Stanovení protilátek proti parietálním buňkám žaludku a jejich typizace

Ivana Stiborová a kol.

ZU UL – OLI CIM

DYNEX

XVII. ČASOMIL
Český A Slovenský Odborný Meeting Imunologických Laboratoří
12. – 14. 6. 2013 v Kutné Hoře

Protilátky proti parietálním buňkám žaludku

Autoprotilátky související s malabsorpcí vB12

- APCA (AGPC)

  Protilátky proti gastrickým parietálním buňkám (protilátky proti protonové pumpě, anti-H^+K^+ATP)
  - IFA, ELISA
- AIFA

  Protilátky proti vnitřnímu faktoru
  - ELISA

Primární test pro diagnostiku perniciózní anémie

DYNEX

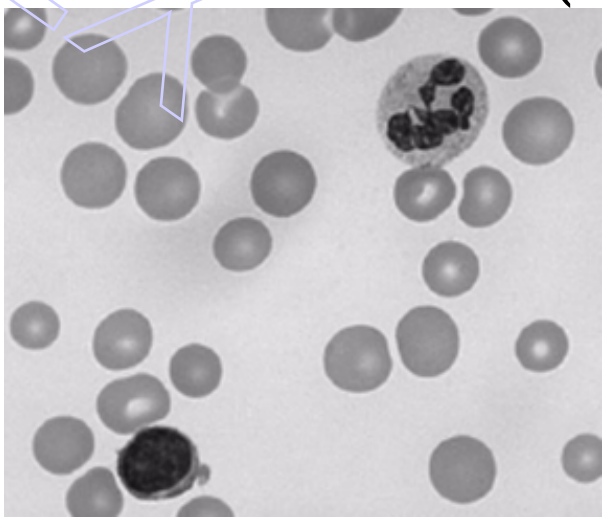
Perniciózní anémie (PA)
Addisonova-Biermerova anémie

- Pomalý progresivní proces vedoucí k megaloblastické anémii
  - Často bez klinických symptomů, hematologem odhalen náhodou
  - Deficience vB12 (kobalamin)
  - Důsledkem až neurologické postižení (myelopatie)
    - neurologický syndrom související s deficiencí kobalaminu – „subakutní kombinovaná degenerace míchy“ (Symetrické parestézie v prstech a chodidlech, později v celých končetinách. Nejdříve postihuje ruce, následně i nohy. Někdy i postižení očního nervu. Pokročilé stádium – „megaloblastické šílenství“ – nyní velmi vzácně)
  - Běžné potíže jako ztráty paměti, slabost, únava nebo změny nálady mohou souviset s deficiencí kobalaminu dokonce i při normálních hladinách vB12.

DMEV

Megaloblastická anémie

- Megaloblasty v krvi i kostní dřeni
- Abnormality způsobeny poruchami v syntéze DNA (syntéza metioninu závislá na metylkobalaminu).
  - Fyziologickým důsledkem defektů DNA morfologické změny v krevních buňkách a buňkách kostní dřeně – hypersegmenatce neutrofilů (není ale specifický znak)



Autoimunitní původ PA

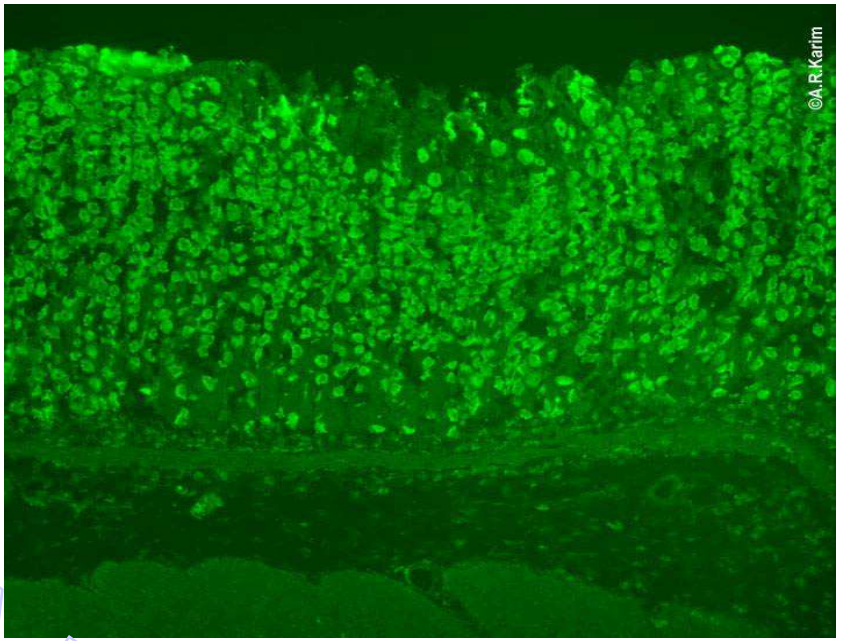
- Rodinný výskyt
- Asociace s jinými autoimunitními chorobami (IDDM, Gravesova choroba, vzácně SLE, Sjsy)
- APCA, AIFA v séru vznikají v důsledku rozpadu gastrických parietálních buněk, díky kterému je jejich obsah uvolněn do oběhu.

DMEX

APCA

- vážou se na povrch parietálních buněk a inhibují jejich funkci
- jejich původ je dosud obtížné určit
- při pokročilé PA vznikají gastrické léze, dochází k atrofii sliznice se ztrátou parietálních buněk, sliznice infiltrovaná lymfocyty a plazmatickými buňkami (hypotéza, že poškození sliznic je způsobeno zejména cytotoxickými protilátkami)

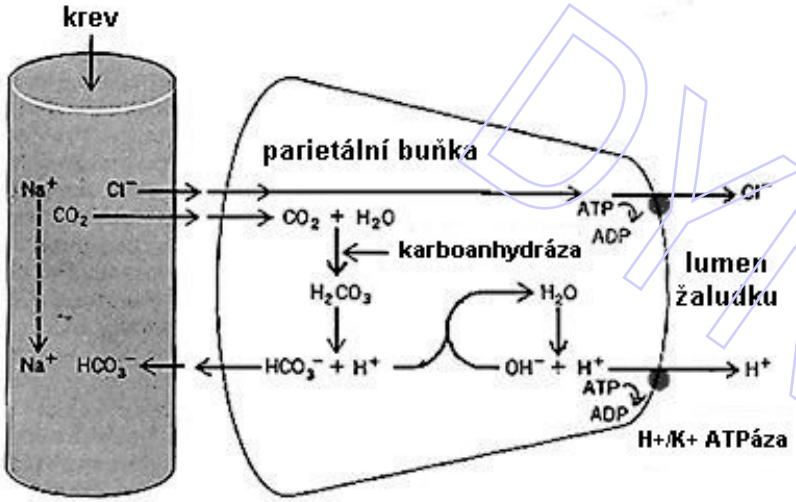
2 typy APCA

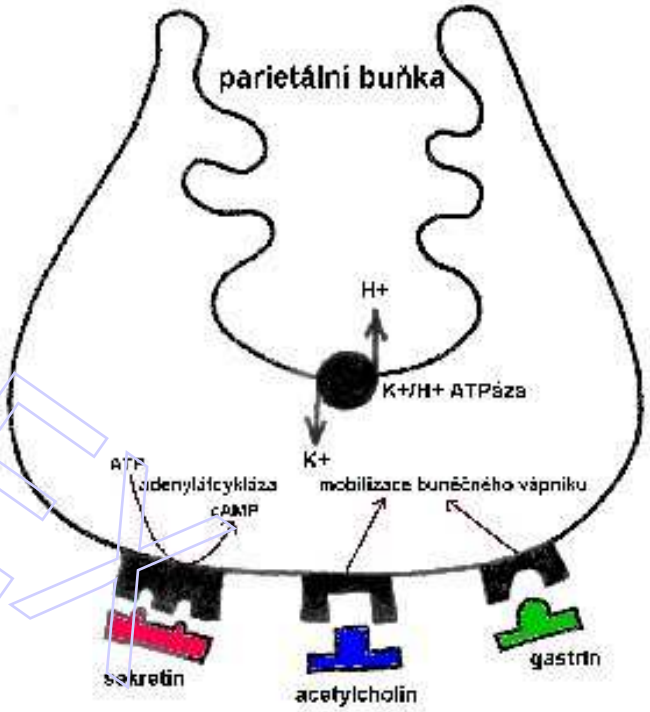


- reagující s mikrozomy parietálních buněk (klasické APCA) – namířené proti a a b podjednotce gastrické protonové pumpy. Zablokují-li tyto protilátky protonovu pumpu, indukují achlorhydrii
- reagující s povrchem parietálních buněk
- heterofilní protilátky
- APCA rozpoznávají proteiny o MW 60-90, 92 a 100-120 kDa

DYMEX

Protonová pumpa



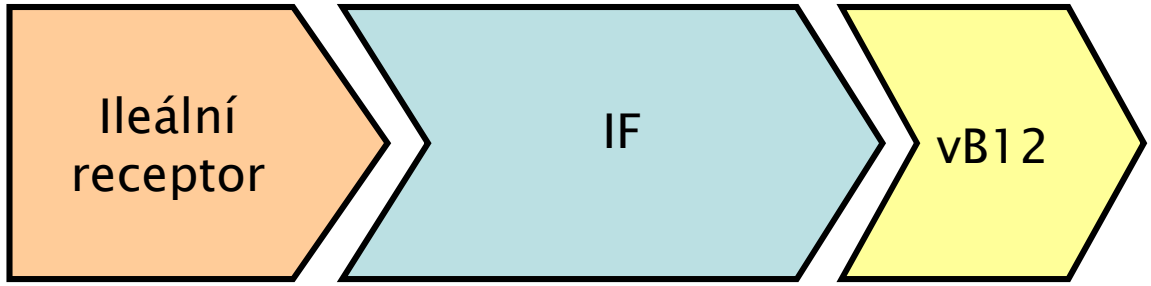


Vodíkové kationty (protony) jsou proti koncentračnímu gradientu v ohromném množství přečerpávány **H+/K+-ATPázou** apikální membrány. Tento enzym je pro svou velkou účinnost nazýván **protonovou pumpou**.

AIFA – protilátky proti vnitřímu faktoru

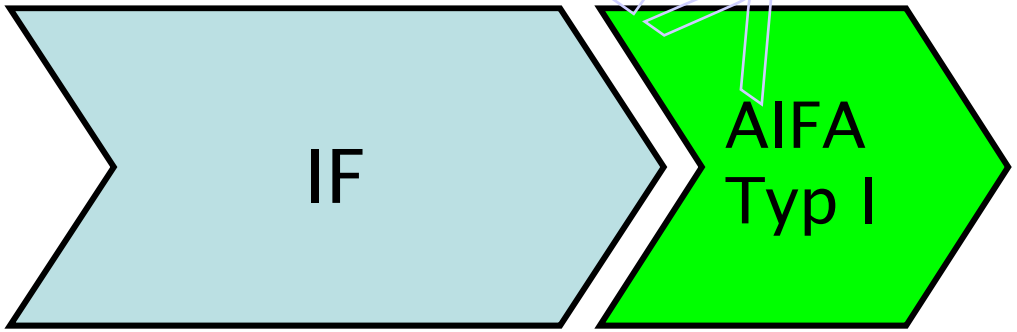
- Schwartz 1958 – neúčinnost per os substituce prasečího IF – AIFA
- Roitt et al. 1964 – různá účinnost při substituci IF, vysvětlením možná přítomnost dvou typů protilátek

- Vnitřní faktor – glykoprotein produkovaný parietálními buňkami, nezbytný pro vstřebávání vitaminu B12 (kobalaminu)
  - v kyselém prostředí žaludku má k němu velice nízkou afinitu
  - v zásaditém prostředí duodena se kobalamin ochotně váže na vnitřní faktor
  - Celý komplex (vitamin B12 a vnitřní faktor) je vysoce odolný k enzymatické degradaci
  - Vstřebává se hlavně v ileu – nejprve se naváže na specifické receptory enterocytů a poté je celý komplex resorbován do buňky.
  - Samotný vitamin B12 se na receptor navázat nemůže.



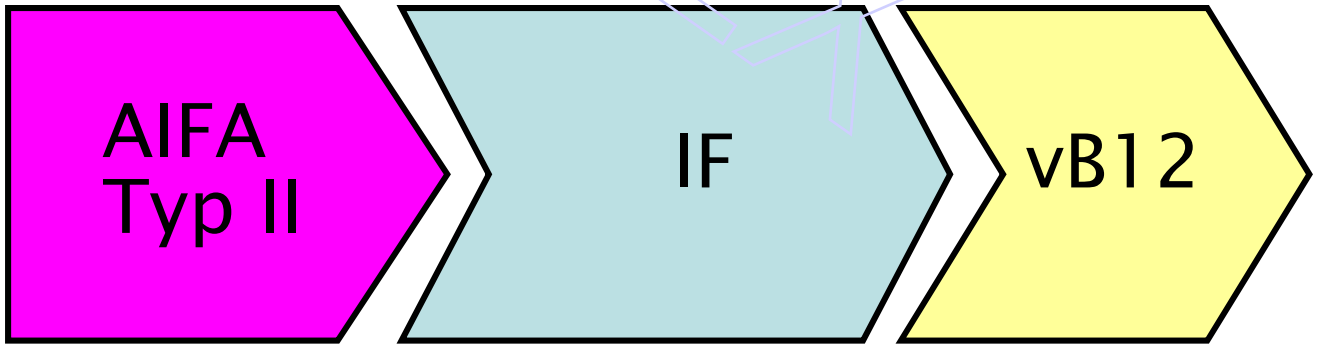
typ I – blokující AIFA

- blokuje vazebné místo pro kobalamin na molekule IF, váže primárně IF z žaludeční šťávy, někdy je možnost uvolnění vB12 z komplexu IF–vB12
- rozhodující je pH žaludeční šťávy
  - při nízkém pH nejsou tyto Ab schopny blokovat IF, který normálně tvoří komplexy s vB12. Při zvýšení pH (achlorhydrie) jsou tyto Ab již funkční



typ II – vázající se nebo precipitující AIFA

- blokují vazebné místo, kterým kopmlex IF–vB12 reaguje s receptorem ve střevní stěně; mohou vázat volný IF i jeho komplexy s vB12



©VNEX

AIFA

- Oba typy mají stejný patologický efekt (zabraňují resorpci kobalaminu ileálními receptory).
- Rozlišování obou typů nemá žádný praktický význam, je třeba používat soupravy detekující oba typy.

- AIFA mohou být produkovány salivárním systémem, do žaludku se dostanou se spolknutými slinami – tvoří je sekreční IgA.
- Hlavním zdrojem AIFA je sliznice žaludku – zejména IgG, ale i IgA
- Cirkulující AIFA typu I jsou převážně IgG
- Cirkulující AIFA typu II tvoří izotypy IgG a IgM
- Nejvhodnějším materiálem pro stanovení je sérum
- AIFA lze detekovat i v moči – nedoporučeno pro rutinu

DYNEX

AIFA x APCA

	senzitivita	specificita
APCA	Vysoká	Nízká
AIFA	Nízká	Vysoká

APCA často asociovány s atrofickou gastritidou u pacientů, kteří nemají PA

Doporučené komentáře

ascia – Australian Society of Clinical Immunology and Allergy Inc.

prosinec, 2004

- ✓ APCA+, AIFA+
  - Imunologický průkaz perniciózní anémie (PA)
- ✓ APCA–, AIFA–
  - PA neprokázána
- ✓ APCA+, AIFA–
  - Autoimunitní gastritida (>90% pacientů), která může vyústit v perniciózní anémii
  - Příbuzní osob s PA
  - Pacienti s autoimunitní thyroitidou
  - Zdraví jedinci
- ✓ Negativita AIFA nevylučuje diagnózu perniciózní anémie (pouze 60% pacientů s PA má pozitivní AIFA)

DYNEX

Doporučené komentáře

ascia – Australian Society of Clinical Immunology and Allergy Inc.

prosinec, 2004

- ✓ APCA–, AIFA+
  - Imunologický průkaz PA (současně průkaz makrocytózy a nízkých hladin vB12)
  - Nebo – klinický význam nejasný (neprokázána anémie nebo makrocytóza) – opakovat test po cca 6 měsících současně se stanovením sérového gastrinu, KO a hladin vB12
- ✓ APCA–, AIFA+, věk > 50 let
  - Imunologický průkaz PA
- ✓ APCA–, AIFA+, věk < 50 let
  - Pro průkaz PA doporučena biopsie žaludku

DYNEX

Testovaný soubor sér

- Testováno 21 pacientských sér s odečtenou pozitivitou APCA IF

	APCA	AIFA
Negativní	4	17
Slabě pozitivní	2	0
Pozitivní	15	4

sérum	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
APCA [RU/ml]	>200	>200	>200	33,3	83,5	100,3	83,6	<2	>200	>200	>200	>200	>200	<2	<2	74,4	29,9	<2	176,6	87,1	23,9
AIFA [RU/ml]	13,7	>200	2,6	3,6	2,4	129,8	79,6	7,5	<2	1,2	<2	<2	2,7	1,9	1,6	99,3	6,6	4,5	<2	5,1	4,8

Negativní … <20 RU/ml

DYNEX

Stanovení APCA – ZU UL

2012

- OLI CIM ZU UL – 270 vzorků pro stanovení APCA
  - APCA IFA 252
    - Anti-H+K+ATPáza 157
    - AIFA 169
  - Anti-H+K+ATP + AIFA 7
  - Pouze anti-H+K+ATP 7
  - Pouze AIFA 4

© YNEX

		Počet	Průměr	Min	Max
APCA IFA negativní	Celkem	155			
	Anti-H+K+ATPáza	72	14,3	0	224,8
	AIFA	60	13,7	0	> 250,0
APCA IFA pozitivní	Celkem	75			
	Anti-H+K+ATPáza	75	39,4	0	> 250,0
	AIFA	75	165,4	23,2	> 250,0
APCA IFA nelze hodnotit *	Celkem	6			
	Anti-H+K+ATPáza	6	74,8	2,6	231,7
	AIFA	6	37,9	0	225,8
APCA IFA nespecifické	Celkem	16			
	Anti-H+K+ATPáza	16	2,2	0	9,3
	AIFA	16	0,7	0	6,9

* ... (+ANA, +AMA, heterofilní Ab)

DEMO

Pacienti – APCA IFA neg., anti-H+K+ATPáza poz. nebo AIFA poz.

ID	Dg.	Odběr	APCA IFA	Anti-H+K+ATPáza	AIFA
JŘ ♀ *1941	K30 dyspepsie	6.2.2012	Negativní	1,7	> 200,0
		31.5.2012	Negativní	3,3	272,2
		22.11.2012	Negativní	2,1	252,1
DL ♀ *1960	K120 recidivující afty	10.2.2012	Negativní	184,9	10,6
		18.5.2012	Negativní	224,8	14,8
ŠR ♀ *1969	J451 nealergické astma	8.3.2012	Negativní	68,9	0
		19.11.2012	Heterofilní Ab	57,4	0
		17.12.2012	Slabě pozitivní	75,6	0

Děkuji za pozornost

DYNEX