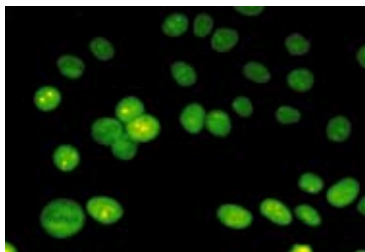
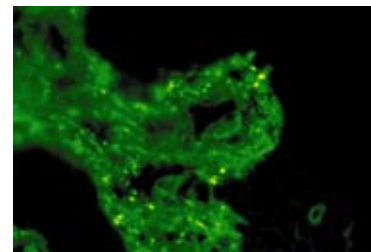


**Złote standardy
w diagnostyce chorób
autoimmunologicznych**

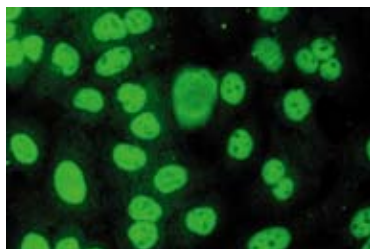
Złote standardy w diagnostyce chorób autoimmunologicznych



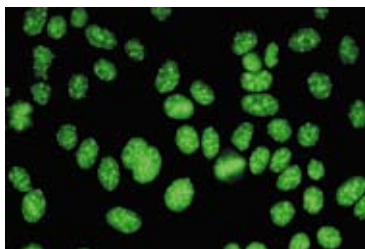
Przeciwciała przeciw topoizomerazie 1 Scl-70
Drobnoziarnista fluorescencja z przeświecającymi drobnymi jąderkami



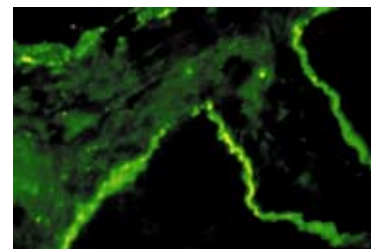
Dermatitis herpetiformis
Ziarniste złoży IgA w brodawkach skórnych
Metoda DIF



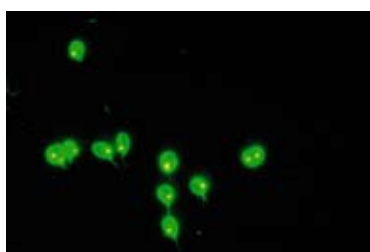
Przeciwciała przeciwjądrowe ANA
Typ RNP typ plamisty z wybarwiającymi się jąderkami



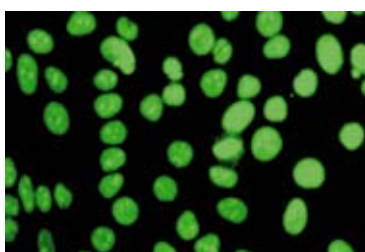
Przeciwciała przeciw centromerom ACA
Świecenie równomiernie rozsianych ziaren w komórce interfazalnej



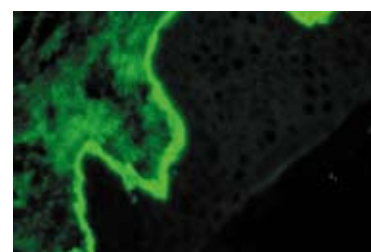
LABD linijna IgA dermataza pęcherzowa
Linijne złoży klasy IgA
wzdłuż błony podstawowej naskórka



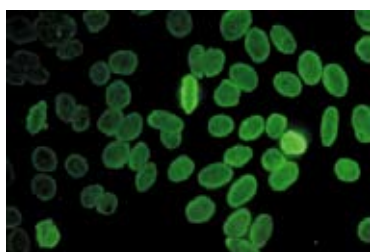
Przeciwciała przeciw natywnemu DNA
Wykrywane na komórkach wiciowca *Crithidium luciliae*
Mocna reakcja kinetoplastu



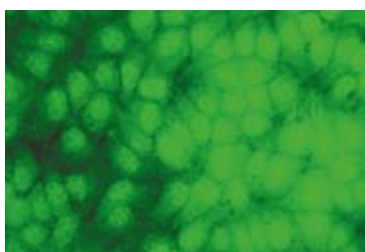
Przeciwciała ANA
Typ świecenia homogeny
Komórki HEp-2



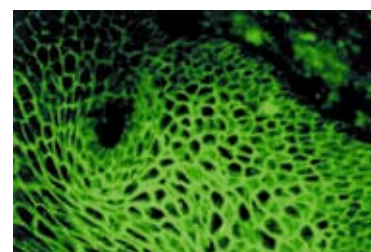
Pemphigoid
Linijne złoży klasy IgC
Metoda DIF



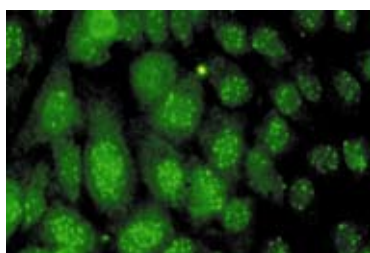
Przeciwciała ANA
Typ świecenia obwodowy



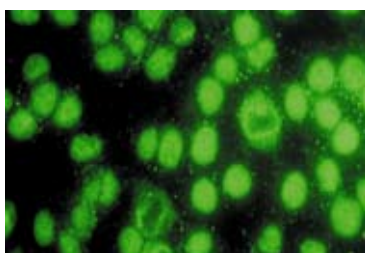
Przeciwciała ANA
Typ świecenia ziarnisto-nitkowaty
charakterystyczny dla przeciwciał Ro



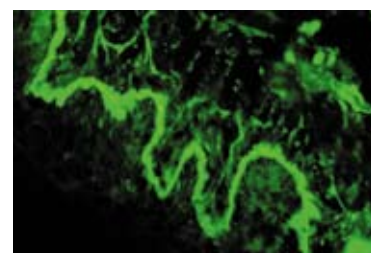
Pemphigus
na komórkach przelyku małpy
Metoda IIF



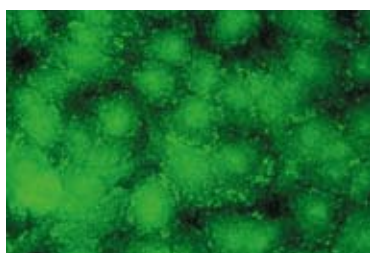
Przeciwciała ANA
Typ NSp-1 na komórkach HEp-2



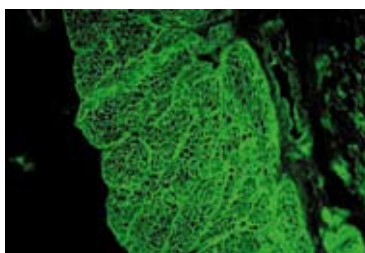
Przeciwciała przeciw jądrowe ANA
Typ charakterystyczny dla przeciwciała La
Komórki HEp-2



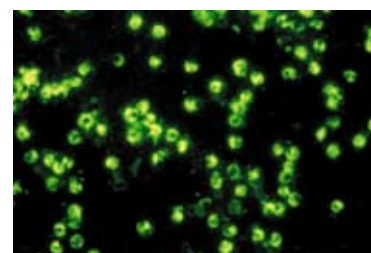
SLE układowy toczeń rumieniowaty
Ziarniste złoży immunoglobulin na granicy skóro-naskórkowej. Metoda DIF



Przeciwciała przeciw histydylowej tRNA syntetazie
Ziarniste świecenie cytoplazmatyczne Jo-1
Komórki HEp-2



Przeciwciała IgA-EMA
na przelyku małpy
Metoda IIF



Przeciwciała c-ANCA
na neutrofilach ludzkich
Metoda IIF

Szanowni Państwo,

Nowoczesna medyczna diagnostyka laboratoryjna chorób autoimmunologicznych jest istotnym uzupełnieniem i potwierdzeniem diagnozy klinicznej.

Autoimmunologia jest działem medycznej diagnostyki laboratoryjnej, w którym jakość uzyskanych wyników warunkowana jest w szczególności poziomem wiedzy i doświadczenia specjalistów.

Istotą procesu diagnostycznego jest nie tylko rodzaj zleconego badania, ale również wybór metody jego wykonania i powierzenie go odpowiedniemu zespołowi immunologów, patologów i diagnostów laboratoryjnych.

Od ich wiedzy i doświadczenia zależy m.in. prawidłowa ocena immunofluorescencyjnych preparatów mikroskopowych oraz interpretacja uzyskiwanych wyników.

Przed 15 laty zespół wybitnych specjalistów z wieloletnim stażem i doświadczeniem naukowym w dziedzinie chorób autoimmunologicznych rozpoczął swoją działalność w Warszawie w niepublicznym Laboratorium Autoimmunologii „NADZIEJA” pod kierunkiem światowej sławy immunopatologa prof. dr. hab. n. med. Tadeusza Chorzelskiego.

Od 2003 roku cały zespół kontynuuje swoją pracę w Pracowni Immunopatologii warszawskiego oddziału ogólnopolskiej sieci laboratoriów medycznych DIAGNOSTYKA. Pracownia specjalizuje się w diagnostyce chorób tkanki łącznej, pęcherzowych chorób skóry i celiakii. Druga wysokiej klasy Pracownia Autoimmunologii znajduje się w krakowskim oddziale DIAGNOSTYKI i specjalizuje się w diagnostyce zespołu antyfosfolipidowego, niepłodności oraz weryfikacji autoprzeciwciał narządowo specyficznych.

Wyniki badań autoimmunologicznych wykonanych przez naszych specjalistów opatrzone są komentarzami cenionych klinicystów, w tym pani prof. dr. hab. n. med. Stefanii Jabłońskiej – wybitnego specjalisty z zakresu kolagenoz i pęcherzowych chorób skóry. Zawarte w komentarzach informacje są cenną wskazówką w procesie diagnostycznym oraz terapii prowadzonej przez lekarzy specjalistów. Oferowana forma współpracy wyznacza europejskie standardy w oparciu o relacje lekarz- diagnosta w zintegrowanym systemie kompleksowej diagnostyki pacjenta.

Oddajemy w Państwa ręce opracowanie zawierające kompendium wiedzy w zakresie badań autoimmunologicznych oferowanych w ogólnopolskiej sieci laboratoriów medycznych DIAGNOSTYKA. Charakterystyka poszczególnych grup oznaczeń pomoże Państwu wybrać odpowiedni kierunek procesu diagnostycznego.

Zapraszamy do współpracy.

Z poważaniem

dr n. med. Zofia Kołacińska - Strasz

Konsultant Krajowy
ds. Badań Autoimmunologicznych
Diagnostyka Sp. z o. o.

dr n. med. Jakub Swadźba

Prezes Diagnostyka Sp. z o. o.

Spis treści

I. METODY STOSOWANE W DIAGNOSTYCE AUTOIMMUNOLOGICZNEJ	7
Metoda immunofluorescencji (IF)	7
Immunodyfuzja	7
Immunoblot	8
ELISA	8
Inne metody	8
II. NAJWAŻNIEJSZE GRUPY AUTOPRZECIWCIAŁ	9
PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W CHOROBY TKANKI ŁĄCZNEJ	9
Przeciwciała przeciwjądrowe i przeciwcyaoplazmatyczne	9
Najczęstsze choroby tkanki łącznej	10
Toczeń trzewny (<i>Systemic Lupus Erythematosus</i>) - SLE	10
Skórna postać tocznia trzewnego (<i>Discoid Lupus Erythematosus</i>) - DLE	10
Podostra skórna postać tocznia trzewnego (<i>Subacute Cutaneous Lupus Erythematosus</i>) - SCLE	10
Zespół Sjögrena	10
Mieszana choroba tkanki łącznej (<i>Mixed Connective Tissue Disease</i>) - MCTD	10
Twardzina układowa (<i>Systemic Sclerosis</i>) - SSC	10
Zapalenia wielomięśniowe (<i>Polymyositis</i>) i skórno-mięśniowe (<i>Dermatomyositis</i>) - PM i DM	11
RODZAJE BADAŃ PRZECIWCIAŁ W CHOROBY TKANKI ŁĄCZNEJ:	11
Przeciwciała przeciwjądrowe i przeciwcyaoplazmatyczne - test przesiewowy (ANA 1)	11
Przeciwciała przeciwjądrowe i przeciwcyaoplazmatyczne - test kompleksowy (ANA 2)	11
Przeciwciała przeciwjądrowe i przeciwcyaoplazmatyczne - immunoblot (ANA 3)	11
Przeciwciała przeciw dsDNA	11
Przeciwciała przeciw nukleosomom (ANuA)	11
Badania tkankowe (badania obecności przeciwciał w tkankach metodą DIF (direct immunofluorescence))	12
PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W ZAPALENIACH NACZYŃ (VASCULITIS)	12
Przeciwciała przeciw antygenom cytoplazmy neutrofilów (ANCA)	12
PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W CHOROBY PĘCHERZOWYCH SKÓRY	13
Pęcherzyca zwykła (<i>PV-pemphigus vulgaris</i>) i pęcherzyca liściasta (<i>PF-pemphigus foliaceus</i>)	13
Podnaskórkowe choroby pęcherzowe	13
PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W GLUTENOZALEŻNEJ ENTEROPATII	14
Przeciwciała przeciw endomysium w klasie IgG (EmA IgG) oraz w klasie IgA (EmA IgA)	14
Przeciwciała przeciw gliadynie w klasie IgG (AGA IgG) oraz w klasie IgA (AGA IgA)	14
Przeciwciała przeciw retikulinie w klasie IgG (ARA IgG) oraz w klasie IgA (ARA IgA)	14
Przeciwciała przeciw transglutaminazie tkankowej w klasie IgG (anty-tTG IgG) oraz w klasie IgA (anty-tTG IgA)	14
PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W AUTOIMMUNOLOGICZNYCH CHOROBY WĄTROBY	15
Przeciwciała przeciwmitochondrialne (AMA)	15
Przeciwciała przeciwmitochondrialne (AMA) typu M2	15
Przeciwciała przeciw kanalikom żółciowym	15
Przeciwciała przeciw mięśniom gładkim (ASMA)	15
Przeciwciała przeciw mikrosomom wątroby i nerki (anty-LKM)	15
Przeciwciała przeciw rozpuszczalnemu antygenowi wątrobowemu i wątrobowo- trzustkowemu (anty-SLA/LP)	16
PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W ZESPOLE ANTYFOSFOLIPIDOWYM (APS)	16
Badania przeciwciał antyfosfolipidowo-białkowych	16
Antykoagulant toczniowy (LA)	16
Przeciwciała antykardiolipinowe w klasie IgG i IgM	16
Przeciwciała przeciw β_2 -glikoproteinie I w klasie IgG i IgM (anty β_2 -GPI)	16
Przeciwciała przeciw protrombinie w klasie IgG i IgM	17
Przeciwciała przeciw fosfatydyloserynie w klasie IgG i IgM	17
Przeciwciała przeciw fosfatydyloinozytolowi w klasie IgG i IgM	17
PRZECIWCIAŁA ZWIĄZANE Z AUTOIMMUNOLOGICZNYMI PRZYCZYNAMI NIEPŁODNOŚCI	17
Przeciwciała przeciw plemnikom w surowicy	17
Przeciwciała przeciwplemnikowe w nasieniu	17
Przeciwciała przeciw antygenom jajnika	17
Przeciwciała przeciw komórkom Leydiga jąder	17
Przeciwciała przeciw antygenom łożyska	17
PRZECIWCIAŁA ZWIĄZANE Z CHOROBYMI AUTOIMMUNOLOGICZNYMI TARCZYCY	18
Przeciwciała przeciw peroksydazie tarczycowej (anty-TPO)	18
Przeciwciała przeciw tyreoglobulinie (anty-TG)	18
Przeciwciała przeciw receptorom TSH (TRAb)	18
PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W DIAGNOSTYCE REUMATOIDALNEGO ZAPALENIA STAWÓW	18
Przeciwciała przeciw cyklicznemu białku bogatemu w cytrulinę (anty-CCP)	18
PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W DIAGNOSTYCE MIASTENII	18
Przeciwciała przeciw receptorom acetylocholino (anty-AChR)	18
Przeciwciała przeciw mięśniom poprzecznie prążkowanym	19
PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W DIAGNOSTYCE CUKRZYCY TYPU 1	19
Anty-GAD	19
Anty-IA2	19
Przeciwciała przeciw wyspom trzustki	19
INNE PRZECIWCIAŁA NARZĄDOWO-SWOISTE	20
Przeciwciała przeciw komórkom okładzinowym żołądka (APCA)	20
Przeciwciała przeciw czynnikowi wewnętrznemu Castle'a	20
Przeciwciała przeciw błonie podstawnej kłębuszków nerkowych (anty-GBM) i błonie pęcherzyków płucnych	20
Przeciwciała przeciw mięśniowi sercowemu	20
Przeciwciała przeciw komórkom kubkowatym jelit	20
Przeciwciała przeciw komórkom zewnątrzwydzielniczym trzustki	20
Przeciwciała przeciw <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ASCA)	20
Przeciwciała przeciw korze nadnerczy	20
PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W ZESPOŁACH NEUROLOGICZNYCH	21
Panel neuroimmunologiczny	21



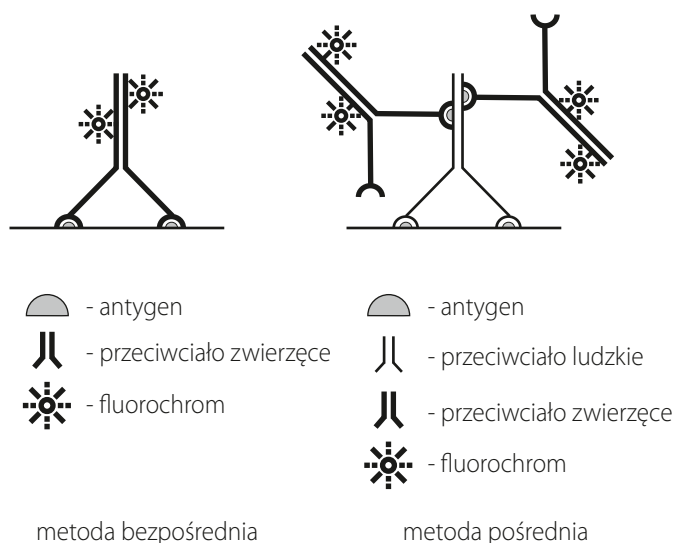
I. METODY STOSOWANE W DIAGNOSTYCE AUTOIMMUNOLOGICZNEJ

Metoda immunofluorescencji (IF)

Technika ta, wprowadzona ponad 40 lat temu, wciąż pozostaje standardową techniką immunologiczną („gold standard technique”) szeroko stosowaną w wielu laboratoriach na świecie. Charakteryzuje się wysoką czułością i swoistością, zwłaszcza, gdy posługuje się nią zespół z wieloletnim doświadczeniem. W metodzie immunofluorescencji źródłem natywnych (niezmienionych) antygenów są substraty tkankowe pozwalające na wykrywanie szerokiego spektrum przeciwciał. Podstawowym wyposażeniem laboratorium, niezbędnym do wykonywania badań immunofluorescencyjnych jest kriostat (urządzenie pozwalające na krojenie zamrożonych tkanek) oraz mikroskop fluorescencyjny, w którym ogląda się preparaty po przeprowadzonej reakcji immunologicznej. Znakowane fluorochromem przeciwciała sprawia, że w miejscu związania ze swoistym antygenem w tkance, w mikroskopie fluorescencyjnym zaopatrzone w lampę rtęciową emitującą promieniowanie UV, obserwuje się charakterystyczną żółto-zieloną fluorescencję.

Stosuje się dwa podstawowe warianty metody immunofluorescencji (IF):

- metodę bezpośrednią (DIF - Direct ImmunoFluorescence)
- metodę pośrednią (IIF - Indirect ImmunoFluorescence)



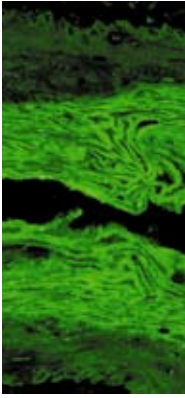
Metodę bezpośrednią stosuje się do wykrywania immunoglobulin i dopełniacza związanych *in vivo* w tkankach. Jest to metoda jednofazowa, w której skrawki zamrożonej tkanki inkubuje się ze znakowanym przeciwciałem zwierzęcym skierowanym przeciw ludzkim immunoglobulinom.

Metoda pośrednia jest metodą dwufazową, 10-krotnie bardziej czułą niż metoda bezpośrednia. Jest stosowana rutynowo do wykrywania przeciwciał krążących. Technika ta oparta jest na zdolności wiązania się przeciwciał krążących z odpowiednim antygenem obecnym w tkance użytej jako substrat antygenowy. W drugim etapie skrawek tkankowy ze związanym ludzkim przeciwciałem inkubuje się z przeciwciałem zwierzęcym znakowanym fluorochromem (konjugatem).

W badaniu półilościowym poprzez inkubowanie substratu tkankowego w pierwszym etapie reakcji IF z kolejnymi rozcieńczeniami badanej surowicy określa się poziom (miano) przeciwciał.

Immunodyfuzja

Metoda immunodyfuzji jest ważną metodą pomocniczą przy wykrywaniu przeciwciał precypitujących, skierowanych przeciw grupie rozpuszczalnych antygenów jądrowych (ENA - Extractable Nuclear Antigen). Należą do nich nRNP, Sm, Ro, La, Scl-70. Źródłem antygenów w tej metodzie jest specjalnie przygotowany wyciąg grasicy cielęcej lub innej tkanki bogatej w materiał jądrowy. Metoda polega na podwójnej dyfuzji w żelu agar-



zowym surowicy z badanymi przeciwciałami i ekstraktu grasicy cielęcej, który jest mieszaniną rozpuszczalnych antygenów jądrowych i cytoplazmatycznych. W miejscu spotkania przeciwciała z odpowiednim antygenem w żelu powstają linie precipitacyjne. Porównanie tych linii z liniami precipitacyjnymi uzyskanymi ze znanymi przeciwciałami (surowice standardowe z przeciwciałami RNP, Sm, Ro itd.) pozwala określić swoistość przeciwciała w badanej surowicy w zależności od tego czy uzyskana linia jest identyczna, częściowo identyczna, czy też nieidentyczna z linią precipitacyjną znanego przeciwciała. Metoda odznacza się wysoką swoistością, a jej dużą zaletą jest użycie natywnych, niezdenaturowanych antygenów.

Immunoblot

W tej technice otrzymuje się rozdział poszczególnych antygenów np. na pasku lub membranie i ten etap wykonywany jest najczęściej u producenta. Określone są miejsca, w których znajdują się poszczególne antygeny po rozdzieleniu, zależne od masy ich cząsteczki i ładunku. Pasek z wyznakowanymi wszystkimi znanymi antygenami jest stosowany jako niezbędny wzorzec służący porównaniu prążków powstałych po inkubacji z surowicą badaną. Wykonanie samego badania jest bardzo proste, gdyż odpowiedni pasek lub membranę inkubuje się z surowicą badaną, a następnie z koniugatem przeciw ludzkim immunoglobulinom (przeciwciała zwierzęce sprzężone z enzymami, skierowane przeciw ludzkim immunoglobulinom). W ostatnim etapie reakcji paski inkubuje się z substratem enzymatycznym, który w wyniku działania enzymu (peroksydaza, fosfataza alkaliczna) daje barwny produkt w miejscu gdzie na pasku znajduje się odpowiedni antygen.

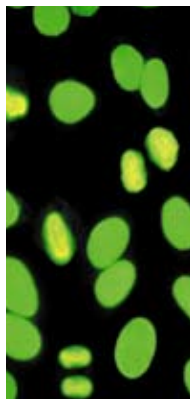
Trudności występują jedynie w interpretacji badania np. w przypadku słabo zaznaczonych prążków lub prążków, które występują w niestandardowych miejscach nieoznaczonych przez producenta. Wyrafinowana i dokładna technika immunoblotu pozwala wykrywać przeciwciała w niskich mianach. Umożliwia też dokładne określenie podjednostki antygenów, z którymi łączą się przeciwciała.

ELISA

Testy oparte na metodach immunoenzymatycznych (ELISA - Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) stają się coraz bardziej popularne, gdyż teoretycznie dają wyniki w pełni ilościowe. Istnieje jednak wiele problemów związanych z powtarzalnością tej metody, związanych najczęściej z przygotowaniem antygenów służących do opłaszczenia płytek ELISA. Stosowane antygeny mogą w czasie preparatyki ulegać denaturacji, co powoduje obniżenie wiarygodności wyników uzyskiwanych tymi metodami. Z drugiej strony obecność nawet minimalnych zanieczyszczeń dodatkowymi antygenami powoduje, że testy te dają fałszywie dodatnie wyniki. Technika ELISA nie wystarcza również do oceny przeciwciał przeciwjądrowych, ponieważ nie dysponuje się wszystkimi rodzajami antygenów obecnych w komórkach. Takie techniki pozwalają na otrzymanie ilościowego wyniku, ale w niektórych przypadkach do ich kontroli należy przeprowadzić test immunofluorescencji.

Inne metody

- **koagulometryczne** - do oznaczania antykoagulantu toczniowego,
- **nefelometryczne** - do oznaczania czynnika reumatoidalnego,
- **chemiluminescencyjne** - używane w automatach immunodiagnostycznych.



II. NAJWAŻNIEJSZE GRUPY AUTOPRZECIWCIAŁ

PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W CHOROBAH TKANKI ŁĄCZNEJ

Przeciwciała przeciwjądrowe i przeciwcyaoplazmatyczne

Przeciwciała przeciwjądrowe (ANA - Anti Nuclear Antibodies) swoją nazwą obejmują heterogenną grupę przeciwciał skierowanych przeciw różnym antygenom zarówno jądrowym, jak i cytoplazmatycznym. ANA inkubowane z substratem antygenowym dają różne typy fluorescencji (patterns), w zależności od lokalizacji antygeny, przeciw któremu są skierowane. Typ fluorescencji jest charakterystyczny i dostarcza niezwykle ważnych informacji na temat swoistości przeciwciała, która następnie jest weryfikowana za pomocą metody immunodyfuzji.

Podstawowe typy fluorescencji jądrowej to:

- homogenny
- obwodowy
- drobnoziarnisty
- gruboziarnisty
- jąderkowy
- antycyentromerowy

W metodzie IIF niezwykle ważny jest dobór właściwego substratu do reakcji. W Pracowniach Autoimmunologicznych DIAGNOSTYKI substratami z wyboru są: przełyk małpy, przełyk świnki morskiej oraz komórki linii HEp-2. Surowica badana jest jednocześnie na obu substratach zwierzęcych dając często nieco różne reakcje z każdym z nich, co pozwala na bardziej szczegółową charakterystykę poszukiwanego przeciwciała i ułatwia interpretację wyniku zwiększając diagnostyczne znaczenie testu.

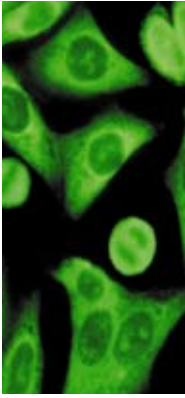
ANA są charakteryzowane na ludzkich komórkach nabłonkowych wywodzących się z raka krtani (komórki HEp-2). Ocena typu fluorescencji jądrowej na komórkach HEp-2 jest dużo łatwiejsza niż na substratach tkankowych ze względu na duże rozmiary jądra komórkowego. Komórki HEp-2 zawierają ponadto ludzkie antygeny, dlatego spektrum antygenów HEp-2 lepiej odpowiada swoistości ludzkich przeciwciał. Nie bez znaczenia jest również fakt, że komórki HEp-2, oprócz interfazalnych, prezentują pewien odsetek komórek mitotycznych. Umożliwia to identyfikację przeciwciał przeciw specyficznym strukturom mitotycznym, jak również pewniejszą identyfikację przeciwciał przeciw centromerom. Wiele przeciwciał przeciwjądrowych, które mogą być wykryte przy użyciu komórek HEp-2, nie reaguje z substratami tkankowymi, a z kolei istnieje pewien niewielki procent przeciwciał przeciwjądrowych, które nawet przy wysokim mianie nie są wykrywane na komórkach HEp-2, lecz mogą być zidentyfikowane przy zastosowaniu substratu tkankowego. Właściwa diagnostyka ANA wymaga więc równoległego badania każdej surowicy na trzech substratach: komórkach HEp-2, skrawkach przełyków małpy i świnki morskiej.

Szczególnym źródłem antygenów jądrowych jest komórka wiciowca *Crithidium luciliae*, używana jako swoisty substrat do wykrywania przeciwciał przeciw dwuniciowemu (natywnemu) DNA (dsDNA).

Po określeniu typu świecenia oraz miana przeciwciał dalsza ich identyfikacja prowadzona jest metodą immunodyfuzji lub metodą immunoblotu.

Podstawowymi rodzajami przeciwciał przeciwjądrowych są:

dsDNA	marker ciężkich postaci tocznia trzewnego (SLE), a w szczególności jego postaci z zajęciem nerek,
histonowe	obecne w toczniu indukowanym lekami (szczególnie prokainamidem i hydralazyną), rzadko w SLE bez etiologii polekowej, występują także w reumatoidalnym zapaleniu stawów (RZS),
U1-nRNP	marker mieszanej choroby tkanki łącznej (MCTD) i SLE o łagodnym przebiegu,
Ro (SS-A)/La (SS-B)	obecne w różnych postaciach tocznia, w zespole Sjögrena i w twardzinie układowej,
Sm	marker ciężkich postaci tocznia, często z zajęciem układu nerwowego,
Scl-70	marker twardziny układowej,
ACA (przeciwciała antycyentromerowe)	marker łagodnej postaci twardziny, zespołu CREST,



Jo-1	marker zapalenia wielomięśniowego (<i>polymyositis</i>),
U3-nRNP (fibrylarynowe)	obecne w twardzinie układowej,
RNA - polimeraza I	obecne w twardzinie układowej,
PM - Scl (PM-1)	występują w zespołach nakładania,
PCNA (cyklinowe)	występują w toczeniu układowym trzewnym,
Ku	obecne w toczeniu układowym, twardzinie, w zespołach nakładania,
Mi-1 i Mi-2	występują w zapaleniu skórno-mięśniowym (<i>dermatomyositis</i>),
antyrybosomalne	obecne w toczeniu z zaburzeniami psychicznymi,
ANuA	występują w toczeniu trzewnym, wykorzystywane są do różnicowania toczenia trzewnego od twardziny układowej.

Najczęstsze choroby tkanki łącznej

Toczeń trzewny (*Systemic Lupus Erythematosus*) - SLE

W surowicach chorych na SLE występują przeciwciała przeciw wielu antygenom jądrowym: dsDNA, histonom, Sm, nRNP, Ro (SS-A) i La (SS-B), rybosomom, Ku, PCNA, ANuA. Częstość wykrywania ANA w aktywnym okresie choroby wynosi 95-100%, a w okresie nieaktywnym 85-100%. Przeciwciała Sm i dsDNA są wysoce swoiste dla SLE, natomiast inne mają mniejsze znaczenie w diagnostyce, gdyż wykrywane są także w innych kolagenozach. Przeciwciała przeciw dsDNA są najbardziej swoiste dla toczenia trzewnego z zajęciem nerek (*lupus nephritis*) i są jednym z najważniejszych kryteriów diagnostycznych SLE. Dodatkowo istnieje korelacja pomiędzy aktywnością procesu chorobowego a poziomem tych przeciwciał i dlatego ocena ich miana służy do kontroli terapii. W zależności od aktywności choroby przeciwciała przeciw dsDNA występują w 30-50% przypadków SLE. Drugim obok dsDNA markerem patognomonicznym dla SLE są przeciwciała przeciwjądrowe Sm występujące u 5-20% chorych. Są one charakterystyczne dla ciężkich postaci toczenia, często z zajęciem układu nerwowego. Innymi przeciwciałami wykrywanymi w SLE są przeciwciała przeciw nukleosomom (ANuA), które stwierdzane są u 75-90% pacjentów z toczeniem trzewnym.

Skórna postać toczenia trzewnego (*Discoid Lupus Erythematosus*) - DLE

W DLE w ok. 30-40% przypadków wykrywa się przeciwciała Ro (SS-A). Miana tych przeciwciał są niskie w porównaniu z ich poziomem w innych chorobach autoimmunologicznych.

Podostra skórna postać toczenia trzewnego (*Subacute Cutaneous Lupus Erythematosus*) - SCLC

W SCLC występują głównie przeciwciała Ro (SS-A) i La (SS-B). Stwierdza się je w ok. 70% przypadków tej choroby.

Zespół Sjögrena

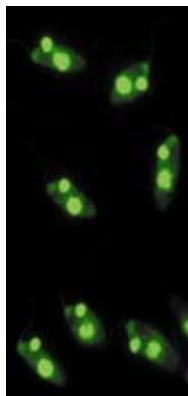
Przeciwciała Ro/La wykrywa się w zespole Sjögrena (40-90%) i w tej jednostce najczęściej występują one razem.

Mieszana choroba tkanki łącznej (*Mixed Connective Tissue Disease*) - MCTD

W chorobie tej występują w wysokich mianach przeciwciała przeciw rybonukleoproteinie jądrowej (U1-nRNP). Częstość występowania przeciwciał przeciw U1-nRNP wynosi 95-100% przypadków, a ich miano koreluje z aktywnością choroby. Przeciwciała przeciw U1-nRNP występują również u 30-40% pacjentów z SLE, ale na ogół w niższych mianach i prawie zawsze razem z przeciwciałami Sm.

Twardzina układowa (*Systemic Sclerosis*) - SSc

W twardzinie układowej ANA wykrywa się w ponad 95% przypadków. Najbardziej swoiste dla tej choroby są przeciwciała przeciw antygenowi Scl-70 (przeciw enzymowi topoizomerazie I DNA) i przeciwciała ACA. Chociaż immunofluorescencja, jaką dają przeciwciała Scl-70 jest bardzo charakterystyczna to wykrywanie tego przeciwciała powinno być zawsze potwierdzone w metodzie immunodyfuzji lub immunoblotu. W przebadanej w Pracowni Autoimmunologii serii ponad 500 przypadków SSc, przeciwciała Scl-70 występowało w około 80% przypadków twardziny układowej rozsianej dSSc (diffuse Systemic Sclerosis) i w około 50% twardziny ograniczonej LSSc (Limited Systemic Sclerosis).



Drugie co do częstości występowania przeciwciała przeciw centromerom (ACA) są markerem zespołu CREST. Obecne są również w niewielkim odsetku surowic pacjentów z zespołem Raynauda.

W tych przypadkach mogą mieć one znaczenie prognostyczne i pacjenci powinni być obserwowani w związku z możliwością rozwinięcia się pełnoobjawowej twardziny układowej.

Poza dwoma podstawowymi markerami SSc w surowicach chorych z twardziną układową występują również przeciwciała skierowane przeciw antygenom jąderkowym. Należą do nich przeciwciała fibrylarynowe (U3-nRNP) dające w IIF jąderkowy typ świecenia zwany „clumpy” oraz przeciwciała przeciw polimerazie I RNA dające ziarnisty typ świecenia jąderkowego. Homogeny typ fluorescencji jąderkowej jest charakterystyczny dla przeciwciał PM-Scl, które są markerem *scleromyositis* tj. zespołu łączącego w sobie cechy twardziny układowej i *myositis*.

Zapalenia wielomięśniowe (*Polymyositis*) i skórno-mięśniowe (*Dermatomyositis*) - PM i DM

Swoistym dla DM przeciwciałem jest przeciwciało Mi-2, dające charakterystyczną drobnoziarnistą przypominającą koronkę fluorescencję jądrową. Występuje ono jednak dość rzadko, bo tylko w ok. 15-20% przypadków tej choroby. W PM najczęściej wykrywanym przeciwciałem jest Jo-1. Przeciwciała Jo-1 dają ziarnistą fluorescencję cytoplazmy interfazalnych komórek HEp-2 i wymagają potwierdzenia metodą immunodiffuzji. Skierowane są przeciw antygenowi cytoplazmatycznemu, który zidentyfikowano jako syntetazę histydylową. Przeciwciała Jo-1 są wykrywane w *polymyositis* (ze śródmiąższowym zwłóknieniem płuc), a częstość ich wykrywania wynosi 25-35%.

RODZAJE BADAŃ PRZECIWCIAŁ W CHOROBY TKANKI ŁĄCZNEJ:

Przeciwciała przeciwjądrowe i przeciwcyaoplazmatyczne - test przesiewowy (ANA 1)

Jest to badanie, które niesie ze sobą czułość i specyficzność „złotego standardu” wraz z niską ceną oznaczenia. Badanie wykonywane jest metodami immunofluorescencji pośredniej i jednoznacznie rozstrzyga o obecności lub nieobecności przeciwciał przeciwjądrowych i przeciwcyaoplazmatycznych. Brak jest w nim jednak oznaczenia ich miana, typu świecenia czy rodzaju przeciwciał i dlatego w przypadku wyniku dodatniego niezbędne jest wykonanie badania kompleksowego ANA2.

Przeciwciała przeciwjądrowe i przeciwcyaoplazmatyczne - test kompleksowy (ANA 2)

To badanie zawiera w sobie kompleksową ocenę przeciwciał przeciwjądrowych metodami immunofluorescencji pośredniej i podwójnej immunodiffuzji w agarozie. Badany jest typ świecenia przeciwciał, ich miano a swoistość określona jest metodą immunodiffuzji. W przypadku homogenego typu świecenia wykonywany jest test na obecność dsDNA (*Crithidium luciliae*).

Przeciwciała przeciwjądrowe i przeciwcyaoplazmatyczne – immunoblot (ANA 3)

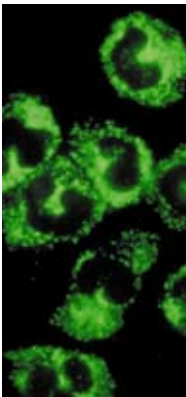
W przypadku pewnych antygenów rozstrzygające są dopiero metody immunoblotu. ANA3 jest dopełnieniem testu ANA2 i służy do określenia typów przeciwciał takich jak: Ku, histonowe czy podjednostki przeciwciała Ro. ANA3 jest przydatny jako test ostatecznie weryfikujący obecność przeciwciał przeciwjądrowych w przypadku wątpliwości pomiędzy wynikami badań uzyskanymi z różnych laboratoriów.

Przeciwciała przeciw dsDNA

Test ten zleca się u pacjentów z podejrzeniem o *lupus nephritis* w przypadkach wcześniejszego wykrycia przeciwciał dsDNA, w celu monitorowania zmiany poziomu tych przeciwciał. Jest to istotne z klinicznego punktu widzenia, gdyż odzwierciedla aktywność procesu chorobowego. Najczęściej monitorowanie miana dsDNA stosuje się w przypadku leczenia tocznia nerkowego lekami immunosupresyjnymi.

Przeciwciała przeciw nukleosomom (ANuA)

Badanie w kierunku przeciwciał przeciw nukleosomom szczególnie wskazane jest w przypadku różnicowania pomiędzy SLE a SSc, gdy w badaniu ANA2 nie stwierdza się przeciwciał dsDNA. Testy wykorzystujące tzw. nukleosomy II generacji stosowane do oznaczeń przeciwciał przeciw nukleosomom posiadają wysoką specyficzność względem SLE sięgającą 72-100%.



Badania tkankowe (badania obecności przeciwciał w tkankach metodą DIF (direct immunofluorescence))

W SLE w wycinkach skóry zdrowej i w zmianach skórnych wykrywa się przede wszystkim złogi immunoglobulin na granicy skórno-naskórkowej. Złogi mają na ogół charakter ziarnisty lub linijno-ziarnisty. Wykrycie tego zjawiska w skórze zdrowej ma duże znaczenie diagnostyczne dla SLE i zostało nazwane „lupus band test –LBT”.

W złogach na granicy skórno-naskórkowej wykrywa się na ogół przeciwciała klasy IgG, IgA, IgM i składową C3 dopełniacza. Intensywność fluorescencji na granicy skórno-naskórkowej koreluje z aktywnością procesu chorobowego i poziomem przeciwciał przeciw natywnemu DNA. Zjawisku temu może towarzyszyć fluorescencja złogów immunoglobulin w ścianach powierzchniowych naczyń w skórze oraz fluorescencja jąder keratynocytów w naskórku.

Test DIF jest dodatni w przypadku 50-100% wycinków ze zmian skórnych w SLE. Częstość wykrywania dodatniego LBT jest niższa w skórze zdrowej i zależy od tego czy jest to część odsłonięta czy zasłonięta. Leczenie immunosupresyjne wyraźnie obniża częstość dodatniego LBT w SLE.

W SCLLE złogi z immunoglobulin na granicy skórno-naskórkowej mogą być również obecne (głównie w klasie IgG i IgM), natomiast zjawiskiem bardziej charakterystycznym dla tej jednostki jest występowanie drobnoziarnistej fluorescencji „dust” w cytoplazmie i jądrach komórek naskórka.

W DLE złogi immunoglobulin na granicy skórno-naskórkowej stwierdza się w wycinkach ze zmian skórnych. Mają one charakter linijny, lub linijno-ziarnisty i są grubsze niż złogi na granicy skórno-naskórkowej w SLE.

Dla potwierdzenia diagnozy DLE najbardziej odpowiednim miejscem pobrania wycinka do badania DIF jest stara nieleczonego zmiana skórna. W skórze zdrowej w DLE nie stwierdza się złogów immunoglobulin na granicy skórno-naskórkowej (LBT- ujemny).

MCTD łączy w sobie skórne i narządowe cechy SLE oraz twardziny układowej (SSc). DIF wycinków skóry jest często dodatni i ma charakterystyczną morfologię. Złogi immunoglobulin wykrywa się głównie w jądrach komórek naskórka w postaci ich gruboziarnistej fluorescencji, a rzadko na granicy skórno-naskórkowej.

W twardzinie układowej (SSc) nie wykrywa się szczególnych zjawisk immunologicznych w biopsjach i nie mają one znaczenia diagnostycznego.

PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W ZAPALENIACH NACZYŃ (VASCULITIS)

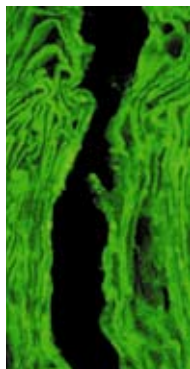
Przeciwciała przeciw antygenom cytoplazmy neutrofilów (ANCA)

Występują one w różnych chorobach naczyniowych. Wykorzystując metody immunofluorescencji pośredniej wyróżnia się ich dwa podstawowe typy:

- **cytoplazmatyczny (cANCA)** związany z ziarniniakowatością Wegenera, chorobą Crohna, Churg-Straussa, *polyarteritis nodosa*. Antygenem reagującym z surowicą pacjenta jest proteinaza 3 znajdująca się w cytoplazmie granulocytów.
- **perinuklearny (pANCA)** związany z innymi zapaleniami naczyń, np. *polyangiitis microscopica* i niekiedy z innymi chorobami np. *glomerulonephritis* czy *colitis ulcerosa*. Antygenami reagującymi z surowicą pacjenta są mieloperoksydaza, elastaza, laktoferyna, lizozym lub katepsyna G dyfundujące do błony jądrowej granulocytów. Badanie wykonuje się używając rozmazu ludzkich granulocytów utrwalonych etanolem.

Największe znaczenie diagnostyczne testu ANCA wykazano w ziarniniakowatości Wegenera. Jest to w 2/3 przypadków wielonarządowa choroba, której objawy często przypominają ciężkie zakażenie lub rozsiany proces nowotworowy. Wskazania do wykonania testu są bardzo różne, co wynika z wielkiej różnorodności objawów klinicznych i radiologicznych. Są to zarówno pojedyncze objawy jak: krwiotłucie, krwawienia z nosa, przewlekła niedrożność nosa, przewlekły ropny proces w obrębie górnych dróg oddechowych, owrzodzenia skóry, skrzydełek nosa, języka, krtani towarzyszące zmianom w płucach, przedłużające się objawy ogólne jak: wysoka ciepłota ciała, utrata masy ciała, osłabienie oraz całe zespoły chorobowe m.in. przewlekające się objawy zapalenia płuc, niereagujące na leczenie przeciwpłatkowe stany podejrzane o etiologię gruźliczą.

Odrębną grupę wskazań stanowią nieprawidłowe obrazy radiologiczne płuc w postaci mnogich cieni okrągłych, zmian rozsianych, obecność płynu w opłucnej, zmian naciekowych z dużym rozpadem, które nie odpowiadają typowym jednostkom chorobowym. Dodatkową trudnością w diagnostyce ziarniniakowatości Wegenera jest fakt, iż nawet obraz histologiczny zajętych narządów czasem budzi wątpliwości w różnicowaniu z gruźlicą i innymi chorobami ziarniniakowymi. Dzięki zastosowaniu testu ANCA jednoznacznie identyfikuje się pacjentów z ziarniniakowatością Wegenera, a jego czułość jest bliska 95% w aktywnym stadium choroby i 30-40% w remisji. Miano przeciwciał skorelowane jest z kliniczną aktywnością choroby.



PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W CHOROBAH PĘCZERZOWYCH SKÓRY

Autoimmunologiczne choroby pęcherzowe są wynikiem odpowiedzi immunologicznej na cząsteczki adhezyjne komórek naskórka i błony podstawowej naskórka (BMZ).

Pęcherzyca zwykła (PV-*pemphigus vulgaris*) i pęcherzyca liściasta (PF-*pemphigus foliaceus*).

Metoda IIF

W pęcherzycy przeciwciała skierowane są przeciw białkom desmosomalnym obecnym na powierzchni keratynocytów; w pęcherzycy zwykłej przeciw desmogleinie 3 i często również desmogleinie 1, a w pęcherzycy liściastej wyłącznie przeciw desmogleinie 1. Dowiedziono, że przeciwciała w obu postaciach pęcherzycy, oddziałując na funkcję desmosomów, są odpowiedzialne za powstawanie akantolizy i tworzenie się pęcherzy śródskórnokowych. W IIF surowice *pemphigus* reagują z substancją międzykomórkową nabłonka przełyku małpy i przełyku świnki morskiej. Przeciwciała *pemphigus vulgaris* (PV) barwią przestrzenie międzykomórkowe nabłonka w całym nabłonku przełyku małpy (bogaty w desmogleinę 3) i słabiej oraz w niższych mianach reagują z przełykiem świnki morskiej (bogaty w desmogleinę 1). Przeciwciała *pemphigus foliaceus* reagują tylko z górnymi warstwami substancji międzykomórkowej nabłonka małpy (nazywamy to typem *foliaceus*) dając przy tym intensywną fluorescencję i często wyższe miano na przełyku świnki morskiej (bogaty w desmogleinę 1).

W pęcherzycy miano przeciwciał krążących koreluje z aktywnością procesu chorobowego. Dlatego wykonywanie testu IIF w regularnych odstępach czasu jest niezwykle ważnym czynnikiem w monitorowaniu stanu pacjentów z tą chorobą. Szczególnym typem pęcherzycy jest pęcherzyca paraneoplastyczna (PNP). W tej postaci oprócz przeciwciał przeciw desmogleinie 1 i 3 występują dodatkowo przeciwciała przeciw desmoplakinom (1 i 2) oraz przeciw periplakinie i envoplakinie. Te ostatnie w odróżnieniu od przeciwciał w pęcherzycy zwykłej i liściastej reagują z substancją międzykomórkową nabłonków przejściowych. Najlepszym testem na ich wykrycie jest reakcja z nabłonkiem pęcherza moczowego świnki morskiej i/lub małpy. Badając surowice chorych z PNP stwierdza się dodatkowo w większości przypadków występowanie przeciwciał przeciwcytoplazmatycznych skierowanych przeciw cytotkeratynom komórek nabłonka. Przeciwciała te dają charakterystyczną homogenną fluorescencję komórek nabłonka przełyku oraz świecenie cytoszkieletu w cytoplazmie ludzkich komórek nabłonkowych HEP-2.

Wszystkie wymienione przeciwciała *pemphigus* występują w klasie IgG. W rzadkich przypadkach *pemphigus* przeciwciała występują w klasie IgA i skierowane są przeciw desmogleinie 1. Wykrywalność przeciwciał *pemphigus* w aktywnym okresie choroby wynosi ponad 98%.

Badania tkankowe – METODA DIF

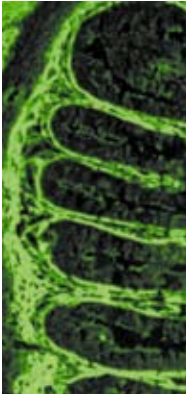
W wycinkach skórnych pobranych ze skóry niezmięnionej z najbliższego otoczenia zmiany we wszystkich typach pęcherzycy obserwujemy fluorescencję substancji międzykomórkowej, która jest wynikiem wiązania się *in vivo* przeciwciał *pemphigus* z białkami desmosomalnymi na powierzchni keratynocytów. Typ fluorescencji w przestrzeniach międzykomórkowych skóry niezmięnionej obserwowany w PV i PF jest podobny. Jeśli wycinek obejmuje również zmianę skórną, to w PV obserwuje się pęcherz śródskórnokowy z obfitą akantolizą i świecącymi obwodowo komórkami akantolitycznymi. W PF tworzenie się pęcherza i zjawisko akantolizy występuje częściej w wyższych partiach naskórka. Wynik DIF jest pozytywny u około 100% pacjentów w aktywnym okresie choroby, o ile wycinek skóry lub błony śluzowej został właściwie pobrany (z najbliższego otoczenia pęcherza lub nadżerki).

Podnaskórkowe choroby pęcherzowe

Bullous pemphigoid (PB), *epidermolysis bullosa aquasita* (EBA), *cicatricial pemphigoid* (CP), *linear IgA bullous dermatosis* (LABD), *dermatitis herpetiformis*

Metoda IIF

W wymienionych powyżej jednostkach chorobowych przeciwciała klasy IgG w surowicy skierowane są przeciw antygenom błony podstawnej (BMZ), w BP i CP przeciw hemidesmosomom i *lamina lucida*, w EBA przeciw typowi VII kolagenu. Wyniki dodatnie stwierdza się w około 75% przypadków BP i 50% EBA. Typ fluorescencji – linijne świecenie błony podstawnej nabłonka przełyku nie pozwala na różnicowanie BP i EBA. Pomocna w ich różnicowaniu jest IIF skóry zdrowej inkubowanej w roztworze NaCl celem wytworzenia sztucznego pęcherza podnaskórkowego (metoda splitu). Fluorescencja błony podstawnej w pokrywie pęcherza jest charakterystyczna dla BP, a fluorescencja ograniczona wyłącznie do dna pęcherza jest typowa dla EBA. Przeciwciała klasy IgA przeciw antygenom błony podstawnej są charakterystyczne dla LABD. Spotyka się je



w 30-50% przypadków. W *dermatitis herpetiformis* w ok. 70% przypadków wykrywa się przeciwciała klasy IgA przeciw endomysium (EmA IgA). Przeciwciała te są także markerem glutenozałej enteropatii (CD) i występują u około 100% przypadków CD po prowokacji glutenem.

Metoda bezpośrednia DIF

Wykrycie w tej metodzie złogów immunoglobulin w błonie podstawnej (BMZ) jest charakterystyczne dla podnaskórkowych chorób pęcherzowych skóry. Złogi przeciwciał IgG i składowej C3 dopełniacza stwierdza się w BP, CP i EBA. Złogi najczęściej mają charakter liniowy. W BP intensywność fluorescencji złogów przeciwciał IgG jest często słabsza niż składowej C3 dopełniacza, w EBA na ogół złogi przeciwciał IgG świecą mocniej niż składowa C3. Obecność w BMZ innych immunoreaktantów takich jak przeciwciała IgA i IgM jest bardziej charakterystyczna dla EBA. Istotnym badaniem w chorobie Dühringa pozostaje też wykrycie ziarnistych złogów przeciwciał IgA w brodawkach skóry.

PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W GLUTENOZALEŻNEJ ENTEROPATII

Przeciwciała przeciw endomysium w klasie IgG (EmA IgG) oraz w klasie IgA (EmA IgA)

Podstawowym markerem glutenozałej enteropatii są przeciwciała przeciw endomysium mięśni gładkich przewodu pokarmowego (EmA). Antygenem dla tych przeciwciał jest enzym - transglutaminaza tkankowa (tTG). Występują one najczęściej w klasie IgA, a w klasie IgG zazwyczaj tylko przy niedoborach immunoglobuliny A.

EmA IgA wykrywa się również w chorobie Dühringa (w ok. 70% przypadków), natomiast w celiakii występują w około 100% przypadków u chorych po prowokacji glutenem. Przeciwciała te są najbardziej swoiste z opisanych dotychczas przeciwciał (przeciw retikulinie, przeciw gliadynie) i są one indukowane przez gluten (zanikają pod wpływem diety bezglutenowej i pojawiają się ponownie po podaniu glutenu).

Wykrywanie EmA IgA stanowi jedno z najważniejszych, międzynarodowych kryteriów diagnostycznych glutenozałej enteropatii zarówno w *dermatitis herpetiformis* jak i chorobie trzewnej.

Badania porównawcze wykonywane w naszym Laboratorium metodami IIF i ELISA (gdzie antygenem jest oczyszczona transglutaminaza tkankowa tTG) wykazały zbieżność zdecydowanej większości wyników otrzymanych przy użyciu obu metod, przy czym metoda IIF okazała się bardziej czuła.

Przeciwciała przeciw gliadynie w klasie IgG (AGA IgG) oraz z klasie IgA (AGA IgA)

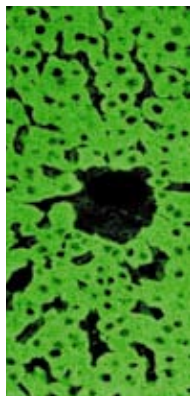
Przeciwciała przeciw gliadynie, występują u chorych z objawami enteropatii glutenozałej (celiakia) i w chorobie Dühringa. Prawie zawsze występują w klasie IgA, rzadko w klasie IgG i wówczas mogą występować też u osób zdrowych (mniejsza swoistość). Zmiana ich poziomu koreluje z aktywnością schorzenia, a ich badanie jest przydatne do kontroli diety bezglutenowej. Przeciwciała przeciw gliadynie w aktywnych schorzeniach zazwyczaj współwystępują z przeciwciałami przeciw endomysium. Przeciwciała przeciw gliadynie wykrywane są metodą immunofluorescencji pośredniej z substratem oczyszczonej gliadyny lub na przełyku małpy. Gliadyna (należąca do prolamin - rozpuszczalna w alkoholu frakcja glutenu pszenicy) wiąże się z substancją międzykomórkową nabłonka dając obraz fluorescencyjny typu *pemphigus*.

Przeciwciała przeciw retikulinie w klasie IgG (ARA IgG) oraz w klasie IgA (ARA IgA)

Bardzo ważną rolę w diagnostyce glutenozałej enteropatii stanowi wykrywanie przeciwciał przeciw retikulinie (ARA), zwłaszcza w klasie IgA (ARA IgA). Przeciwciała ARA są skierowane przeciw innym epitopom peptydowym (92,5kD) niż EmA IgA (82kD). Są one wykrywane w naszym Laboratorium metodą immunofluorescencji pośredniej przy użyciu (jednoczesnym) nerki i wątroby szczura jako substratów antygenowych.

Przeciwciała przeciw transglutaminazie tkankowej w klasie IgG (anty-tTG IgG) oraz w klasie IgA (anty-tTG IgA)

Transglutaminaza tkankowa stanowi docelowy antygen dla przeciwciał przeciw endomysium mięśni gładkich przewodu pokarmowego (EmA). Metody wykorzystywane do ilościowej analizy anty-tTG IgA (immunochemiluminescencja) i anty-tTG IgG (ELISA), charakteryzują się swoistością i czułością w zakresie 90-100%. Anty-tTG uznawane są za wysoce specyficzny marker celiakii, ponieważ nie występują u osób zdrowych, a także u chorych z innymi schorzeniami przewodu pokarmowego. Ze względu na możliwość współwystępowania niedoboru IgA z celiakią, zaleca się jednocześnie oznaczanie anty-tTG IgA oraz anty-tTG IgG.



PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W AUTOIMMUNOLOGICZNYCH CHOROBYCH WĄTROBY

W zależności od typu występowania autoprzeciwciał można wyróżnić trzy typy przewlekłego autoimmunologicznego zapalenia wątroby:

- I. Z obecnością przeciwciał przeciwjądrowych (ANA) i przeciwciał przeciw mięśniom gładkim (ASMA).
- II. Z przeciwciałami przeciw mikrosomom wątroby i nerki (anty-LKM).
- III. Z przeciwciałami przeciw rozpuszczalnemu antygenowi wątrobowemu i wątrobowo-trzustkowemu (anty-SLA/LP).

Innym markerem AIH II są przeciwciała przeciw antygenowi cytoplazmatycznemu wątroby typu 1 (anty-LC-1).

Pierwotna żółciowa marskość wątroby (PBC - Primary Biliary Cirrhosis) jest inną ciężką chorobą autoimmunologiczną wątroby. Występuje ona około 10 razy częściej u kobiet niż u mężczyzn. Postępująca destrukcja małych i średnich kanalików żółciowych z włóknieniem doprowadza do całkowitej marskości wątroby i często nawet do śmierci. Najbardziej specyficznymi markerami tego schorzenia są przeciwciała przeciwmitochondrialne typu M2. Dodatkowo w tej chorobie można stwierdzić obecność przeciwciał przeciwjądrowych o typie świecenia „nuclear dots” (NSp-1, Sp100). Ich fluorescencja, zwłaszcza na komórkach HEp-2, przypomina fluorescencję ACA. W różnicowaniu pomocne są jednak komórki mitotyczne HEp-2, które w przypadku NSp-1 są w obrębie chromatyny ujemne, podczas gdy ACA dają charakterystyczne świecenie chromosomów w różnych fazach podziału. Przeciwciała NSp-1 w PBC na ogół towarzyszą AMA.

Ponadto w 75% przypadków w tej chorobie można stwierdzić przeciwciała przeciw kanalikom żółciowym.

Przeciwciała przeciwmitochondrialne (AMA)

Przeciwciała przeciwmitochondrialne wykrywa się najczęściej metodą immunofluorescencji pośredniej z użyciem jako substratu antygenów nerki szczura i komórek HEp-2. Antygenem są liczne substancje biochemiczne występujące zarówno po wewnętrznej jak i po zewnętrznej stronie błony mitochondriów. Występują one w pierwotnej żółciowej marskości wątroby (PBC), ale także w toczniu trzewnym, zapaleniu mięśnia sercowego, kile, zespole antyfosfolipidowym i twardzinie układowej.

Przeciwciała przeciwmitochondrialne (AMA) typu M2

Specyficznym i czułym markerem pierwotnej żółciowej marskości wątroby są przeciwciała przeciwmitochondrialne przeciw zespołowi antygenów określanym jako M2. Jest on zespołem trzech spokrewnionych kompleksów multienzymatycznych wewnętrznej błony mitochondrium, który uczestniczy w łańcuchu oksydacyjnej dekarboksylacji pirogronianu, α -ketoglutaranu i α -ketokwasów. Przeciwciała mitochondrialne typu M2 są wykrywane w 96% u chorych z PBC. Przeciwciała przeciwmitochondrialne z różnicowaniem w kierunku typu M2 można diagnozować metodą immunofluorescencji pośredniej przy użyciu kombinacji substratów złożonych z nerki szczura i powierzchni opłaszczonych antygenami M2. Można też do różnicowania różnych podtypów przeciwciał przeciwmitochondrialnych zastosować metody immunoblotu.

Przeciwciała przeciw kanalikom żółciowym

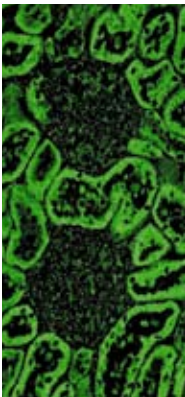
Stwierdzane są w 75% przypadków pierwotnej żółciowej marskości wątroby.

Przeciwciała przeciw mięśniom gładkim (ASMA)

Standardowe badania wykonuje się metodą immunofluorescencji pośredniej z użyciem jako substratów tkanek szczura (żołądka, przełyku i jelit). W autoimmunologicznym zapaleniu wątroby najważniejszym antygenem docelowym jest aktyna F. Przeciwciała przeciw aktynie można wykryć metodą immunofluorescencji pośredniej z użyciem jako substratów komórek HEp-2 i wątroby. Wysokie miana przeciwciał przeciw mięśniom gładkim sugerują autoimmunologiczne zapalenie wątroby typu I, a zmiana ich mian może korelować z aktywnością choroby. Przeciwciała przeciw mięśniom gładkim można też wykryć w mononukleozie zakaźnej, infekcjach wirusowych, w marskości poalkoholowej, raku sutka i jajnika oraz w czerniaku złośliwym.

Przeciwciała przeciw mikrosomom wątroby i nerki (anty-LKM)

Przeciwciała te są markerem autoimmunologicznego zapalenia wątroby typu II. Antygenem dla tych przeciwciał jest cytochrom P450 IID6 zlokalizowany w mikrosomach. W technice immunofluorescencji pośredniej z użyciem jako substratów nerki i wątroby szczura dają charakterystyczną fluorescencję na obu substratach.



Przeciwciała przeciw rozpuszczalnemu antygenowi wątrobowemu i wątrobowo- trzustkowemu (anty-SLA/LP)

Uważane są za najbardziej specyficzne przeciwciała dla diagnostyki autoimmunologicznego zapalenia wątroby. Każdy wynik dodatni, o ile występują odpowiednie objawy kliniczne, potwierdza rozpoznanie autoimmunologicznego zapalenia wątroby. W podziale zapaleń wątroby związane są z III typem tej choroby.

PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W ZESPOLE ANTYFOSFOLIPIDOWYM (APS)

Badania przeciwciał antyfosfolipidowo-białkowych

Badanie przeciwciał antyfosfolipidowo-białkowych jest wykorzystywane w diagnostyce zespołu antyfosfolipidowego, którego charakterystycznymi objawami są zakrzepica (żylna, tętnicza, drobnych naczyń) oraz niepowodzenia położnicze u kobiet. Mogą im towarzyszyć także małopłytkowość, zmiany skórne o typie *livedo reticularis* czy zmiany na zastawkach serca. Wykonanie badania wskazane jest także w przypadku rozpoznanej kolagenozy, fałszywie dodatnich wyników VDRL oraz przy niejasnych przedłużeniach aPTT (czas kaolinowo-kefalinowy).

Rozpoznanie APS można postawić, jeżeli stwierdzono co najmniej jedno kryterium kliniczne i jedno kryterium laboratoryjne, o ile nie dzieli je więcej niż 5 lat. Wyniki dodatnie badań laboratoryjnych muszą być potwierdzone w odstępie co najmniej 12 tygodni. W diagnostyce APS, w pierwszej kolejności należy wykonać oznaczenia obecności przeciwciał antykardiolipinowych w klasach IgM i IgG i antykoagulantu toczniowego. Zgodnie z najnowszą definicją zespołu antyfosfolipidowego (kryteria Sydney) w przypadku wyników ujemnych powinno się dodatkowo oznaczyć przeciwciała przeciw β_2 -glikoproteinie I, by ostatecznie wykluczyć zespół antyfosfolipidowy. W sytuacjach niejednoznacznych, które wymagają dalszej diagnostyki, można dodatkowo oznaczyć przeciwciała przeciw: protrombinie, fosfatydyloserynie i fosfatydyloinozitolowi.

Antykoagulant toczniowy (Lupus anticoagulant, LA)

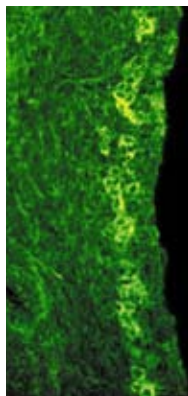
Antykoagulant toczniowy to heterogenna grupa przeciwciał antyfosfolipidowo-białkowych, które *in vitro* przedłużają czasy krzepnięcia osocza zależne od fosfolipidów. Procedura oznaczania LA jest trójstopniowa. W pierwszym etapie obserwuje się przedłużenie czasów krzepnięcia, takich jak wrażliwe na LA aPTT (activated Partial Thrombin Time) lub dRVVT (dilute Russel Viper Venom Time). W drugim etapie prowadzi się testy mieszania osocza badanego i kontrolnego. Korekcja przedłużonego czasu krzepnięcia świadczy o niedoborze czynników krzepnięcia, a brak korelacji o obecności antykoagulantu. W trzecim etapie wykonuje się testy potwierdzające. Polegają one na skróceniu czasów krzepnięcia po dodaniu nadmiaru fosfolipidów. Wielu badaczy uważa, że LA najlepiej koreluje z ryzykiem powikłań zatorowo-zakrzepowych wśród wszystkich rodzajów przeciwciał antyfosfolipidowych. Każdy dodatni wynik antykoagulantu toczniowego oznaczonego dwukrotnie w odstępie nie krótszym niż 12 tygodni, daje podstawy do rozpoznania zespołu antyfosfolipidowego (przy współistnieniu objawów klinicznych). Należy pamiętać, że dla diagnostyki antykoagulantu toczniowego bardzo ważna jest faza przedlaboratoryjna, w tym właściwe pobieranie materiału oraz wirowanie próbki.

Przeciwciała antykardiolipinowe w klasie IgG i IgM

Przeciwciała te są najczęściej wykonywanymi oznaczeniami w diagnostyce zespołu antyfosfolipidowego. Należy jednak pamiętać, że wykluczenie APS wymaga wykonania oznaczeń LA i przeciwciał przeciw β_2 -glikoproteinie I. Każde badanie przeciwciał antykardiolipinowych z wynikiem dodatnim należy powtórzyć po 12 tygodniach – dopiero dwa wyniki dodatnie uzyskane w odstępie co najmniej 12-tu tygodni dają podstawę do rozpoznania zespołu antyfosfolipidowego. Duże ryzyko powikłań związane jest z występowaniem przeciwciał antykardiolipinowych w średnich lub wysokich mianach. Wyniki nisko dodatnie traktuje się natomiast jako wątpliwe i niedające podstaw do rozpoznania choroby (stanowią one jedynie przesłankę do dalszej obserwacji i ewentualnego powtarzania badania).

Przeciwciała przeciw β_2 -glikoproteinie I w klasie IgG i IgM (anty β_2 -GPI)

Prawdopodobnie β_2 -glikoproteina I jest właściwym epitopem dla przeciwciał antyfosfolipidowo-białkowych. Uważa się, że test ten jest bardziej specyficzny, ale mniej czuły w odniesieniu do obecności objawów zespołu antyfosfolipidowego od testu na obecność przeciwciał antykardiolipinowych, natomiast ich korelacja z objawami choroby jest bardzo podobna. Wydaje się, że najważniejszym wskazaniem do oznaczenia tych przeciwciał jest mocne podejrzenie zespołu antyfosfolipidowego przy ujemnych wynikach przeciwciał antykardiolipinowych w klasach IgG i IgM oraz antykoagulantu toczniowego.



Przeciwciała przeciw protrombinie w klasie IgG i IgM

Protrombina wydaje się być drugim najważniejszym kofaktorem przeciwciał antyfosfolipidowych. Przeciwciała przeciw protrombinie są w niektórych przypadkach związane ze zjawiskiem antykoagulantu toczniowego. Ich korelacja z objawami klinicznymi zespołu antyfosfolipidowego jest słabsza niż poprzednich dwóch grup przeciwciał.

Przeciwciała przeciw fosfatydyloserynie w klasie IgG i IgM

Fosfatydyloseryna wydaje się być znacznie bardziej fizjologicznym kofaktorem β_2 -glikoproteiny I czy protrombiny niż kardiolipina, gdyż występuje ona na powierzchni aktywowanych błon komórkowych płytek krwi i śródbłonna. W praktyce przeciwciała przeciw fosfatydyloserynie oraz przeciwciała antykardiolipinowe często współistnieją ze sobą.

Przeciwciała przeciw fosfatydyloinozytolowi w klasie IgG i IgM

Obecność przeciwciał przeciw fosfatydyloinozytolowi najczęściej współistnieje także z obecnością innych przeciwciał antyfosfolipidowych. W badaniach wykonywanych w pracowni DIAGNOSTYKI ich obecność szczególnie wiązała się z tendencją do występowania poronień u kobiet.

PRZECIWCIAŁA ZWIĄZANE Z AUTOIMMUNOLOGICZNYMI PRZYCZYNAMI NIEPŁODNOŚCI

Przeciwciała przeciw plemnikom w surowicy

Badanie wykonywane jest techniką immunofluorescencji pośredniej z użyciem ludzkich plemników. Przeciwciała przeciwplemnikowe mogą wiązać się z różnymi częściami morfologicznym plemnika i w zależności od tego mieć różne znaczenie kliniczne. Przeciwciała, które mają miejsce wiązania na główce plemnika (zwłaszcza w okolicy akrosomu) utrudniają reakcję plemnika z komórką jajową. Wędrowkę plemnika mogą zaburzać przeciwciała wiążące się z jego wiotką. Badanie na obecność przeciwciał przeciwplemnikowych winno więc określać miejsce ich wiązania. Tylko w bardzo dużych mianach przeciwciała przeciwplemnikowe hamują płodność całkowicie, a w niskich nie mają znaczenia lub jedynie zmniejszają płodność. Przeciwciała przeciwplemnikowe można badać zarówno u kobiet jak i u mężczyzn.

Przeciwciała przeciwplemnikowe w nasieniu

Pomimo, że większość stosowanych technik wykorzystuje dla celów przesiewowych surowicę, faktyczne intensywne wytworzenie przeciwciał przeciwplemnikowych występuje w samej plazmie nasienia. Przeciwciała przeciwplemnikowe opłaszczają plemniki prowadząc do zmniejszenia ich zdolności do zapłodnienia. Obecność przeciwciał przeciwplemnikowych w nasieniu może być przyczyną zmniejszenia płodności lub całkowitego jej zahamowania.

Przeciwciała przeciw antygenom jajnika

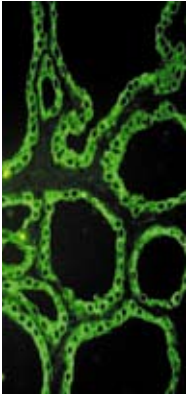
Przeciwciała przeciw tkankom jajnika wiążą się z niepłodnością oraz z zespołem przedwczesnego wygaszania czynności jajników (POF - Premature Ovarian Failure). Przeciwciała przeciw antygenom osłonki przezroczystej (*zona pellucida*) odgrywają rolę w niepłodności.

Przeciwciała przeciw komórkom Leydiga jąder

Przeciwciała te mogą być jedną z przyczyn niepłodności męskiej.

Przeciwciała przeciw antygenom łożyska

Przeciwciała te mają znaczenie dla diagnostyki wczesnych poronień i niepłodności żeńskiej.



PRZECIWCIAŁA ZWIĄZANE Z CHOROBIAMI AUTOIMMUNOLOGICZNYMI TARCZYCY

Przeciwciała przeciw peroksydazie tarczycowej (anty-TPO)

Przeciwciała antyperoksydazowe nazywane były dawniej przeciwciałami antymikrosomalnymi, gdyż stwierdzano je na powierzchni mikrosomów komórki tarczycy. Są to autoprzeciwciała, głównie klasy IgG, rozpoznające różne epitopy na cząsteczce peroksydazy tarczycowej - tkankowo specyficznej glikoproteinie stanowiącej podstawowy enzym w syntezie hormonów tarczycy. Związanie przeciwciała z epitopem w centrum aktywnym enzymu prowadzi do inhibicji aktywności enzymatycznej peroksydazy. Uszkodzenia tarczycy przez przeciwciała anty-TPO wiąże się z aktywacją dopełniacza. Anty-TPO wykrywane są u 80-99% chorych na chorobę Hashimoto i w 60-70% przypadków choroby Gravesa-Basedowa. Przeciwciała te oznaczane są zautomatyzowaną metodą chemiluminescencyjną.

Przeciwciała przeciw tyreoglobulinie (anty-TG)

Przeciwciała przeciw tyreoglobulinie są autoprzeciwciałami głównie klasy IgG, niewiązącymi dopełniacza i rozpoznającymi różne epitopy na powierzchni cząsteczki tyreoglobuliny. Uszkadzają tkankę na drodze zależnej od przeciwciał cytotoksyczności komórkowej. Anty-TG wykrywane są u 35-90% chorych na chorobę Hashimoto i do 50% przypadków choroby Gravesa-Basedowa. Oznaczanie poziomu przeciwciał anty-TG znajduje zastosowanie również w monitorowaniu chorób nowotworowych tarczycy. Przeciwciała te oznaczane są zautomatyzowaną metodą chemiluminescencyjną.

Przeciwciała przeciw receptorom TSH (TRAb)

Przeciwciała przeciw receptorom TSH doprowadzają do stymulacji tarczycy analogicznie jak po związaniu TSH (wzrost syntezy hormonów tarczycy i rozrost tarczycy). TRAb występują w 70-100% przypadków choroby Gravesa-Basedowa i rzadko w autoimmunologicznym zapaleniu tarczycy (choroba Hashimoto).

Oznaczanie poziomu TRAb znajduje zastosowanie w diagnostyce nadczynności tarczycy, monitorowaniu i prognozowaniu leczenia choroby Gravesa-Basedowa oraz przewidywaniu nadczynności tarczycy u dzieci kobiet ciężarnych obciążonych chorobą Gravesa-Basedowa. Ilościowe oznaczenia TRAb wykonuje się metodą ELISA.

PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W DIAGNOSTYCE REUMATOIDALNEGO ZAPALENIA STAWÓW

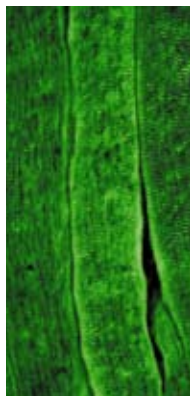
Przeciwciała przeciw cyklicznemu białku bogatemu w cytrulinę (anty-CCP)

Przeciwciała przeciw CCP należą przeważnie do klasy IgG. Są to przeciwciała skierowane przeciw cytrulinie (aminokwas) będącej składnikiem białka fillagryny (składnik filamentów keratynowych). Test charakteryzują się wysoką specyficznością dla RZS (do 97%, vs. RF 62%) przy zachowaniu porównywalnej z czynnikiem reumatoidalnym (RF) czułości (anty-CCP: 80%, RF: 79%). W odróżnieniu od czynnika RF przeciwciała anty-CCP pojawiają się przed wystąpieniem pełnoobjawowego RZS. Występują one we wczesnej fazie choroby i cechuje je duża wartość prognostyczna: pacjenci z przeciwciałami anty-CCP prezentują znacznie częściej zmiany radiologiczne, niż pacjenci anty-CCP negatywni. Przeciwciała te występują we wczesnym okresie choroby u ok. 79% pacjentów. Ze względu na swoją wysoką specyficzność, anty-CCP mogą być pomocne w różnicowaniu RZS z innymi zapaleniami stawów przebiegającymi z dodatnimi czynnikami reumatoidalnymi. Anty-CCP pozwalają także na potwierdzenie diagnozy u pacjentów z seronegatywnym RZS. Anty-CCP wykonuje się za pomocą metody ELISA i jest to badanie ilościowe.

PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W DIAGNOSTYCE MIASTENII

Przeciwciała przeciw receptorom acetylocholin (anty-AChR)

W laboratorium DIAGNOSTYKI obecność autoprzeciwciał AChR wykrywa się za pomocą metody radioimmunoenzymatycznej (RIA). Antygenem w tym teście jest receptor acetylocholinowy wyodrębniony z ludzkiego mięśnia. Receptory znakuje się ¹²⁵I α-bungarotoksyną (toksyna jadu żmiji). Autoprzeciwciała obecne w surowicy pacjenta wiążą się z tak wyznakowanymi receptorami, a powstały kompleks ulega precypitacji z przeciwciałami przeciw ludzkim IgG. Odczytana ilość radioaktywności jest wprost proporcjonalna do stężenia autoprzeciwciał AChR w badanej próbce. Badanie to wykonuje się w celu potwierdzenia miastenu (*myasthenia gravis*) jest chorobą o podłożu autoimmunologicznym.



W schorzeniu tym, dochodzi do uszkodzenia przewodnictwa nerwowo-mięśniowego spowodowanego zniszczeniem receptorów cholinergicznym (AChR) przez autoprzeciwciała skierowane przeciw tym receptorom. Podstawową cechą choroby jest osłabienie i zmęczenie mięśni po wysiłku ustępujące po odpoczynku. Przeciwciała antycholinergiczne wykrywa się u 80-90% pacjentów z postacią uogólnioną miastonii i u 55-70% pacjentów z miastenią oczną. Poziom przeciwciał koreluje z nasileniem objawów choroby z wyjątkiem miastonii ocznej i w okresie remisji. Istnieje też grupa chorych, u których nie stwierdza się przeciwciał anti-AChR. Negatywne wyniki na obecność przeciwciał przeciw receptorom acetylocholino (seronegatywna postać miastonii) najczęściej występują w grupie chorych z miastenią oczną (11-76% pacjentów). Niski (niewykrywalny) poziom opisywanych autoprzeciwciał występuje również na początku choroby, w remisji po leczeniu immunosupresyjnym oraz po tymektomii. Przeciwciała przeciw receptorom acetylocholino wykrywa się także w przebiegu takich chorób jak: SLE, choroba Gravesa-Basedowa, grasiczak, w stwardnieniu zanikowym bocznym.

Przeciwciała przeciw mięśniom poprzecznie prążkowanym

Badanie metodą immunofluorescencji pośredniej z użyciem mięśni poprzecznie prążkowanych pozwala wykryć autoprzeciwciała u 90% chorych na miastenię z towarzyszącym grasiczakiem (bez grasiczaka u 20%). Wykrywano je też w przewlekłych zapaleniach wątroby, grasiczakach bez miastonii i rakowiaku.

PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W DIAGNOSTYCE CUKRZYCY TYPU 1

Cukrzyca typu 1 (DMT1 - *Diabetes mellitus* type 1) jest chorobą autoimmunologiczną, w której na skutek zniszczenia komórek β trzustki dochodzi do niedoboru lub całkowitego braku wydzielania insuliny. W przypadku DMT1 praktycznie cały proces chorobowy prowadzący do destrukcji komórek β trzustki przebiega bezobjawowo (okres *prediabetes*). Dopiero, gdy ok. 80% tych komórek ulegnie zniszczeniu pojawiają się typowe zespoły objawów zwiastujących kliniczny początek choroby. Wcześniejsza diagnostyka cukrzycy typu 1 jest możliwa dzięki oznaczeniom obecności autoprzeciwciał, w tym przeciwciał przeciw dekarboksylazie kwasu glutaminowego (anty-GAD) i przeciwciał przeciw fosfatazie tyrozynowej (anty-IA2). U 90% pacjentów w chwili rozpoznania choroby i u 80% pacjentów w fazie preklinicznej wykrywane są przeciwciała przeciwko wyspom trzustki (IIF). Ryzyko wystąpienia choroby rośnie wraz z liczbą wykrywanych jednocześnie rodzajów specyficznych autoprzeciwciał i zależy od ich stężenia w surowicy. Anty-GAD i anty-IA2 wykorzystuje się w diagnostyce różnicowej cukrzycy ciężarnych (ujawniona lub wykryta w czasie ciąży nietolerancja glukozy) oraz ocenie ryzyka rozwoju cukrzycy u krewnych osób z rozpoznaną cukrzycą typu 1. Oznaczenie autoprzeciwciał zwłaszcza anty-GAD, może być także rozstrzygające dla diagnostyki różnicowej cukrzycy typu 2 z LADA (Latent Autoimmune Diabetes In Adults), będącej wolno postępującą formą cukrzycy typu 1. W laboratorium DIAGNOSTYKI do oznaczeń przeciwciał anty-GAD i anty-IA2 w diagnostyce cukrzycy stosuje się metodę ELISA, która pod względem specyficzności i czułości jest porównywalna z testami RIA, uznawanymi za „złoty standard”. Jednoczesne oznaczanie dwóch typów wymienionych autoprzeciwciał zwiększa czułość i swoistość metody.

Anty-GAD

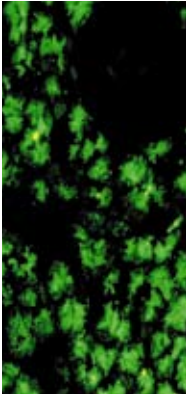
Anty-GAD jest enzymem katalizującym syntezę neurotransmitera GABA (kwas gamma-amino-masłowy) i występuje w tkance nerwowej, trzustce, jajnikach i jądrach. Anty-GAD są przeciwciałami skierowanymi przeciw jednej z izoform dekarboksylazy kwasu glutaminowego (GAD_{65}). Izoforma GAD_{65} , obecna przede wszystkim w trzustce, stanowi główny antygen docelowy dla przeciwciał skierowanych przeciw wyspom Langerhansa. Częstość występowania anty-GAD u nowozdiagnozowanych pacjentów wynosi 60-80%.

Anty-IA2

Przeciwciała przeciw fosfatazie tyrozynowej (anty-IA2) występują u 48-80% zdiagnozowanych chorych. Ponieważ pojawiają się w późnej fazie okresu preklinicznego, stanowią tym samym wskaźnik bardzo wysokiego ryzyka.

Przeciwciała przeciw wyspom trzustki

Metodą immunofluorescencji pośredniej przeciwciała przeciw wyspom trzustki najczęściej w klasie IgG, można wykryć u 75-90% chorych z cukrzycą typu 1, ale występują one także w cukrzycy typu 2 w około 10% przypadków.



INNE PRZECIWCIAŁA NARZĄDOWO-SWOISTE

Przeciwciała przeciw komórkom okładzinowym żołądka (APCA)

Do wykrywania tego typu przeciwciał służy najczęściej test immunofluorescencji pośredniej z użyciem komórek okładzinowych żołądka szczura lub małpy jako źródła antygenów (H/K ATPazy). Rzadziej wykonywane są testy ELISA. Wskazaniami do wykonania badania są przede wszystkim przewlekłe zanikowe zapalenie błony śluzowej żołądka, anemia złośliwa, a także choroba Addisona czy bielactwo.

Przeciwciała przeciw czynnikowi wewnętrznemu Castle'a

Autoprzeciwciała te są bardziej swoiste od przeciwciał przeciw komórkom okładzinowym żołądka dla anemii złośliwej spowodowanej niedoborem czynnika wewnętrznego (IF - intrinsic factor), transportera witaminy B₁₂. Badania na ich wykrycie wykonuje się testem ELISA lub metodą immunofluorescencji pośredniej z użyciem czynnika wewnętrznego opłaszczanego na szkiełku.

Przeciwciała przeciw błonie podstawnej kłębuszków nerkowych (anty-GBM) i błonie pęcherzyków płucnych

Autoprzeciwciała te są wykrywane w zespole Goodpasture'a. Uważa się, że antygenem dla nich są epitopy znajdujące się na kolagenie typu IV. Obecnie za najlepszą metodę diagnostyczną dla wykrywania tego typu przeciwciał uważa się test ELISA, ponieważ w tym przypadku metoda immunofluorescencji pośredniej jest mniej czuła.

Przeciwciała przeciw mięśniowi sercowemu

Metoda immunofluorescencji pośredniej najlepiej wykrywa autoprzeciwciała, dla których antygenami są fibrylaryna i białka sarkolemy. Występują one w pierwotnej rozstrzeniowej kardiomiopatii, zapaleniach mięśnia sercowego, zespole Dresslera, chorobie Chagasa i reumatycznym zapaleniu mięśnia sercowego.

Przeciwciała przeciw komórkom kubkowatym jelit

Metodą immunofluorescencji pośredniej można wykryć przeciwciała przeciw komórkom kubkowatym jelita występującym prawie zawsze w klasie IgG, które są specyficzne dla *colitis ulcerosa*, ale występują tylko w około 30% przypadków. Należy pamiętać, że znacznie częściej, bo w około 70% przypadków w tej chorobie można wykryć przeciwciała pANCA, które są jednak mniej specyficzne.

Przeciwciała przeciw komórkom zewnątrzwydzielniczym trzustki

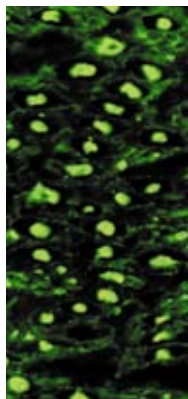
Wykrywa się je metodą immunofluorescencji pośredniej przy użyciu tkanek trzustki małpy. Przeciwciała te należą zarówno do klasy IgG jak i IgA i są markerem choroby Leśniowskiego-Crohna. Występują u około 40% chorych. Także w tej chorobie można wykryć przeciwciała pANCA u około 40% pacjentów.

Przeciwciała przeciw *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA)

Oznaczanie przeciwciał przeciw *Saccharomyces cerevisiae* jest pomocne przy różnicowaniu typowego *colitis ulcerosa* oraz choroby Leśniowskiego-Crohna. ASCA stwierdza się w 70% przypadkach choroby Leśniowskiego-Crohna i wraz z oznaczaniem przeciwciał przeciw komórkom zewnątrzwydzielniczym trzustki zwiększa trafność diagnostyczną w diagnostyce różnicowej zapalenia jelit.

Przeciwciała przeciw korze nadnerczy

Metodą immunofluorescencji pośredniej można wykryć przeciwciała przeciw korze nadnerczy u pacjentów z chorobą Addisona, z niewydolnością jajników lub w zespole wielogruzołowym typu I.



PRZECIWCIAŁA WYKRYWANE W ZESPOŁACH NEUROLOGICZNYCH

Panel neuroimmunologiczny

Panel neuroimmunologiczny obejmuje jakościowe oznaczenia przeciwciał występujących u chorych z zespołami neurologicznymi o podłożu autoimmunologicznym. Przeciwciała onkoneuronalne (anty-Ri, anty-Hu, anty-Yo) są przydatne w diagnostyce neurologicznych zespołów paranowotworowych, a przeciwciała anty-GAD u chorych z zespołem sztywnego człowieka (Stiff-Man Syndrome). Panel obejmuje również oznaczenie przeciwciał anty-MAG, które wykorzystywane są w diagnostyce neuropatii o podłożu autoimmunologicznym oraz przeciwciała przeciw mielinie mające znaczenie rokownicze u chorych z pierwszym epizodem objawów związanych z demielinizacją.

Przeciwciała onkoneuronalne (anty-Ri, anty-Hu, anty-Yo)

Przeciwciała onkoneuronalne występują u chorych z neurologicznymi zespołami paranowotworowymi. Są to zaburzenia układu nerwowego pojawiające się u chorych z nowotworem, a nie spowodowane przerzutami lub miejscowym działaniem guza. W obrębie ośrodkowego układu nerwowego obejmują one najczęściej zapalenie układu limbicznego, podostre zwyrodnienie mózdzku, zapalenie pnia mózgu, opsoklonie/mioklonie, podostrą martwiczą mielopatię, chorobę neuronu ruchowego i zespół sztywnego człowieka. Natomiast w obwodowym układzie nerwowym, na poziomie złącza nerwowo-mięśniowego i mięśni szkieletowych zespoły paranowotworowe przyjmują postać podostrej neuropatii czuciowej, neuropatii czuciowo-ruchowej, podostrej neuropatii ruchowej, zespołu miastenicznego Lamberta-Eatona, zapalenia wielomięśniowego i skórno-mięśniowego. Wykrycie przeciwciał onkoneuronalnych pozwala na pewne rozpoznanie neurologicznego zespołu paranowotworowego według kryteriów Graussa (2004 r.). Badania obecności przeciwciał anty-Hu, anty-Yo i anty-Ri przeprowadza się metodą immunofluorescencji pośredniej, a następnie potwierdza się techniką Western-blot. Przeciwciała anty-Hu występują u chorych z rakiem drobnokomórkowym płuc, piersi, jajnika, przełyku, jąder, prostaty, czerniakiem, grasiczakiem i ziarnicą złośliwą. U 81% chorych z przeciwciałami anty-Hu stwierdza się obecność raka drobnokomórkowego płuc, natomiast 17% chorych z tym nowotworem ma przeciwciała anty-Hu. Przeciwciała anty-Ri stwierdza się u chorych z rakiem piersi i rakiem płuc (drobnokomórkowym i innymi nowotworami płuc). U 86% osób, u których wykryto przeciwciała anty-Ri jest rozpoznawana choroba nowotworowa. Przeciwciała anty-Yo towarzyszą rozwojowi raka piersi, jajnika, żołądka, przełyku i ślinianki. Zespół mózdkowy związany z obecnością przeciwciał anty-Yo u 63% chorych występuje przed rozpoznaniem nowotworu, u 30% po rozpoczęciu leczenia onkologicznego, a u 20% towarzyszy wznowie choroby nowotworowej.

Przeciwciała anty-GAD

Przeciwciała anty-GAD stwierdza się u ponad 80% chorych z zespołem sztywnego człowieka. Obecność przeciwciał anty-GAD wykrywa się w panelu neuroimmunologicznym metodą immunofluorescencji pośredniej.

Przeciwciała anty-MAG

Przeciwciała przeciw glikoproteinie związanej z mieliną (MAG - Myelin-Associated Glycoprotein) stwierdza się u chorych z zespołem Guillain-Barre lub neuropatią demielinizacyjną między innymi w przebiegu białaczki włośchatokomórkowej, czy też makroglobulinemii Waldenstroma. Przeciwciała anty-MAG wykrywa się metodą immunofluorescencji pośredniej.

Przeciwciała przeciw mielinie

Przeciwciała przeciw mielinie występują u chorych z pierwotnym izolowanym zespołem objawów oraz z rozpoznanym stwardnieniem rozsianym. Występują one u 62% osób z pierwotnym izolowanym zespołem objawów (PIZO), u których wcześniej rozpoznaje się ostatecznie stwardnienie rozsiane niż u chorych bez obecności przeciwciał. Obecność przeciwciał przeciw mielinie wykrywa się metodą immunofluorescencji pośredniej.

Nazwa badania - Autoimmunologia	Materiał
Przeciwciała przeciwjądrowe i przeciwcyaoplazmatyczne - test przesiewowy (IIF, Hep-2) (ANA1)	Surowica
Przeciwciała przeciwjądrowe, przeciwjądrowe i przeciwcyaoplazmatyczne (dsDNA, nRNP, Sm, SS-A (Ro), SS-B (La), Scl-70, Jo-1, PM-Scl, fibrylarynowe, RNA-Polimeraza I, PCNA, ACA, mitochondrialne, cytoszkieletowe, rybosomalne)-test kompleksowy (IIF, Hep-2, DID) (ANA 2)	Surowica
Przeciwciała przeciwjądrowe (m.in. histonowe, Ku, rib-P-Protein) (Immunoblot) - (ANA 3)	Surowica
Przeciwciała przeciw dsDNA (IIF, test <i>Crithidium luciliae</i>)	Surowica
Przeciwciała przeciw nukleosomom (ANuA) (Immunoblot)	Surowica
Badania tkankowe (DIF)	Wycinek skóry
Przeciwciała przeciw antygenom cytoplazmy neutrofilów ANCA (pANCA i cANCA) (IIF)	Surowica
Przeciwciała pemphigus (desmogleina 1 i desmogleina 3) i pemphigoid (IIF)	Surowica
Badanie w kierunku DH (<i>Dermatitis herpetiformis</i>) (IIF)	Surowica
Przeciwciała BMZ – badanie na splicie skóry	Surowica
Przeciwciała przeciw endomysium (EmA) IgA (IIF)	Surowica
Przeciwciała przeciw endomysium (EmA) IgG (IIF)	Surowica
Przeciwciała przeciw endomysium (EmA) IgA i IgG (IIF)	Surowica
Przeciwciała przeciw gliadynie (AGA) IgA (IIF)	Surowica
Przeciwciała przeciw gliadynie (AGA) IgG (IIF)	Surowica
Przeciwciała przeciw gliadynie (AGA) IgA i IgG (IIF)	Surowica
Przeciwciała przeciw endomysium i gliadynie IgA (IIF)	Surowica
Przeciwciała przeciw endomysium i gliadynie IgG (IIF)	Surowica
Przeciwciała przeciw endomysium i gliadynie IgA i IgG (IIF)	Surowica
Przeciwciała przeciw retikulinie (ARA) IgA (IIF)	Surowica
Przeciwciała przeciw retikulinie (ARA) IgG (IIF)	Surowica
Przeciwciała przeciw retikulinie (ARA) IgA i IgG (IIF)	Surowica
Przeciwciała przeciw transglutaminazie tkankowej (anty-tTG) IgA (immunochemiluminescencja)	Surowica
Przeciwciała przeciw transglutaminazie tkankowej (anty-tTG) IgG (ELISA)	Surowica
Przeciwciała przeciw transglutaminazie tkankowej (anty-tTG) IgA i IgG	Surowica
Przeciwciała przeciwmitochondrialne (AMA) (IIF)	Surowica
Przeciwciała przeciwmitochondrialne (AMA) typu M2 (IIF)	Surowica
Przeciwciała przeciw mięśniom gładkim (ASMA) (IIF)	Surowica
Przeciwciała przeciw mikrosomom wątroby i nerki (anty-LKM) (IIF)	Surowica
Przeciwciała przeciw kanalikom żółciowym (IIF)	Surowica
Przeciwciała przeciw antygenowi cytoplazmatycznemu wątroby typu 1 (anty-LC-1)	Surowica
Panel wątrobowy PEŁNY (ANA2, AMA, ASMA, anty-LKM, anty-LSP, anty-SLA) (IIF, DID)	Surowica
Panel wątrobowy SPECJALISTYCZNY (anty-LKM-1, anty-SLA/LP, AMA M2) (Immunoblot)	Surowica
Panel wątrobowy (anty-LKM, anty-LSP, anty-SLA) (IIF)	Surowica
Przeciwciała antykardiolipinowe IgG (ELISA)	Surowica
Przeciwciała antykardiolipinowe IgM (ELISA)	Surowica

Przeciwciała antykardiolipinowe IgG i IgM (ELISA)	Surowica
Przeciwciała przeciw β_2 -glikoproteinie I IgG (ELISA)	Surowica
Przeciwciała przeciw β_2 -glikoproteinie I IgM (ELISA)	Surowica
Przeciwciała przeciw β_2 -glikoproteinie I IgG i IgM (ELISA)	Surowica
Przeciwciała przeciw protrombinie IgG (ELISA)	Surowica
Przeciwciała przeciw protrombinie IgM (ELISA)	Surowica
Przeciwciała przeciw protrombinie IgG i IgM (ELISA)	Surowica
Przeciwciała przeciw fosfatydyloserynie IgG (ELISA)	Surowica
Przeciwciała przeciw fosfatydyloserynie IgM (ELISA)	Surowica
Przeciwciała przeciw fosfatydyloserynie IgG i IgM (ELISA)	Surowica
Przeciwciała przeciw fosfatydyloinozytolowi IgG (ELISA)	Surowica
Przeciwciała przeciw fosfatydyloinozytolowi IgM (ELISA)	Surowica
Przeciwciała przeciw fosfatydyloinozytolowi IgG i IgM (ELISA)	Surowica
Antykoagulant toczniowy (Test krzepnięcia)	Osocze
Przeciwciała przeciw plemnikom (IIF)	Surowica
Przeciwciała przeciwplemnikowe IgG w nasieniu	Nasienie
Przeciwciała przeciw antygenom jajnika (IIF)	Surowica
Przeciwciała przeciw komórkom Leydiga jąder (IIF)	Surowica
Przeciwciała przeciw antygenom łożyska (IIF)	Surowica
Przeciwciała przeciw tyreoglobulinie (anty-TG) (immunochemiluminescencja)	Surowica
Przeciwciała przeciw peroksydazie tarczycowej (anty-TPO) (immunochemiluminescencja)	Surowica
Przeciwciała przeciw receptorom TSH (TRAb) (ELISA)	Surowica
Przeciwciała przeciw cyklicznemu białku bogatemu w cytrulinę (anty-CCP) (ELISA)	Surowica
Przeciwciała przeciw receptorom acetylocholin (anty-AChR) (RIA)	Surowica
Przeciwciała przeciw mięśniom poprzecznie prążkowanym i przeciw mięśniowi sercowemu (<i>miasthenia gravis</i>) (IIF)	Surowica
Przeciwciała przeciw GAD (anty-GAD) (ELISA)	Surowica
Przeciwciała przeciw IA2 (anty-IA2) (ELISA)	Surowica
Przeciwciała przeciw komórkom okładzinowym żołądka (APCA) (IIF)	Surowica
Przeciwciała przeciw czynnikowi wewnętrznemu Castle'a i przeciw komórkom okładzinowym żołądka (APCA) (IIF)	Surowica
Przeciwciała przeciw błonie podstawnej kłębuszków nerkowych (anty-GBM) i błonie pęcherzyków płucnych (zespół Goodpasture'a) (IIF)	Surowica
Przeciwciała przeciw błonie podstawnej kłębuszków nerkowych (anty-GBM) (IIF)	Surowica
Przeciwciała przeciw mięśniowi sercowemu (IIF)	Surowica
Przeciwciała przeciw wyspom trzustkowym, komórkom zewnątrzwydzielniczym trzustki i komórkom kubkowatym jelit (choroba Leśniowskiego-Crohna i <i>colitis ulcerosa</i>) (IIF)	Surowica
Panel jelitowy (przeciwciała przeciw komórkom zewnątrzwydzielniczym trzustki, komórkom kubkowatym jelit, ASCA, ANCA) (IIF)	Surowica
Przeciwciała przeciw <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ASCA) (IIF)	Surowica
Przeciwciała przeciw korze nadnerczy (IIF)	Surowica
Panel neuroimmunologiczny (anty-Ri, anty-Hu, anty-Yo, anty-GAD, anty-MAG, przeciwciała przeciw mielinie) (IIF)	Surowica

OGÓLNE ZASADY WSPÓŁPRACY

Mając na uwadze jakość wykonywanych badań chcielibyśmy zwrócić Państwa uwagę na istotne aspekty przedanalizycznej fazy procedury diagnostycznej. Szczególnie ważne jest prawidłowe pobranie i transport materiału.

Wychodząc naprzeciw Państwa potrzebom oferujemy również kompleksową obsługę fazy poanalizycznej.

FAZA PRZEDANALIZYCZNA

Zasady pobrania i przygotowania materiału.

Surowica

Krew należy pobrać na skrzep, a następnie odwirować i oddzielić surowicę. Surowica nie powinna nosić znamion hemolizy.

Materiał do większości badań jest bardzo stabilny, jednak w przypadku dłuższego przechowywania materiału przed wysłaniem surowicę należy zamrozić i unikać wielokrotnego jej rozmrażania.

Osocze

UWAGA! Postępowanie w przypadku antykoagulantu toczniowego:

1. Krew należy pobrać na cytrynian sodu w sposób wykluczający aktywację czynników krzepnięcia (wypływ krwi powinien być szybki i ciągły).
2. Do 2 godz. od pobrania, krew należy dwukrotnie odwirować: 3000–3500 obrotów/10 minut (usunięcie większości płytek krwi).
3. Próbkę osocza (min. ilość osocza - 2 ml) należy zamrozić (-20°C) i przesłać do laboratorium. Próbka nie może ulec rozmrożeniu.

Jeżeli istnieje możliwość dostarczenia materiału do laboratorium w czasie nieprzekraczającym 2 godz. od pobrania, próbkę należy natychmiast przesłać do laboratorium w temp. 2-8°C. Nie zamrażać! (na skierowaniu podać godzinę pobrania materiału).

Tkanka

W przypadku badań tkankowych, odpowiednio pobrany materiał (wycinek skórny) należy umieścić w probówce z płynem Michaela.

Probówki z płynem Michaela mogą zostać przesłane do Państwa przez laboratorium.

Materiał przygotowany wg instrukcji należy opisać i wypełnić zlecenie dostarczone przez DIAGNOSTYKĘ, koniecznie z uwzględnieniem informacji dodatkowych dotyczących objawów choroby i stosowanego leczenia. Pełne informacje zawarte w zleceniu dają możliwość zamieszczenia na wyniku kompetentnego komentarza konsultanta naukowego.

Istnieje możliwość oznakowania materiału i zlecenia, za pomocą dostarczonych przez DIAGNOSTYKĘ kodów kreskowych, które w sposób jednoznaczny identyfikują materiał przypisany do zlecenia i wykluczają możliwość pomyłki.

FAZA POANALIZYCZNA

Monitorowanie materiału

Dzięki zastosowaniu laboratoryjnego systemu informatycznego DIAGNOSTYKI na bieżąco możemy udzielać informacji o terminie wykonania oznaczenia.

Bank surowic

W Pracowniach Autoimmunologii, w przypadku otrzymania dodatniego wyniku testu ANA1 istnieje możliwość poszerzenia diagnostyki o test ANA2. Jeżeli badanie ANA2 zostanie zleczone w okresie 1 miesiąca możliwe jest wykonanie tego badania z surowicy przechowywanej w banku surowic Pracowni Autoimmunologii.

Wydanie wyniku

Sposób dostarczania wyników badań jest dostosowywany do Państwa indywidualnych potrzeb. Wyniki są przysyłane drogą pocztową lub dostarczane przez kuriera. W pilnych sytuacjach możliwe jest wysłanie wyników faxem.

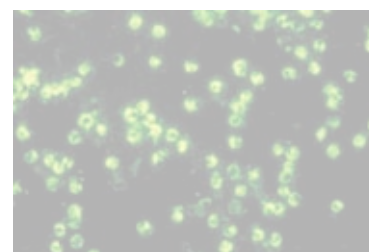
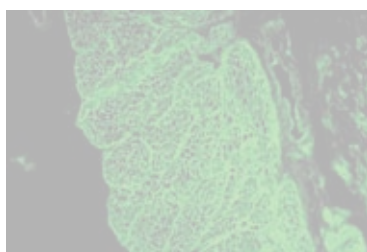
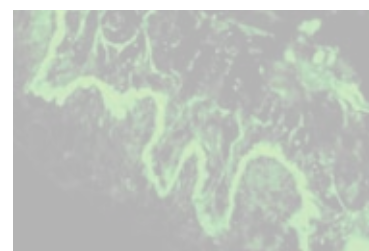
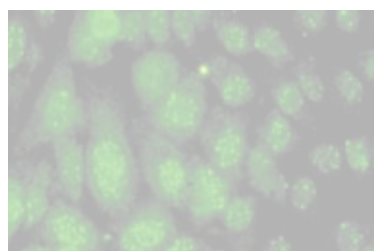
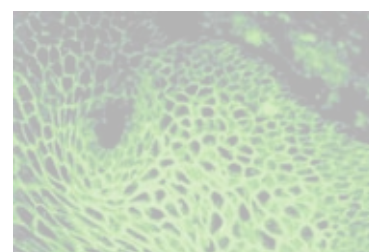
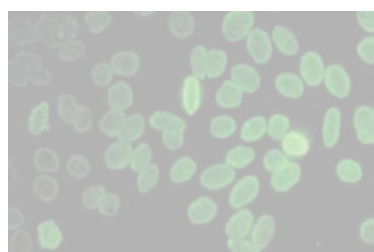
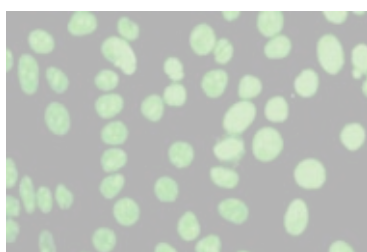
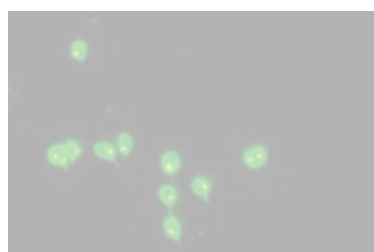
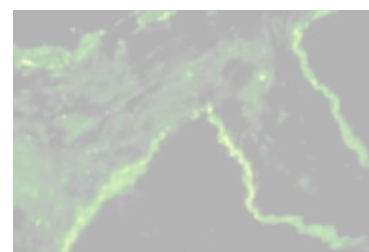
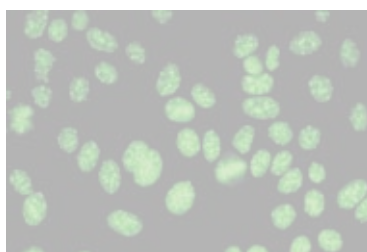
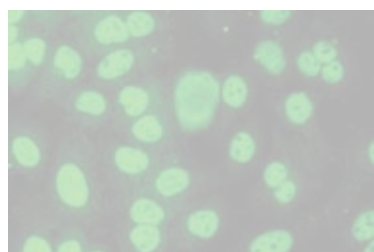
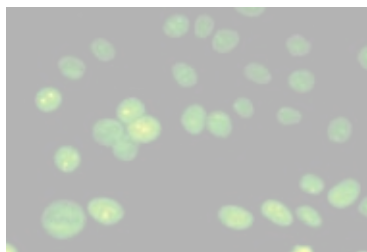
Kontakt ze specjalistami

DIAGNOSTYKA umożliwia lekarzowi zlecającemu bezpośredni kontakt z diagnostą wykonującym badanie lub z konsultantem naukowym. Ta forma współpracy jest pomocna w interpretacji wyników czy określeniu dalszego postępowania diagnostycznego.



Certyfikaty potwierdzające wysoką jakość badań wykonywanych w Pracowniach Autimmunologii DIAGNOSTYKI w Krakowie i Warszawie

Złote standardy
w diagnostyce
chorób
autoimmunologicznych





DIAGNOSTYKA
Spółka z ograniczoną odpowiedzialnością Sp. k
ul. Olszańska 5
31-513 Kraków
tel. 012 295 01 00

DIAGNOSTYKA
Spółka z ograniczoną odpowiedzialnością Sp. k
Oddział Warszawa
ul. Prózna 12
00-107 Warszawa
tel. 022 652 34 28

DIAGNOSTYKA
Spółka z ograniczoną odpowiedzialnością Sp. k
Oddział Śląsk
ul. Karłowicza 11
40-145 Katowice
tel. 032 253 80 99

DIAGNOSTYKA
Spółka z ograniczoną odpowiedzialnością Sp. k
Oddział Wrocław
ul. Weigla 12
53-114 Wrocław
tel. 071 370 90 00

DIAGNOSTYKA
Spółka z ograniczoną odpowiedzialnością Sp. k
Oddział Opole
ul. Wodociągowa 4
45-221 Opole
tel. 077 541 41 91

DIAGNOSTYKA
Spółka z ograniczoną odpowiedzialnością Sp. k
Oddział Podkarpacki
ul. Szpitalna 1
39-400 Tarnobrzeg
tel. 015 812 33 21

DIAGNOSTYKA
Spółka z ograniczoną odpowiedzialnością Sp. k
Oddział Łódź
ul. Sporna 36/50
91-738 Łódź
tel. 042 617 22 35

DIAGNOSTYKA
Spółka z ograniczoną odpowiedzialnością Sp. k
Oddział Poznań
al. Solidarności 36
61-696 Poznań
tel. 061 647 77 40

Ośrodek Diagnostyki
Medycznej Laboratorium Sp. z o.o.
ul. Jagiellońska 74
25-734 Kielce
tel. 041 368 73 02

DIAGNOSTYKA
Spółka z ograniczoną odpowiedzialnością Sp. k
ul. Mickiewicza 12
42-217 Częstochowa
tel. 034 370 24 42

Diagnostyka Medyczne
Centrum Laboratoryjne Sp. z o.o.
ul. Piłsudskiego 15
66-400 Gorzów Wielkopolski
tel. 095 722 92 22

NZOZ Medyczne Laboratorium Diagnostyczne
TOP-LAB Sp. z o.o.
ul. Topolowa 7
20-353 Lublin
tel. 081 744 44 43

MEDICA Specjalistyczne
Laboratorium Analiz Medycznych Sp. z o.o.
ul. Kupiecka 22
65-426 Zielona Góra
tel. 068 457 89 81

Wkrótce Oddziały w kolejnych miastach.