistami (či blokátormi). Miestami zásahu biologických liečiv sú povrchové antigény, signálne molekuly, rastové faktory, zápalové molekuly a intracelulárne proteíny.

TAB. 8  
ROZDELENIE BIOLOGICKÝCH LIEKOV

biologické lieky určené na imunomoduláciu (monoklonové protilátky, fúzne proteíny)
hormóny
vakcíny
rastové faktory
enzýmy na liečbu dedične podmienených ochorení intermediálneho metabolizmu
biologické lieky ovplyvňujúce hemostázu
biologické lieky na génovú terapiu

### 3.5.1 Monoklonové protilátky a fúzne proteíny

V liečbe autoimunitných chorôb majú, samozrejme, najdôležitejšie postavenie biologické lieky s imunomodulačným účinkom – monoklonové protilátky a fúzne proteíny. Významne zlepšujú kvalitu života pacientov, majú výrazný protizápalový účinok a rovnako dokážu spomaliť progresiu štrukturálneho a funkčného postihnutia. Ich základné mechanizmy účinku sú najmä:

- neutralizácia cieľového cytokínu, resp. jeho receptora,
- blokáda kostimulačných molekúl<sup>[L]<sub>SEP</sub>]</sup>
- navodenie apoptózy,
- zníženie proliferácie cieľovej bunky.

Prvé monoklonové protilátky boli vyvinuté už v sedemdesiatych rokoch minulého storočia a dodnes sa v tejto liekovej skupine používa pomerne zložitý názvoslovie s príponou -mab (*monoclonal antibody*) – tab. 9.

Produkcia monoklonových protilátok prebieha hybridómovými technológiami. Na rozdiel od polyklonových protilátok sú monošpecifické a homogénne, čo ich predurčuje na efektívnu terapiu a diagnostiku. Nevýhodou takýchto heterológnych protilátok je však najmä ich krátky

polčas existencie, ako aj fakt, že plne nenahrádzajú efektorové funkcie ľudských imunoglobulínov a v neposlednom rade môžu pacienta senzibilizovať a pri opakovanom podaní vyvolať až anafylaktický šok.

TAB. 9  
NÁZVOSLOVIE MONOKLONOVÝCH PROTILÁTOK A INDIKÁCIE NA ICH PODANIE

INDIKÁCIA NA PODANIE MONOKLONOVEJ AUTOPROTILÁTKY		OZNAČENIE PÔVODU		KONCOVKA
–bac–	baktériové choroby	o (–omab)	myšie	–mab
–lim–	autoimunitné choroby	i (–imab)	z primátov	
–les–	zápalové lézie	u (–umab)	humánne	
–cit–	choroby cirkulačného systému	xi (–ximab)	chimérové	
–tu–	onkologické choroby	a (–amab)	potkanie	
–ki(n)–	interleukín	e (–emab)	zo škrečkov	

Tieto komplikácie sa snaží eliminovať biologické inžinierstvo humanizáciou heterológnych mAb – teda náhradou čo najväčšej časti protilátky molekulami ľudského pôvodu:<sup>[1]</sup><sub>SEP</sub>

- pri tzv. *chimérových mAb* variabilné domény pochádzajú z jedného živočíšneho druhu (napr. myši, 30 – 40 % molekuly) a konštantné domény sú ľudské,<sup>[1]</sup><sub>SEP</sub>
- u *humanizovaných mAb* z iného živočíšneho druhu pochádzajú len hypervariabilné úseky molekuly (5 – 10 % molekuly),
- pri *humánnych mAb* je celá molekula ľudského pôvodu (gény, ktoré determinujú produkciu špecifických protilátok, sú vpravené do bakteriofágov alebo transgénových zvierat).

Polčas rozpadu monoklonových protilátok býva niekoľko dní až týždňov, preto sa podávajú v pravidelných intervaloch podľa typu liečiva, zatiaľ čo pri malých molekulách je polčas rozpadu iba niekoľko hodín, preto vyžadujú väčšinou denné podávanie.

Fúzne proteíny, ktoré sú najčastejšie na báze Fc-fragmentu IgG1 protilátky a receptora pre niektorý cytokín, či adhezívnej, alebo koinhibičnej molekuly, majú koncovku –cept (tab. 10). Na rozdiel od mAb neviažu komplement, a preto ani nespôsobujú lýzu buniek, na ktoré sa viažu.

TAB. 10  
NÁZVOSLOVIE A ZLOŽENIE FÚZNYCH PROTEÍNOV

KONCOVKA	NÁZOV	ZLOŽENIE		
-cept	<i>etanercept</i>	Fc-fragment IgG1 protiáltky	+	receptor pre TNF- $\alpha$
	<i>rilonacept</i>			receptor pre IL-1
	<i>aflibercept</i>			receptor pre VEGF1/2
	<i>belatacept</i>			molekula CTLA-4
	<i>abatacept</i>			molekula CTLA-4
	<i>alefacept</i>			adhezívna molekula LFA-3

Monoklonové protilátky majú schopnosť reagovať s konkrétnym antigénom, proti ktorému sú namierené. Ak je cieľovým antigénom rozpustná molekula alebo receptorový ligand, dochádza k neutralizácii tohto antigénu. Ak je cieľovou molekulou receptor na bunkovom povrchu, dochádza k zablokovaniu signálnej dráhy, s ktorou je tento receptor spojený.

Mechanizmus účinku mAb na bunkovej úrovni môžeme rozdeliť na účinok priamy a nepriamy:

- priame pôsobenie vedie k neutralizácii solubilného antigénu, resp. k interakcii s povrchovým receptorom a následnej zmene vnútrobunkovej signálnej dráhy;
- nepriame pôsobenie predstavuje cytotoxicita závislá od komplement fixačnej reakcie alebo bunkami sprostredkovaná cytotoxicita:

- v prvom prípade sa po väzbe protilátky na cieľovú bunku klasickou cestou aktivuje komplement, následne dochádza k narušeniu bunkovej membrány a usmrteniu bunky;

- pri bunkami sprostredkovanej cytotoxicite ide o usmrtenie terčových buniek mechanizmom od protilátky závislej bunkami sprostredkovanej cytotoxicity (ADCC, *antibody dependent cell mediated cytotoxicity*).

Samotný mechanizmus účinku predurčuje mAb k terapeutickému použitiu všade tam, kde je potrebné cielene ovplyvniť imunitný systém. Dnes sa využívajú najmä v terapii reumatoidnej artritídy, nešpecifických črevných zápalov, psoriázy a sclerosis multiplex, ďalej k prevencii akútnej rejekcie po transplantáciách obličiek a v neposlednom rade v onkológii, kde sa monoklonové protilátky využívajú na cielenú terapiu (*targeted therapy*), ktorej cieľmi sú napr. receptor epidermového rastového faktora (EGFR) alebo receptor vaskulárneho endotelového rastového faktora (VEGF), resp. najnovšie blokátory kontrolných bodov aktivácie T-lymfocytov (CTL-4, PD-1, PD-1L). Najväčšiu skupinu mAb predstavujú tie, ktoré

účinkujú prostredníctvom inhibície TNF- $\alpha$ , ktorý má kľúčovú úlohu v patogenéze viacerých autoimunitných chorôb.

K najčastejším nežiaducim účinkom zaraďujeme zvýšené riziko infekcií (pozri ďalej) a malignít, menej často potom neurologické, hematologické, pľúcne a kardiovaskulárne komplikácie. Pozorované boli chrípkové príznaky (svalové bolesti, bolesti hlavy, triaška, febrílie), lokálna alergická reakcia v mieste parenterálnej aplikácie (opuch, exantém), infúzne reakcie (bolesti hlavy, hypertenzná reakcia, nauzea, pruritus, urtikária) a výnimočne ťažká alergická reakcia charakteru anafylaktického šoku (pravdepodobnosť jej výskytu je samozrejme vyššia s vyšším podielom nehumánnej zložky). Ojedinele môže u pacientov dôjsť aj k tvorbe neutralizujúcich autoprotilátok, ktoré môžu spôsobiť rýchlejšie odstránenie mAb a tým znížiť účinnosť liečby. Ako prevencia infúzných reakcií sa pred podaním niektorých monoklonových protilátok (napr. rituximab) doporučuje premedikácia kortikoidmi alebo antihistaminikami.

Ojedinele sa môže vyskytnúť aj alergická reakcia oneskoreného typu indukovaná imunokomplexami (spravidla na 3. – 12. deň po aplikácii lieku). Klinicky sa prejavuje bolesťami kĺbov, subfebrilitami, únavou, edémami tváre a končatín.

Dôležitým momentom je však aj fakt, že mAb sa väčšinou neviažu na cytochrómom p450, ani s inými transportnými proteínmi, čo značne znižuje riziko prípadnej interakcie s inými liekmi. Príčinou infekčných komplikácií pri liečbe monoklonovými protilátkami je, rovnako ako pri imunosupresívnej liečbe, zásah do prirodzených imunitných mechanizmov. Ich výskyt je však podľa výsledkov rozsiahlych randomizovaných štúdií len mierne zvýšený oproti skupinám liečeným placebom a je priamo úmerný dĺžke a intenzite liečby.

Avšak pacienta s imunitne sprostredkovaným ochorením liečeného cielenou biologickou liečbou je potrebné považovať za imunokompromitovaného s vyšším rizikom infekcií.

Klinicky sa najčastejšie jedná o infekcie baktériové (infekcie močových ciest, mäkkých tkanív, kože a kĺbov), mykotické a protozoálne (Candida, Aspergillus, Cryptococcus, Histoplasma, Pneumocystis). Pri použití protilátok proti TNF zablokovanie jeho účinku môže vyústiť do vzplanutia latentnej mykobaktériovej infekcie (prevažne extrapulmonálnej formy, relatívne riziko udávané v literatúre sa pohybuje od 1,6 do 25,1). Z vírusových infekcií bol zaznamenaný častejší výskyt herpes zoster alebo reaktivácie chronickej hepatitídy B alebo C. Predisponujúcimi faktormi pre vznik infekcie sú vyšší vek, malnutrícia, dlhšie trvanie

choroby, chronické pľúčne a kardiovaskulárne choroby, extraartikulárne manifestácie reumatoidnej artritídy, nízke hladiny IgG pred začatím liečby a súčasná liečba kortikoidmi.

Pri zvažovaní liečby monoklonovými protilátkami sa preto odporúča skrining TBC – RTG hrudníka, tuberkulínový test, meranie hladiny IFN- $\gamma$  po stimulácii špecifickým antigénom (QuantiFeron® test) a sérologické vyšetrenie prítomnosti hepatitídy B a C, HIV. Rovnako sa pred zahájením liečby odporúča očkovanie – proti chrípke, pneumokokom, tetanu a u rizikových pacientov aj proti hepatitíde B. Očkovanie živými vakcínami je v priebehu biologickej liečby kontraindikované (pri nevyhnutnom použití živej vakcíny sa požaduje trojmesačné vynechanie liečby pred podaním a 2 – 4 týždne po podaní vakcíny). Účinnosť očkovania však výrazne znižuje podanie rituximabu (anti-CD20).

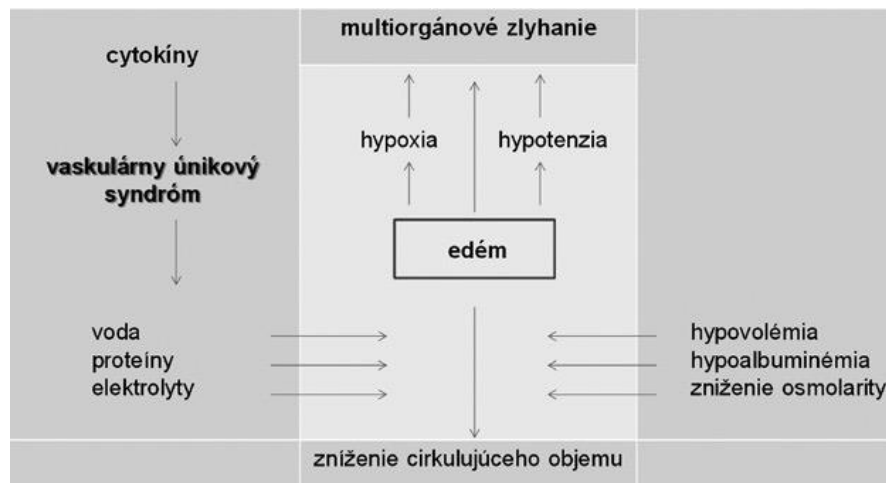
U pacientov liečených monoklonovými protilátkami sa pozoroval aj vyšší výskyt lymfómov, leukémií a melanómov. Vyššie dávky monoklonových protilátok môžu zhoršovať chronické srdcové zlyhávanie, preto sa táto liečba neodporúča ani u pacientov so srdcovým zlyhávaním vo funkčnej triede NYHA III-IV a u tých, ktorí majú redukovanú ejekčnú frakciu ľavej komory pod 50 %. Pri liečbe anti-TNF preparátmi sa zaznamenala paradoxná manifestácia sarkoidózy pravdepodobne v súvislosti s nedostatočnou inhibíciou cytokínovej aktivity. Počas liečby monoklonovými protilátkami boli vzácné popísané aj prípady rozvoja centrálnej alebo periférnej demyelinizácie. V prípade progresívnej multifokálnej leukoencefalopatie sa jedná o infekciu JC vírusom (typ humánnych polyomavírusov, predtým známy ako papovavírus), ktorý spôsobuje lytickú infekciu oligodendrocytov, astrocytov a aj nervových buniek. Niektoré mAb môžu vyvolať nauseu, hnačky, resp. zvýšenie aminotransferáz (napr. tocilizumab), najmä ak sú súčasne podávané aj iné hepatotoxické látky (napr. metotrexát). Pri uvedenom laboratórnom náleze však netreba zabúdať ani na možnú reaktiváciu chronickej hepatitídy B a C.

Pri liečbe monoklonovými protilátkami sa u niektorých pacientov objavia aj antinukleové protilátky (anti-dsDNA), ktoré vymiznú po prerušení liečby a k rozvoju klinicky manifestného lupus erythematosus alebo lupus-like syndrómu dôjde len veľmi zriedka.

Pozorovalo sa aj zhoršené hojenie rán a prejavy kožnej toxicity, ako napr. akneiformný raš, syndróm „ruka-noha“ (hand-foot syndrome), ktorý predstavuje kožnú reakciu na dlaniach rúk a ploskách nôh (začervenanie kože až obraz spálenia slnkom, pálenie, výrazná citlivosť, suchosť kože a jej následné olupovanie s bolesťou).

Jednou z veľkých nevýhod podávania monoklonových protilátok je indukcia tzv. presakujúceho vaskulárneho syndrómu (*vascular leak syndrome*) spôsobeného masívnym uvoľnením viacerých cytokínov, ktoré aktivujú endotelové bunky. Tým sa zvýši vaskulárna permeabilita, dochádza k extravazácii tekutiny, intersticiálnemu edému, príp. až k zlyhávaniu orgánov (obr. 1).

OBR. 1  
PATOMECHANIZMUS VZNIKU VASKULÁRNEHO ÚNIKOVÉHO SYNDRÓMU



Klinickými manifestáciami sú retencia tekutiny, zvýšenie telesnej hmotnosti, periférne edémy, pleurálny a perikardiálny výpotok, ascites, resp. anasarka. Sprievodnými prejavmi sú ďalej oligúria, hypotenzia a v najzávažnejších prípadoch až príznaky respiračnej insuficiencie a zlyhávania srdca (obr. 2).

OBR. 2  
KLINICKÉ PRÍZNAKY VASKULÁRNEHO ÚNIKOVÉHO SYNDRÓMU





Poznanie úlohy TNF- $\alpha$  v patogenéze reumatologických chorôb a možnosti jeho terapeutického ovplyvnenia monoklonovými protilátkami predstavuje novú éru vysoko cielenej a efektívnej liečby. Monoklonové protilátky (infiximab, etanercept, rituximab, tocilizumab a iné – tab. 11) sú používané v liečbe:

- reumatoidnej artritídy, spondylartritíd, juvenilnej idiopatickej artritídy a psoriatickej artritídy, ďalej systémového lupus erythematosus, vaskulitíd;

TAB. 11  
MONOKLONOVÉ PROTILÁTKY POUŽÍVANÉ V REUMATOLÓGII

MECHAMIZMUS ÚČINKU	MONOKLONOVÁ PROTILÁTKA
inhibítory TNF- $\alpha$	infiximab
	adalimumab
	golimumab
	certolizumab pegol
fúzny proteín proti receptoru pre TNF- $\alpha$	etanercept
anti-CD20	rituximab
anti-IL-6 receptor	tocilizumab
rekombinantný IL-1Ra	anakinra
anti-IL-1	canakinumab

- v gastroenterológii – Crohnova choroba a ulcerózna kolitída sú najčastejšou indikáciou na liečbu monoklonovými protilátkami (infiximab, adalimumab, golimumab, natalizumab);
- v neurológii sa jedným z prvých liečebných cieľov stala sclerosis multiplex, ale klinické štúdie testujú vybrané molekuly aj pri neuromyelitis optica, myasthenia gravis alebo polymyozitíde (v súčasnosti sa však ďalej posudzuje terapeutický účinok monoklonových protilátok aj v liečbe malígnych gliómov mozgu, neuropatickej bolesti a dokonca aj svalovej dystrofie);
- najčastejšou dermatologickou indikáciou je psoriasis vulgaris a psoriatická artritída.

K absolútnym kontraindikáciám podania mAb patrí okrem precitlivenosti na prípravok aj závažná alebo oportunistická infekcia, gravidita, aktívna alebo latentná tuberkulóza a pokročilé srdcové zlyhávanie. Ďalšie komorbidity – lymfoproliferačné choroby, anamnéza nádorového procesu pred menej ako 5 rokmi, prítomnosť neurodegeneračnej choroby alebo

hepatálna insuficiencia sú pri niektorých prípravkoch označované len ako relatívne kontraindikácie.

V súčasnosti už existuje schéma vyšetrení, ktoré by, samozrejme okrem podrobne odobratej anamnézy a fyzikálneho vyšetrenia, mali byť nevyhnutne realizované pred začatím biologickej liečby:

- krvný obraz a diferenciálny rozpočet leukocytov,
- kreatinín, hepatálne testy  $\pm$  CRP, lipidogram, glykémia, močový sediment,
- vylúčenie aktívnej aj latentnej tuberkulózy (RTG hrudníka, Mantoux, quantiferónový test),
- vylúčenie gravidity,
- sérologické vyšetrenia na hepatitídu B a C, HIV,
- autoprotilátky (ANA, anti-dsDNA).

TAB. 12  
VYBRANÉ MONOKLONOVÉ PROTILÁTKY A FÚZNE PROTEÍNY VYUŽÍVANÉ V KLINICKEJ PRAXI

MONOKLONOVÁ PROTILÁTKA	TERČOVÁ MOLEKULA	INDIKÁCIE
infiximab	TNF- $\alpha$	RA, ankylozujúca spondylitída, psoriáza a psoriatická artritída, m. Crohn, ulcerózna kolitída
etanercept	TNF- $\alpha$	RA, ankylozujúca spondylitída, psoriáza a psoriatická artritída
adalimumab	TNF- $\alpha$	RA, ankylozujúca spondylitída, psoriáza a psoriatická artritída, m. Crohn, ulcerózna kolitída
golimumab	TNF- $\alpha$	RA, ankylozujúca spondylitída, psoriatická artritída, ulcerózna kolitída
certolizumab	TNF- $\alpha$	RA, ankylozujúca spondylitída, psoriáza, psoriatická artritída
canakinumab	IL-1	juvenilná idiopatická artritída, dnavá artritída, autozápalové choroby
sekukinumab	IL-17A	psoriáza
ustekinumab	p40 IL-12 a IL-23	psoriáza, psoriatická artritída
rituximab	CD20	RA, granulomatóza s polyangiitídou
denosumab	RANKL	osteoporóza
omalizumab	IgE	asthma bronchiale
teplizumab	CD3	autoimunitný diabetes mellitus
natalizumab	$\alpha$ -4 integrínová podjednotka	sclerosis multiplex, m. Crohn

### 3.5.2 Intravenózne imunoglobulíny

Imunoglobulíny (Ig) sú v klinickej praxi známe najmä vďaka použitiu pri liečbe pacientov s primárnymi alebo sekundárnymi imunodeficienciami, avšak vďaka ich komplexnému imunomodulačnému účinku sa indikácie ich podania rozširujú aj na viaceré autoimunitné, neurologické a hematologické choroby.

Podávané imunoglobulíny sa získavajú izoláciou zo zmiešanej ľudskej plazmy mnohých darcov, čo zabezpečuje extrémne široké spektrum protilátok. Preparát však musí, okrem vysokej koncentrácie protilátok, obsahovať intaktné a funkčne neporušené molekuly Ig s normálnym biologickým polčasom a zachovaným pomerom podtypov IgG. Samozrejme musí byť vylúčená kontaminácia endotoxínmi a infekčnými agensmi.

Imunopreparáty sa pripravujú pre intramuskulárnu (i.m.), subkutánnu (s.c.) alebo intravenóznú (i.v.) aplikáciu (s rozdielnou koncentráciou imunoglobulínov – pozri tab. 13). Podstatný rozdiel medzi i.v. a i.m. preparátom je však v obsahu vysokomolekulových agregátov – preparáty pre i.v. použitie sa spracovávajú tak, aby ich neobsahovali. Práve pre možný výskyt vysokomolekulových agregátov v preparátoch na intramuskulárne použitie sa tieto nesmú nikdy podať intravenózne, lebo by mohlo dôjsť k aktivácii komplementu a anafylaktoidnej reakcii.

TAB. 13  
ROZDIELY V ZLOŽENÍ IMUNOPREPARÁTOV PODĽA SPÔSOBU PODANIA

SPÔSOB PODANIA	OBSAH IMUNOGLOBULÍNŮV			VYSOKOMOLEKULOVÉ AGREGÁTY
	IgG	IgA	IgM	
<i>i.m.</i>	prevažne	rôzna koncentrácia	stopy	+
<i>i.v.</i>	prevažne	stopy	stopy	-
<i>s.c.</i>	prevažne	stopy	stopy	-

Preparáty pre intramuskulárne použitie sa na liečbu nehodia pre dávkový limit 100 mg.kg<sup>-1</sup> hmotnosti, ich podanie je navyše pomerne bolestivé a majú tendenciu spôsobovať krvácanie v mieste vpichu.

V súčasnosti sa preto v praxi viac využívajú intravenózne preparáty (*intravenous immunoglobulins*; IVIG). Najčastejšie vedľajšie účinky sú bolesti hlavy, svalov, horúčky, únava, zvracanie, triašky, závraty a vyrážky; z vážnejších komplikácií sa zaznamenalo zlyhanie funkcie obličiek, tromboembolické príhody a aseptická meningitída.

Ďalšiu alternatívu predstavuje subkutánna aplikácia (*subcutaneous immunoglobulins*; SCIG). Vrchol hladiny IgG sa dosahuje za 3 – 4 dni v porovnaní s 15 minútami pri *IVIG*. Výsledky liečby boli porovnateľné s výsledkami dosahovanými pri *IVIG*-liečbe, pričom však vedľajšie účinky boli neporovnateľne menšie. Najčastejšie dochádza iba k lokálnym prejavom, ako je začervenanie či opuch v mieste vpichu a len výnimočne sa pozorujú systémové reakcie. Je to pravdepodobne dôsledok toho, že sa do krvného obehu vstrebávajú pomalšie a v menšom množstve.

Nevýhodou SCIG je, že do daného miesta vpichu možno vpraviť len malé množstvo preparátu. K dosiahnutiu terapeutickej dávky sú teda potrebné kratšie intervaly medzi jednotlivými podaniami a vpichy na viaceré miesta. Príčinou je podkožné extracelulárne matrix, ktoré neumožňuje prijať väčšie množstvo SCIG a spomaľuje jeho vstrebávanie. Podanie SCIG spolu s hyaluronidázou, ktorá štiepi hlavnú súčasť extracelulárneho podkožného matrix – kyselinu hyalurónovú, je podkladom tzv. uľahčenej subkutánnej imunoglobulínovej terapie (*facilitated immunoglobulin subcutaneous therapy*), pri ktorej je možné podať vyššie dávky lieku a zvýši sa aj jeho absorbcia.

V rámci autoimunitných chorôb sú najčastejšími indikáciami autoimunitná trombocytopenická purpura a Kawasakiho syndróm, ale aj systémový lupus erythematosus, myasthenia gravis, bulózny pemfigoid, Guillainov-Barrého syndróm, urtikárie, systémové vaskulitídy, dermatomyozitída a polymyozitída.

Účinok *IVIG* je mimoriadne pleiotropný a komplexný – okrem nimi spôsobenej zvýšenej degradácie IgG vrátane autoprotilátok tejto triedy v endotelových bunkách (aj s následným znížením ich titra) spomeňme aspoň:

- schopnosť blokovat' Fc-receptory na fagocytujúcich bunkách a tým zabrániť pohlteniu a deštrukcii vlastných krvných buniek autoprotilátkami;
- rýchlu indukciu (i keď krátkodobú) zvýšenia hladín protizápalových cytokínov, ktoré ďalej redukujú fagocytózu;
- zníženie množstva adhezívnych molekúl v membránach buniek s následnou zábranou prechodu neutrofilov a eozinofilov do zápalového ložiska;
- bránia vytváraniu membranolýtického komplexu C5b – C9 (MAC, *membrane attack complex*);
- inhibujú diferenciáciu a dozrievanie dendritových buniek (DC, *dendritic cells*) a zrelým DC

zabraňujú produkovať IL-12 a tak indukovať  $T_H$ -(auto)imunitné procesy (naopak, podporujú syntézu imunosupresívneho IL-10), v membránach DC znižujú aj množstvo HLA-molekúl druhej triedy a tým ich schopnosť aktivovať naivné T-lymfocyty;

- tlmia syntézu IL-2 (a tým proliferáciu aktivovaných T-lymfocytov);
- zvyšujú počty aj aktivitu regulačných T-lymfocytov.

Liečba imunoglobulínmi je v súčasnosti považovaná za účinnú a bezpečnú a nemá nežiaduce účinky kortikoterapie, resp. inej dlhodobej imunosupresie. Pozorované boli nevoľnosť, subfebrilita, triaška, rinitída a bolesti hlavy a svalov, ktoré však väčšinou ustupujú po spomalení infúzie, resp. pri preventívnom podaní antihistaminík alebo antiflogistík. Najobávanejšia anafylaktická reakcia je veľmi vzácna. Aj napriek tomu, že sú tieto preparáty získavané od veľkého počtu darcov, vďaka dôslednému skríningu a výrobným postupom nebol doteraz zaznamenaný prenos hepatitídy B alebo HIV infekcie, existuje len niekoľko málo prípadov prenosu hepatitídy C.

### 3.5.3 Polyklonové protilátky

Z polyklonových protilátok sa používajú najmä antilymfocytový a antitymocyty globulín. Získavajú sa izoláciou  $\gamma$ -frakcie séra získaného imunizáciou zvierat (koní, kráv) ľudskými lymfocytmi, resp. tymocytmi. Po ich podaní sa znižuje počet T-lymfocytov príjemcu (najmä pomocných  $CD4^+$ ), ďalej spôsobujú trombocytopéniu a menej aj neutropéniu. Účinkujú prostredníctvom opsonizácie a aktivácie komplementu.

Indikáciou na ich podanie sú najmä liečba a prevencia rejekcií pri orgánových transplantáciách, pri liečbe autoimunitných chorôb sa však používajú zriedka.

U pomerne veľkej časti pacientov sa po podaní polyklonových protilátok vytvoria neutralizačné protilátky, ktoré znižujú účinnosť a znemožňujú ich ďalšiu aplikáciu. Z nežiaducich účinkov sa môžeme stretnúť so sérovou chorobou alebo anafylaktickým šokom.

## 3.6 IMUNOMODULAČNÁ LIEČBA PRI AUTOIMUNITNÝCH CHOROBÁCH

V ostatných rokoch sa diskutuje aj o možnosti podania imunostimulancií pacientom trpiacim autoimunitnými chorobami aj napriek tomu, že ich imunitný systém považujeme za

„aktivovaný“. Indikáciou na podanie imunomodulačnej liečby však nie je základná choroba, ale sekundárna porucha celulárnej imunity, ktorá tieto choroby sprevádza (či už ako dôsledok základnej choroby alebo podávanej imunosupresívnej liečby). Liečba deficitu celulárnej imunity dokáže čiastočne modifikovať aj klinický priebeh, znížiť aktivitu chorobného procesu, predĺžiť obdobia remisie a eliminovať nežiaduce účinky imunosupresívnej liečby.

Najideálnejšími sú prípravky s imunoregulačným účinkom, ktoré za určitých okolností dokážu vytvoriť také cytokínové mikroprostredie, ktoré má potenciál potláčať nadmerné reakcie imunitného systému. V našich podmienkach máme klinické skúsenosti najmä s podávaním transfer faktoru pri uveitídach, reumatoidnej artritíde, psoriáze a psoriatickej artritíde, vaskulitídach, nešpecifických črevných zápaloch, Sjögrenovom syndróme a systémovom lupus erythematosus.

Indikovaní sú najmä pacienti s ťažkým klinickým priebehom, častými relapsami choroby, rezistenciou voči liečbe, resp. zvýšenou vnímavosťou na infekčné agensy. Z laboratórnych parametrov sa ako najvhodnejšie javí potvrdenie imunodeficiencie zníženými počtami T-lymfocytov (najmä subpopulácie CD8<sup>+</sup>) a zníženou expresiou HLA-DR antigénov na monocytoch.

Otázkou stále ostáva individuálna reaktivita jedinca, ktorá môže komplikovať liečbu. Nepriaznivo môže pôsobiť stimulácia TH1-lymfocytov, zvýšená produkcia IFN- $\gamma$  (ktorý zvyšuje expresiu HLA-I a HLA-II molekúl, čím sa lepšie „zviditeľňujú“ (auto)antigény), zvýšená tvorba (auto)protilátok alebo aktivácia prezentácie antigénu APC bunkami. Opatrne a s ohľadom na pomer rizika a benefitu treba imunostimulačnú liečbu zvažovať u pacientov s autoimunitným laboratórnym syndrómom, u ktorých sa napr. pozitivita ANA považuje za relatívnu kontraindikáciu jej podania. Preto musí byť táto terapeutická modalita prísne individualizovaná, správne načasovaná a určite by mala byť indikovaná a kontrolovaná klinickým imunológom.

## LITERATÚRA:

Ambarus C, Yeremenko N, Tak PP, Baeten D. Pathogenesis of spondyloarthritis: autoimmune or autoinflammatory? *Curr Opin Rheumatol*. 2012; 24(4): 351-358.

Anderson HA, Bracewell JM, Fraser AR, Jones D, Robertson GW, Russell JD. 5-Hydroxymaltol and mycophenolic acid, secondary metabolites from *Penicillium echinulatum*. *Transactions of the British Mycological Society* 1988; 91 (4): 649-651.

Baluna R, Rizo J, Gordon BE, Ghetie V, Vitetta ES. Evidence for a structural motif in toxins and interleukin-2 that may be responsible for binding to endothelial cells and initiating vascular leak syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999; 96 (7): 3957-3962.

Bartůňková J, Šedivá A, Janda A. Imunodeficiency - 2., přepracované a doplněné vydání. Praha: Grada 2007, 260s.

Bartůňková J, Paulík M. Vyušetřovací metody v imunologii. Praha: Grada Publishing 2011, 164s.

Bartůňková J. Imunitní systém – obecná charakteristika. In: Klener P. (ed). Vnitřní lékařství. Praha: Galén 2011, 105-121.

Bartůňková J. Imunologicky podmíněná onemocnění. In: Klener P. (ed). Vnitřní lékařství. Praha: Galén 2011, 525-562.

Biggioggero M, Meroni PL. The epidemiology of the antiphospholipid antibody syndrome. *Autoimmun Rev*. 2010; 9(5): A299-304.

Boehm T, Swann JB. Thymus involution and regeneration: two sides of the same coin? *Nat Rev Immunol*. 2013; 13 (11): 831-838.

Bruchatá K, Heinz P. Biologické liečivá z pohľadu farmácie. *Prakt. lekarn*. 2014; 4 (4): 120-122.

Buc M. Autoimunita a autoimunitné choroby. Bratislava: Veda 2005, 491s.

Buc M. Základná a klinická imunológia. Bratislava: Veda 2012, 831s.

Buc M. Role of regulatory T cells in pathogenesis and biological therapy of multiple sclerosis. *Mediators Inflamm*. 2013; 2013:963748.

Buc M. Autoimunita a autoimunitné choroby (druhé přepracované vydanie). Bratislava: Veda 2016, 667s.

Carrizosa E, Mempel TR. Immunology: In the right place at the right time. *Nature*. 2015; 528(7581): 205-206.

Catapano AL, Papadopoulos N. The safety of therapeutic monoclonal antibodies: Implications for cardiovascular disease and targeting the PCSK9 pathway. *Atherosclerosis* 2013; 228: 18-28.

Conrad K, Roggenbuck D, Laass MW. Diagnosis and Classification of Ulcerative Colitis. *Autoimmun Rev* 2014; 13(4-5): 463-466.

Cortez VS, Robinette ML, Colonna M. Innate lymphoid cells: new insights into function and development. *Curr Opin Immunol*. 2015; 32C: 71-77.

Datta S, Sarvetnick N. Lymphocyte proliferation in immune-mediated diseases. *Trends Immunol* 2009; 30(9): 430-438.

Dedinská I, Galajda P, Laca L, Mokáň M. Imunosupresia a novovzniknutý diabetes mellitus po transplantácii obličky. *Turany: P + M* 2014, 92s.

Doseděl, M, Vlček J, Malý J. Lékové interakce statinů, jejich klinická závažnost a management. *Remedia* 2011; 5(21): 392-397.

Drgoňa Ľ. Monoklonové protilátky v protinádorovej liečbe a infekčné komplikácie. *Onkológia (Bratisl.)*, 2010; 5(6): 319-322.

Đuriš I, Hulín I, Bernadič M. Princípy internej medicíny. Bratislava: SAP – Slovak Academic Press 2001, 2951s.

Ferenčík M, Rovenský J, Shoenfeld Y, Maťha V. Imunitný systém – dobrý obranca, ale aj možný diverzant. Bratislava: Slovak Academic Press 2004, 273s.

Ferenčík M, Rovenský J, Maťha V. Ilustrovaný imunologický slovník. Praha: Galén 2004, 288s.

Ferenčík M, Rovenský J, Shoenfeld Y, Maťha V. Imunitní systém – informace pro každého. Praha: Grada Publishing 2005, 236s.

Ferenčík M. Zápal – fundamentálny princíp vzniku chorôb. Bratislava: Balneotherma 2009, 357s.

Franceschi C, Campisi J. Chronic Inflammation (Inflammaging) and Its Potential Contribution to Age-Associated Diseases. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2014; 69(S1): S4-S9.

Furst DE, Keystone EC, Fleischmann R, Mease P, Breedveld FC, Smolen JS, et al. Updated consensus statement on biological agents for the treatment of rheumatic diseases, 2009. *Ann Rheum Dis*. 2010; 69 Suppl 1: i2-29.

Guilliams M, Ginhoux F, Jakubzick C, Naik SH, Onai N, Schraml BU, et al. Dendritic cells, monocytes and macrophages: a unified nomenclature based on ontogeny. *Nat Rev Immunol*. 2014; 14(8): 571-578.

Hellmark T, Segelmark M. Diagnosis and classification of Goodpasture's disease (anti-GBM). *J Autoimmun*. 2014; 48-49: 108-112.

Hořejší V, Bartůňková J. Základy imunologie. Praha: TRITON 2009, 316s.

Chrobák L. Propedeutika vnitřního lékařství. Praha: Grada Publishing 2007, 243s.

Iwasaki A, Medzhitov R. Control of adaptive immunity by the innate immune system. *Nat Immunol*. 2015; 16(4): 343-353.

Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA, Basu N, Cid MC, Ferrario F, et al. 2012 revised International Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of Vasculitides. *Arthritis Rheum*. 2013; 65(1):1-11.

Kantárová D, Buc M. T-lymfocyty, ich subpopulácie, biologický význam a účasť v imunopatologických procesoch. *Interná medicína* 2011; 11(12): 541-544.

Kantárová D, Prídavková D, Ságová I, Vrlík M, Mikler J, Buc M. Genetický a molekulový podklad vývoja autoimunitného diabetes mellitus. *Epidemiol. Mikrobiol. Imunol*. 2015; 31(64): 121-129.

Kim S, Marigowda G, Oren E, Israel E, Wechsler ME. Mepolizumab as a steroid-sparing treatment option in patients with Churg-Strauss syndrome. *J Allergy Clin Immunol*. 2010; 125(6): 1336-1343.

Klener P. Hematologie. In: Klener P. (ed). *Vnitřní lékařství*. Praha: Galén 2011, 105-121.

Kopřivová H, Malíčková K. Autoantibodies and female infertility. *Alergie* 2014; 16(4): 226-231.

Kovács L, Sýkora P, Čížnár P. Intravenózne imunoglobulíny a ich imunomodulačný účinok v pediatrii. *Pediatrica pre prax* 2012; 13(2): 65-70.



Kurča E, Cuninková M. Použitie monoklonových protilátok v neurológii. *Neurol. prax* 2011; 12(6): 388-392.

Lan RY, Ansari AA, Lian ZX, Gershwin ME. Regulatory T cells: development, function and role in autoimmunity. *Autoimmun Rev.* 2005; 4(6): 351-363.

Lee W, Su Kim H, Lee GR. Leukotrienes induce the migration of Th17 cells. *Immunol Cell Biol.* 2015; 93(5): 472-479.

Lees CW, Barrett JC, Parkes M, Satsangi J. New IBD genetics: common pathways with other diseases. *Gut.* 2011; 60(12): 1739-1753.

Leppert W, Buss T. The role of corticosteroids in the treatment of pain in cancer patients. *CurPainHeadacheRep.* 2012; 16: 307-313.

Littwitz-Salomon E, Akhmetzyanova I, Vallet C, Francois S, Dittmer U, Gibbert K. Activated regulatory T cells suppress effector NK cell responses by an IL-2-mediated mechanism during an acute retroviral infection. *Retrovirol.* 2015; 12: 66.

Liu XY, Pop LM, Schindler J, Vitetta ES. Immunotoxins constructed with chimeric, short-lived anti-CD22 monoclonal antibodies induce less vascular leak without loss of cytotoxicity. *MAbs.* 2012; 4(1): 57-68.

Lokaj J. Autoinflammation - patological impact of dysregulation of inflammatory reaction. *Vnitr Lek.* 2014; 60(1): 17-9.

Lukáš K, Jirásek V. Gastroenterologie. In: Klener P. (ed). *Vnitřní lékařství*. Praha: Galén 2011, 563-645.

Magen E, Delgado JS. *Helicobacter pylori* and skin autoimmune diseases. *World J Gastroenterol.* 2014; 20(6): 1510-1516.

Miossec P, Kolls JK. Targeting IL-17 and TH17 cells in chronic inflammation. *Nat Rev Drug Discov.* 2012; 11(10): 763-776.

Neefjes J, Jongsma ML, Paul P, Bakke O. Towards a systems understanding of MHC class I and MHC class II antigen presentation. *Nat Rev Immunol.* 2011; 11(12): 823-836.

Pavelka K, Arenberge P, Lukáš M, Zima T, Doležal T, Olejárová M, Cetkovská P. et al. *Biologická léčba zánětlivých autoimunitních onemocnění v revmatologii, gastroenterologii a dermatologii*. Praha: Grada 2014; 388s.

Pennell LM, Galligan CL, Fish EN. Sex affects immunity. *J Autoimmun.* 2012; 38(2-3): J282-291.

Pescovitz MD, Greenbaum CJ, Krause-Steinrauf H, Becker DJ, Gitelman SE, Goland R, et al. Rituximab, B-lymphocyte depletion, and preservation of beta-cell function. *New Engl J Med.* 2009; 361(22): 2143-2152.

Petrů V. *Dětská alergologie*. Praha: Mladá fronta 2012; 531s.

Proietto AI, van Dommelen S, Wu L. The impact of circulating dendritic cells on the development and differentiation of thymocytes. *Immunol Cell Biol.* 2009; 87(1): 39-45.

Quintero OL, Amador-Patarroyo MJ, Montoya-Ortiz G, Rojas-Villarraga A, Anaya JM. Autoimmune disease and gender: plausible mechanisms for the female predominance of autoimmunity. *J Autoimmun.* 2012; 38(2-3): J109-19.

Rudolf K, Malý J. Kortikosteroidy a imunosupresiva v chronické léčbě. *Prakt. lékařn.* 2011; 7(5): 228-231.

Sakaguchi S, Miyara M, Costantino CM, Hafler DA. FOXP3+ regulatory T cells in the human immune system. *Nat Rev Immunol.* 2010; 10(7): 490-500.

Selmi C, Generali E, Massarotti M, Bianchi G, Scire CA. New treatments for inflammatory rheumatic disease. *Immunol Res.* 2014; 60(2-3): 277-288.

Singh JA, Hossain A, Kotb A, Wells GA. Comparative effectiveness of immunosuppressive drugs and corticosteroids for lupus nephritis: a systematic review and network meta-analysis. *Syst Rev*. 2016; 5(1): 155.

Špalek P. Základné princípy terapie kortikosteroidmi pri autoimunitných neuromuskulárnych ochoreniach. *Neurol. prax* 2011; 12(6): 368-372.

Špalek P. Intravenózný imunoglobulín v liečbe autoimunitných neurologických ochorení. *Neurol. prax* 2011; 12(6): 383-387.

Špinar J, Ludka O. Propedeutika a vyšetřovací metody vnitřních nemocí. Praha: Grada Publishing 2008; 255s.

Takáč M. Základy diagnostiky vo vnútornom lekárstve. Osveta 1977, 497s.

Takáč M. Propedeutika vnútorného lekárstva. Martin: Osveta 1998; 308s.

Todd JA. Etiology of type 1 diabetes. *Immunity*. 2010; 32(4): 457-467.

Tonutti E, Bizzaro N. Diagnosis and classification of celiac disease and gluten sensitivity. *Autoimmun Rev*. 2014; 13(4-5): 472-476.

Třeška V. Propedeutika vybraných klinických oborů. Grada Publishing 2003, 459s.

Wandstrat A, Wakeland E. The genetics of complex autoimmune diseases: non-MHC susceptibility genes. *Nat Immunol*. 2001; 2(9): 802-809.

Wirnsberger G, Mair F, Klein L. Regulatory T cell differentiation of thymocytes does not require a dedicated antigen-presenting cell but is under T cell-intrinsic developmental control. *Proc Natl Acad Scie USA* 2009; 106(25): 10278-10283

Yadav M, Stephan S, Bluestone JA. Peripherally induced tregs - role in immune homeostasis and autoimmunity. *Front Immunol*. 2013; 4: 1-12.

Yuseff MI, Pierobon P, Reversat A, Lennon-Dumenil AM. How B cells capture, process and present antigens: a crucial role for cell polarity. *Nat Rev Immunol*. 2013; 13(7): 475-486.

Zadrazil J, Horák P, Karásek D. Moderní farmakoterapie autoimunitních chorob. Praha: Maxdorf 2015, 530s.

Zampieri S, Ghirardello A, Iaccarino L, Tarricone E, Gambari PF, Doria A. Anti-Jo-1 antibodies. *Autoimmunity*. 2005; 38(1): 73-78.

Zima T. Laboratorní diagnostika. Praha: Galén 2002; 728s.