

Posterová sekce I.

B-LYMFOCYTY A JEJICH SUBSETY Z POHLEDU EXPRESE MOLEKULÁRNÍCH MARKERŮ CD23 A CD200 U PACIENTŮ S ATOPICKOU DERMATITIDOU

Boudková P.¹, Čelakovská J.², Čermáková E.³, Andrýs C.¹, Krejsek J.¹

¹ Ústav klinické imunologie a alergologie, Fakultní nemocnice a LF v Hradci Králové (UK)

² Klinika nemocí kožních a pohlavních, Fakultní nemocnice a LF v Hradci Králové (UK)

³ Ústav lékařské biofyziky, LF v Hradci Králové (UK)

Cíl

Cílem studie bylo zlepšení hledání biomarkerů v běžné populaci B-lymfocytů a jejich subsetů, které by byly využitelné v budoucí laboratorní diagnostice atopické dermatitidy.

Materiál a metody

Do studie byly zařazeni pacienti s AD ve věkové skupině mezi 24 a 71 lety. Skupina byla rozdělena do dvou kohort podle podávání systémové terapie dupilumab, a to minimálně po dobu 18 měsíců. Skupiny byly vyšetřeny v zimním a letním období z důvodu rozdílnosti senzibilizace pylovým alergenům. Pacientů bez léčby dupilumabem bylo 21, pacientů léčených dupilumabem bylo 13.

Imunofenotypizace byla provedena s pomocí průtokové cytometrie (průtokový cytometr Navios – Beckman Coulter). Krevní obraz byl vyšetřen na analyzátoru Sysmex XN 3000 a Sysmex SP10. Následně byly porovnány hodnoty absolutního počtu B-lymfocytů a relativního počtu B-lymfocytárních subsetů (paměťových, naivních, bez přesmyku, po přesmyku), včetně hodnoty exprese molekulárních markerů CD23 a CD200 na uvedených buňkách. Pro statistickou analýzu byla využita neparametrická Kruskalova–Wallisova analýza rozptylu s následným vícenásobným srovnáním a Dunnův test s Bonferoniho modifikací hladiny významnosti. Pro hodnocení byl využit statistický software: NCSS 2021 Statistical Software (2021).

Výsledky

U pacientů neléčených dupilumabem byly v porovnání mezi obdobími v zimním období zvýšeny paměťové B-lymfocyty, B-lymfocyty bez přesmyku a po přesmyku. Naivní B-lymfocyty byly v tomto období sníženy. Současně byla v tomto období zvýšena exprese molekulárního

markeru CD200 jak na celkových B-lymfocytech, tak jejich subsetech.

Při porovnání mezi obdobími u pacientů léčených dupilumabem byly relativní počty B-lymfocytárních subsetů obdobné. Exprese markeru CD200 však nebyla v porovnání zimního a letního období statisticky významná. Zvýšenou expresi u léčených však vykazovaly v zimním období naivní B-lymfocyty v molekulárním markeru CD23. Celkový absolutní počet B-lymfocytů zůstal po celou dobu nezměněn.

Závěr

Porovnání kohort v jednotlivých obdobích prokázalo rozdíl jak v relativním zastoupení B-lymfocytárních subsetů, tak v expresi molekulárních markerů CD23 a CD200. Výsledky naší studie naznačují, že dupilumab může mít vliv na kontrolu imunitní odpovědi z hlediska B-lymfocytární linie.

PEŇOVÁ SEZÓNA 2024 NA SLOVENSKU

Hochmuth L.¹, Lafféřsová J.², Snopková Z.³

¹ Alergologická ambulancia, II. interná klinika SZU, FNŠP F. D. Roosevelta v Banskej Bystrici

² Regionálny úrad verejného zdravotníctva, Banská Bystrica

³ SHMÚ Bratislava, Regionálne stredisko Banská Bystrica

V roku 2024 na Slovensku pracuje 7 staníc peňového monitoringu, z toho 6 pod gestorstvom Verejného zdravotníctva (Bratislava, Trnava, Nitra, Žilina, Banská Bystrica, Košice), siedma stanica pôsobí nezávisle na pôde Prírodovedeckej fakulty UK v Bratislave.

Koordináciou činnosti peňovej informačnej služby (PIS) je v zmysle Zákona č. 355/2007 o ochrane, podpore a rozvoji verejného zdravia poverené pracovisko na pôde Regionálneho úradu verejného zdravotníctva (RÚVZ) so sídlom v Banskej Bystrici.

Peňové spravodajstvo je dostupné na stránke www.alergia.sk, okrem toho je zdieľané a využívané ďalšími subjektami a inštitúciami.

Poster prezentuje v grafickej a tabuľkovej forme namerané hodnoty peňu najvýznamnejších alergizujúcich druhov rastlín na Slovensku za rok 2024. Namerané hodnoty v posterovej prezentácii korelujú s meteorologickými charakteristikami (teplota vzduchu, dĺžka slnečného svitu) v danom období.

POTREBUJEME INOVATÍVNU LIEČBU ASTMY? POPULAČNÁ ŠTÚDIA PRESKRIPCIE PERORÁLNYCH KORTIKOIDOV, ANTIBIOTÍK A INOVATÍVNEJ LIEČBY U ASTMATIKOV NA SLOVENSKU

Janota S.¹, Lukán N.², Salátová Kozlovská I.³, Hrubíško M.⁴, Korytárová J.⁵, Gürtler E.⁶, Ciesar M.⁷, Faktor M.⁷

¹ V. interná klinika LF UK a UN, Bratislava

² Ústav imunológie a alergológie LF SZU

³ Centrum imunológie a alergológie, s. r. o.

⁴ OKIA Onkologický ústav svätej Alžbety, s. r. o., Bratislava

⁵ FZ a SP TU Trnava a AKI a ANAW Piešťany

⁶ OKI UN Bratislava

⁷ Dôvera, zdravotná poisťovňa, a. s.

Cieľ

Zistiť počty astmatikov na Slovensku, ktorí si vyzdvihli rôzne množstvá predpísaných perorálnych kortikoidov na diagnózu astmy (a porovnať to s antibiotikami), kto im kortikoidy predpísal a kto z astmatikov bol v ďalšom období liečený inovatívnou liečbou.

Materiál a metódy

Analyzovali sme databázu zdravotnej poisťovne Dôvera, a. s. (1 677 275 ľudí, 32,36 % poistencov SR). Za astmatika sme považovali človeka, ktorý definovane dlhodobo prevzal definované antiastmatiká predpísané na liečbu diagnózy astma. Ako astmatikov v sledovanom období sme uzavreli 47 583 chorých. Vyradili sme astmatikov, ktorí mali v dokumentácii údaj o niektorej z iných diagnóz, pri ktorej môže byť indikované podávanie perorálnych kortikoidov. V ďalšom roku sme sledovali vyzdvihnutie predpísaných perorálnych kortikoidov (v prepočte na mg prednizonu) a antibiotík (v štandardných dávkach). A v ďalšom roku sme sledovali vyzdvihnuté predpísané lieky skupín R03DX podľa spotreby perorálnych kortikoidov a antibiotík.

Výsledky

Počet astmatikov nad 12 rokov so spotrebou *p. o.* kortikoidov 401 – 800 mg/rok 566 (odhad pre SR 1 749), 801 – 1 600 mg 473 (1 462), 1 601 – 3 600 mg 224 (692), nad 3 601 mg 59 (odhad pre SR 182). Preukázali sme, že spotreba perorálnych kortikoidov a antibiotík u astmatikov významne koreluje. Spotreba antibiotík všeobecne 5,90 ŠDL/rok, astmatici 10,17, pri spotrebe nad 801 mg *p. o.* kortikoidov 24,92, pri spotrebe nad 3 601 mg 31,79. Predpis *p. o.* kortikoidov na diagnózu astmy vykonali v rovnakých tretinách predpisov alergiológovia, pneumológovia a všeobecní lekári vrátane pracovísk emergency. Spotreba inovatívnej liečby bola minimálna a išlo v polovici chorých o astmatikov, ktorí nemali vyššiu spotrebu *p. o.* kortikoidov ani antibiotík.

Záver

Populačná štúdia preukázala, že na Slovensku je viac astmatikov s vyššou spotrebou *p. o.* kortikoidov aj antibiotík, než sa všeobecne predpokladá, a nízka spotreba inovatívnych liekov.

CD222 (IGF2R) A JEHO ÚLOHA V PATOGENÉZE FIBROTIZUJÚCICH PROCESOV V PĽÚCACH

Kardohelyová M.¹, Suchánková M.¹, Leksa V.², Urban J.³, Gánovská M.³, Tibenská E.⁴, Szaboová K.⁴, Tedlová E.⁵, Bucová M.¹

¹ Imunologický ústav LF UK, Bratislava

² Ústav molekulárnej biológie SAV, Bratislava

³ Národný ústav tuberkulózy, pľúcnych chorôb a hrudníkovej chirurgie Vyšné Hágy,

⁴ Medirex, a. s., Bratislava

⁵ Klinika pneumológie a ftizeológie LF UK a UN, Bratislava

CD222/IGF2R sa nachádza v Golgiho aparáte a viaže proteíny obsahujúce manózo-6-fosfát (M6P). Niektoré aktuálne práce poukazujú na úlohu receptora pre inzulínu podobný rastový faktor 2 (IGF2R, M6PR, CD222) v procesoch, ktoré súvisia s rozvojom ireverzibilnej fibrózy (1,2,3).

Patogenéza idiopatickej pľúcnej fibrózy (IPF) a iných fibrotických procesov v pľúcach nie je doteraz dostatočne prebádaná z hľadiska etiológie a patogenézy. Aj napriek výraznému pokroku v posledných rokoch zostávajú presné molekulárne mechanizmy neobjasnené. Rozvoju fibrotického procesu predchádza poškodenie alveolárnych epitelových buniek, následná aktivácia fibroblastov a ich diferenciacia na myofibroblasty.

V našej štúdii nám vyšetřovaný súbor tvorilo 361 pacientov s difúznymi parenchýmovými pľúcnyimi chorobami (DPPCH), ktorí boli následne zaradení do štyroch hlavných skupín. V rámci výsledkov sme zistili, že koncentrácia CD222 je naprieč jednotlivými diagnózami variabilná, no najvyššiu koncentráciu v tekutine bronchoalveolárnej laváže (BALT) vykazovali pacienti s IPF.

Taktiež sme zistili, že pľúcne fibroblasty vykazujú vyššiu koncentráciu CD222 ako pľúcne epitelové bunky, čo značí, že práve pľúcne fibroblasty sú zdrojom solubilnej formy CD222, a teda môžu zohrávať dôležitú úlohu pri rozvoji tohto ochorenia.

Výšetřenie markerov v tekutine BALT nám umožňuje analyzovať produkty zápalového procesu priamo v mieste jeho priebehu. Kombinácia možností získania reálnych mediátorov fibrotického procesu a využitie modelov bunkových kultúr nám umožňuje sledovať reakcie sledovaných typov buniek v prostredí prebiehajúceho fibrotického procesu.

Je zároveň dôležité povedať, že imunopatogenézu IPF a iných fibrotických procesov v pľúcach nepoznáme, a nami sledovaná molekula CD222 môže mať viac možných funkcií, ktoré súvisia s nielen procesmi fibrotizácie, ale aj s procesmi zápalu. Korelačné analýzy ukazujú možnú súvislosť s aktiváciou lymfocytov pri sarkoidóze a makrofágov pri hypersenzitívnej pneumonitíde (HP), kde hladiny CD222 korelujú s absolútnym počtom týchto buniek.

V našej štúdii sme dokázali, že pľúcne fibroblasty, ktoré sú kľúčovými hráčmi fibrotizácie pľúcneho parenchýmu, produkujú CD222 pod vplyvom BALT od pacientov s IPF, čo stimuluje zápalové mikroprostredie, ktoré je

charakteristické pre progresívny fibrotický proces u pacientov s IPF.

Štúdia bola financovaná z grantu VEGA 1/0426/24, APVV-20-0513, VEGA 2/0152/21.

CITÁCIE

1. Leksa V, Ilková A, Vičková K, Stockinger H. Unravelling novel functions of the endosomal transporter mannose 6-phosphate/insulin-like growth factor receptor (CD222) in health and disease: An emerging regulator of the immune system. *Immunol Lett.* 2017;190:194–200.
2. Zhao Z, Li Y, Jain A, et al. Development of a peptide-modified siRNA nanocomplex for hepatic stellate cells. *Nanomedicine.* 2018;14(1):51–61. doi:10.1016/j.nano.2017.08.017
3. Bohnsack RN, Warejcka DJ, Wang L, et al. Expression of insulin-like growth factor 2 receptor in corneal keratocytes during differentiation and in response to wound healing. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2014;55(12):7697–7708. Published 2014 Oct 30. doi:10.1167/iovs.14-15179

MONITOROVANIE VÝSKYTU A INTENZITY KLINICKÝCH SYMPTÓMOV RESPIRAČNÝCH ALERGIKOV A KVALITY ŽIVOTA POMOCOU MOBILNEJ APLIKÁCIE – UAD MONITOR

Kolarčík P.^{1,2}, Puchý V.³, Hajduková A.⁴, Fecil'ak P.³, Lukán N.⁵

¹ Ústav psychológie zdravia a metodológie výskumu, Lekárska fakulta, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika, Košice

² Institut sociálneho zdravia (Olomouc University Social Health Institute – OUSHI), Univerzita Palackého v Olomouci

³ Fakulta elektrotechniky a informatiky, Technická univerzita v Košiciach

⁴ Harwen s. r. o., Michalovce

⁵ Ústav imunológie a alergológie, Slovenská zdravotnícka univerzita, Bratislava

Cieľ

Oboznámiť odbornú verejnosť s novým spôsobom a potenciálom monitoringu výskytu a intenzity klinických symptómov respiračných alergikov a kvality života pacientov s alergickou rinitídou, prieduškovou astmou v kontexte jednotnej choroby dýchacích orgánov s využitím špecifickej aplikácie obsahujúcej škálu UAD-9 v prostredí ambulantnej starostlivosti ako aj v oblasti výskumu.

Materiál a metódy

V spolupráci s Fakultou elektrotechniky a informatiky TU v Košiciach bola vytvorená aplikácia, ktorá na báze 9-položkovej skriningovej škály UAD-9 (Lukán et al., 2019) umožňuje zbierať na pravidelnej báze údaje o intenzite symptómov u pacientov spolu so základnými sociodemografickými parametrami a konkrétnou diagnózou.

Výsledky

Mobilná aplikácia UAD Monitor umožňuje pacientom zaznamenávať údaje o klinickej manifestácii respiračných alergóz, aj ich dopadu na kvalitu života v pravidelných

týždňových intervaloch, prípadne intervaloch podľa požiadaviek ošetrojúceho lekára.

Aplikácia poskytuje ošetrojúcemu lekárovi grafický prehľad o priebehu symptómov konkrétneho pacienta, prípadne všetkých pacientov z jeho ordinácie. Je možné sledovať ich priebeh a vývoj v čase, zaznamenať ich zhoršenie, resp. ústup symptómov po nasadení liečby. Je možné sledovať nástup efektu a porovnávať účinnosť konkrétnych preparátov a pod.

Aplikácia spolupracuje s nástrojom Google-PollenApi, ktorý sleduje koncentrácie peľových častíc v príslušných lokalitách, kde sa vyskytuje konkrétny pacient podľa jeho GPS signálu, a upozorní ho na zvýšené riziko zmeny klinického stavu.

Zároveň je možné symptómy analyzovať vo vzťahu k peľovým koncentráciám konkrétnych pacientov v ich okolí. Jednoduchosť a rýchlosť používania UAD Monitoru umožňujú zbierať údaje od veľkého množstva pacientov v rôznych krajinách, čo poskytuje možnosť pri následných analýzach využívať nástroje BigData prístupov, nástroje strojového učenia a umelej inteligencie.

Záver

Aplikácia poskytuje jednoduchý, dostupný a spoľahlivý monitoring symptómov liečených pacientov prostredníctvom **mobilnej aplikácie UAD Monitor**, ktorý bude poskytovať výstupy dokladujúce priebeh klinických symptómov respiračných alergikov a efekt liečby a zároveň umožní vo výskume aplikovať moderné analytické postupy na báze strojového učenia a umelej inteligencie, ktoré môžu priniesť nové poznatky do oblasti manažmentu alergií dýchacích orgánov.

SOUBĚŽNÝ VÝSKYT MYASTHENIA GRAVIS A GRAVESOVY–BASEDOWOVY ORBITOPATIE U PACIENTKY S HISTORIÍ AUTOIMUNITNÍ GASTRITIDY

Křupka M.¹, Karhanová M.², Petráčková A.¹, Schovánek J.^{3*}

¹ Ústav imunologie Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci

² Oční klinika, Fakultní nemocnice Olomouc

³ III. interní klinika – nefrologická, revmatologická a endokrinologická, Fakultní nemocnice Olomouc

Myasthenia gravis a Gravesova–Basedowova thyreoitida jsou orgánově specifická autoimunitní onemocnění, charakteristická přítomností autoprotilátek proti receptorům. Ačkoliv jsou u každé z těchto nemocí namířeny proti odlišným autoantigenům, mohou se u nich objevovat klinicky podobné oční příznaky. Obě tyto choroby jsou tak součástí diferenciální diagnostiky postižení očního bulbu. Ve vzácných případech však může dojít k souběhu obou autoimunitních chorob s rizikem diagnostického opomenutí jedné z nich po přesvědčivém průkazu druhé.

V naší práci popisujeme případ pacientky s anamnézou atrofické gastritidy, diagnostikované v roce 1997. Od roku 2015 byla sledována pro autoimunitní thyreoitidu se suspektní rozvíjející se orbitopatií.

V listopadu 2022 byla u pacientky diagnostikována myasthenia gravis s převládajícími očními příznaky a pozitivitou protilátek proti acetylcholinovému receptoru. Byl nasazen pyridostigmin (Mestinon) a azathioprin (Imuran).

V květnu 2023 přichází na endokrinologické pracoviště III. interní kliniky Fakultní nemocnice Olomouc pro zhoršení očních potíží. Laboratorně byla zjištěna pozitivita protilátek anti-TPO (proti thyreoperoxidáze), anti-Tg (proti thyroglobulinu), vysoká pozitivita protilátek TSI (stimulujících protilátek proti TSH-receptoru) a zvýšená hladina imunoglobulinů izotypu IgG4. Ve výzkumné laboratoři byla zjištěna pozitivita protilátek anti-ATP4B (autoantigen parietálních buněk žaludku). Negativní byl screening ANA protilátek a protilátek proti myositis specifickým/asociovaným antigenům. Na základě výsledků byla stanovena diagnóza Gravesovy–Basedowovy orbitopatie v terénu předchozí thyreoitidy. Pro závažnou orbitopatii ohrožující zrak byla pacientka léčena pulzními kortikoidy (3× 1,5 g solumedrolu). Na základě klinického stavu byla provedena thyreoidektomie a následně chirurgická dekomprese orbit.

V současnosti pacientka užívá medikaci pro léčbu myasthenie (Mestinon, Imuran) a substituci hormonů štítné žlázy (Letrox) a je dlouhodobě ve stabilním stavu.

Naše kazuistika ukazuje možnost současného výskytu několika orgánově specifických autoimunitních chorob s protilátkami reagujícími proti orgánově a strukturně nesouvisejícím antigenům.

Z klinického hlediska je zásadní, že průkaz jedné autoimunitní choroby, která by mohla vysvětlovat klinické projevy, nevyklučuje přítomnost autoimunity jiné.

Podpořeno projektem Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. NU21J-01-00017, studentským projektem IGA_LF_2024_013 a projektem MZ ČR – RVO (FNOL, 00098892).

CHRONICKÁ KANDIDÓZA – SPOLUPRÁCE STOMATOLOGA A KLINICKÉHO IMUNOLOGA, KAZUISTIKY

Malkusová I.¹, Molnárová N.², Liška J.²

¹ Ústav imunologie a alergologie, FN Plzeň

² Orální medicína, Stomatologická klinika FN Plzeň

Úvod

Orální kandidóza je častá oportunní infekce u celkově oslabených a imunosuprimovaných jedinců. Chronická hyperplastická kandidóza je klinická forma kvasinkové infekce sliznice dutiny ústní s obtížným managementem léčby, s rizikem tvorby orálních epiteliálních dysplasií a zvýšeným výskytem karcinomu sliznice dutiny ústní. Pro úspěšnou terapii je nutná spolupráce stomatologů s lékaři interních oborů a imunology. Cílem práce bylo zlepšení diagnostiky orální kandidózy, zejména chronické hyperplastické kandidózy, zlepšení diagnostiky komorbidit a indukčních faktorů, optimalizace dostupné terapie a zlepšení korelace klinických a laboratorních údajů pro komplexní léčbu pacientů.

Metody

V souboru 165 pacientů (76 mužů, 89 žen) rozsahu věku 25–90 let v době primární verifikace chronické kandidózy byly stanovené anamnestické a klinické rizikové faktory pro kandidové procesy. U pacientů s kandidózou bez známého indukčního faktoru, s rozsáhlými aftózními změnami, atrofiemi, leukoplakii, hyperplastickými ložisky, orální intraepiteliální neoplazií, kandidovou stomatitidou provázenou exantémem nebo u pacientů nedostatečně reagujících na obvyklou léčbu bylo provedeno imunologické vyšetření (parametry humorální a buněčné imunity).

Výsledky

Vybrané kazuistiky: pozitivita HIV při leukoplakii, pseudomembranózní kandidóze, diferencované orální intraepiteliální neoplazii, kombinace positivity HIV a lues provázející EBV stomatitidu, makulopapulózní exantém, aftózní ulcerace, leukoplakii jazyka, anguli infectiosi.

Kazuistiky prezentují pacienty, jejichž příznaky nebyly dlouho rozpoznány nebo byly mylně interpretovány. V těchto případech znamenala spolupráce stomatologa s imunologem rozhodující posun při stanovení správné diagnózy a detekci závažných infekčních onemocnění.

Závěr

Spolupráce lékařů orální medicíny s klinickým imunologem přispěla ke zlepšení diagnostiky komorbidit a indukčních faktorů chronických kandidóz a upozornila na mnohdy chybně interpretované projevy závažných infekčních onemocnění.

CHRONICKÝ KAŠEL – ALE CO DÁL?

Mlčochová S., Humlová Z.

Ústav imunologie a mikrobiologie I. LF UK a VFN, Praha

Srovnání případů dvou pacientek, které byly odeslány k vyšetření pro dvouletou anamnézu dráždivého kašle.

Po provedení příslušných vyšetření bylo v prvním případě, u pacientky s anamnézou alergické rhinokonjunktivitidy a chronické kopřivky, diagnostikováno alergické astma.

U druhé pacientky, která měla v anamnéze karcinom rektosigmoidu, virovou perikarditidu, perforaci nosního septa, recidivující infekty dýchacích cest a která byla zároveň léčena pro myeloproliferativní syndrom typu polycytemia vera s trombocytózou, diagnóza astmatu potvrzena nebyla.

V laboratorních výsledcích bylo však u obou pacientek signifikantně zvýšeno celkové IgG s dysbalancí v IgG podtřídách. Na základě tohoto nálezu byla provedena imunofixace v séru, která u první pacientky vedla zcela neočekávaně k diagnóze myelomu, zatímco u druhé pacientky byla imunofixace negativní a hypergamaglobulinemie byla součástí nakonec potvrzeného Sjögrenova syndromu.

Prezentované kazuistiky poukazují na důležitost komplexního vyšetření včetně laboratorní složky.

BIOLOGICKÁ LÉČBA ASTMATU POHLEDEM ZDRAVOTNÍ SESTRY

Neumannová R., Novosad J.

Ústav klinické imunologie a alergologie, Fakultní nemocnice Hradec Králové

Bronchiální astma patří mezi nejčastější chronické zánětlivé onemocnění dýchacích cest, charakteristické chronickým zánětem a variabilní obstrukcí dýchacích cest, která vede ke klinickým potížím nemocného.

Od 70. let 20. století jsou zásadním nástrojem pro léčbu astmatu inhalační kortikosteroidy. Nejzávažnější komplikace průběhu onemocnění jsou jednak ztráta plicních funkcí, jednak těžké exacerbace, které vyžadují minimálně pulzní nasazení systémových kortikoidů.

Zcela zásadním posunem v léčbě nejtěžších forem choroby bylo zavedení biologické léčby. Od roku 2003 (registrace EMA, v ČR jsou dostupné od r. 2008) bylo postupně registrováno 6 biologik, které mohou cíleně ovlivnit progresi choroby, čímž snižují zatížení nemocných systémovými kortikosteroidy (trvale či nárazově při těžkých exacerbacích) včetně komplikací s touto léčbou spojených.

Pět registrovaných preparátů má stanoveny i podmínky úhrady, což významně zvýšilo jejich dostupnost. Velkým posunem bylo navíc zavedení možnosti léčby v domácím prostředí. Na ambulanci Ústavu klinické imunologie a alergologie (FN Hradec Králové) v současné době léčíme touto léčbou 69 pacientů.

Aplikace léčby je jednoduchá a při dodržení základních pravidel i velmi bezpečná s minimem nežádoucích účinků. Terapie dosahuje **vyšší účinnosti** (až 80 % nemocných vnímá významné zlepšení stavu různé intenzity). Selhání efektu léčby je spolu s výjimečnými nežádoucími reakcemi (zpravidla spojenými s imunomodulací imunitního systému) indikací k výměně preparátu asi u 20 % léčených astmatiků. Předpokládáme, že se možnosti biologické léčby budou do budoucna dále rozšiřovat, a tím i pravděpodobnost, že takový pacient navštíví i terénní ambulanci.

ANALÝZA PACIENTŮ S HYPERSENZITIVNÍ REAKCÍ NA METAMIZOL

Pešák S.¹, Löscherová J.², Thon V.³

¹ UKIA LF MU a FNUSA, Brno

² LK FNUSA, Brno

³ RECETOX MU a AKIMED, Brno

Cíl

Provést zhodnocení pacientů s hypersenzitivní reakcí na metamizol.

Soubor

Soubor tvořilo 23 pacientů (2 muži a 21 žen) ve věku 30–81 let (průměr 56, medián 52) z oblasti Jihomoravského kraje, vyšetřených v letech 2020–2024.

Výsledky

V retrospektivně analyzovaném souboru pacientů reagujících hypersenzitivně na metamizol byl zjištěn vyšší výskyt reakcí u žen (91,3 %, poměr 1 : 11,5), u pacientů

s neprokázanou atopií (74 %), reakcí vzniklých do 1 hodiny po podání (61,5 %).

Kritéria anafylaxe splňovalo 69,5 % pacientů. Průměrná doba nástupu reakcí byla u stupně 1 dle klasifikace WAO z roku 2024: 18 hodin, u stupně 2: 4 hodiny, u stupně 3: 80 minut, u stupně 4: 10 minut, stupeň 5 zjištěn nebyl.

Nejčastějším příznakem byla urtica/angioedém (82,6 %). Přecitlivělost i na jiné léky ze skupiny analgetik/antipyretik/NSAID byla zjištěna u 65,2 % pacientů, u 56,5 % byla zjištěna reakce i na zástupce jiných lékových skupin, nejčastěji antibiotik (34,8 %).

Závěr

V souboru pacientů z Jihomoravského kraje vyšetřovaných pro hypersenzitivní reakci na metamizol byl jako dominantní rys zjištěn její vyšší výskyt u žen a z hlediska závažnosti reakcí projevy anafylaxe, u níž byla patrná korelace závažnosti s rychlostí nástupu. Vyšší poměrné zastoupení žen může souviset s vyšší četností užívání metamizolu u žen než u mužů.

ORÁLNÍ ALERGICKÝ SYNDROM – PYLOVÉ POTRAVINOVÝ SYNDROM OAS-PFAS U PACIENTŮ MONOSENZIBILIZOVANÝCH PYLEM TRAV

Pešák S.¹, Löscherová J.², Thon V.³

¹ UKIA LF MU a FNUSA, Brno

² LK FNUSA, Brno

³ RECETOX MU a AKIMED, Brno

Cíl

Zjistit prevalenci OAS-PFAS a druhu potravin rostlinného charakteru u pacientů monosenzibilizovaných pylem trav.

Soubor a metody

Soubor tvořilo 29 retrospektivně hodnocených konsektivních atopiků (12 mužů a 17 žen) ve věku 18–78 roků (průměr 46, medián 42, modus 33), žijících v oblasti Jihomoravského kraje, monosenzibilizovaných pouze pylem trav, jevících klinické projevy polinózy v sezoně typické pro přecitlivělost na trávy (květen–červenec), vyšetřených alergologickou ambulancí v letech 2023–2024.

Všichni pacienti byli vyšetřeni rutinním způsobem – proběhl odběr anamnestických dat, klinické vyšetření. Podmínkou k zařazení bylo vyšetření specifického IgE metodou ALEX s pozitivitou alespoň jednoho rekombinantního pylového alergenu trav specifického pro trávy (Cyn d 1, Lol p1, Phl p 1, Phl p 2, Phl p 5, Phl p 6). Vylučovacím kritériem byla pozitivita specifického IgE a/nebo kožního testu a/nebo klinická reaktivita na jakékoliv jiné vzdušné alergeny, včetně těch, které jsou typicky zodpovědné za polysenzibilizaci (polcalcín, profilin) či nespécifickou laboratorní reaktivitu (CCD).

Výsledky

Ve sledovaném souboru byly příznaky OAS referovány u dvou pacientek (2/29). Jedna tyto příznaky sdělovala po požití lučního medu a druhá pacientka po požití jahod.

Závěr

V souboru pacientů žijících v oblasti Jihomoravského kraje monosenzibilizovaných pouze alergeny pylu trav

a klinicky reagujících v typické pylové sezoně trav byl zjištěn orální alergický syndrom po konzumaci medu a jahod. Klinický přístup s kvalitní komponentní diagnostikou a jejím poučeným kritickým vyhodnocením umožňuje komplexní diagnostiku a vyhodnocení rizik pro alergické pacienty.

ORMONDOVA CHOROBA – ÚSKALÍ DIAGNOSTIKY A LÉČBY

Průcha M.¹, Zdráhal P.², Kříž R.³, Šnajdrová A.³, Voska L.⁴

¹ Oddělení klinické biochemie, hematologie a imunologie, Nemocnice Na Homolce, Praha

² Oddělení cévní chirurgie, Nemocnice Na Homolce, Praha

³ Rentgenologické oddělení, Nemocnice Na Homolce, Praha

⁴ Pracoviště klinické a transplantační patologie, IKEM, Praha

Úvod

Ormondova choroba – idiopatická retroperitoneální fibróza je relativně vzácné onemocnění, s nespécifickými klinickými obtížemi a stejně tak laboratorním nálezem. U části pacientů je onemocnění spojeno s výskytem IgG4+ plazmatických buněk v infiltrátu, a spadá tedy do kategorie IgG4-RD.

V diagnostice je zlatým standardem histologický průkaz. Při pozdní diagnostice nebo neúspěšné terapii se mohou vyskytnout závažné důsledky – renální insuficience, vznik aneurysmatu na břišní aortě nebo ilických tepnách.

Soubor

Od roku 1997 bylo na pracovišti autorů diagnostikováno a léčeno 79 pacientů s idiopatickou retroperitoneální fibrózou. Diagnóza byla provedena na základě klinického obrazu, zobrazovacích metod, v případě možnosti na základě histopatologického obrazu. Většina pacientů byla léčena kombinací celkových kortikosteroidů a azathioprinu, menší část kombinací KS a mykofenolát mofetilu nebo rituximabem.

Výsledky

Průměrná doba terapie byla 24 měsíců, s dosažením remise u všech pacientů. U 9 pacientů došlo v průběhu 4–36 měsíců po ukončení léčby k exacerbaci onemocnění. U 11 pacientů bylo onemocnění komplikováno aneurysmatem břišní aorty, resp. periarteritidou.

Závěr

Autoři v prezentaci podávají přehled více než 20letých zkušeností s diagnostikou a léčbou idiopatické retroperitoneální fibrózy. Nezbytnou nutností péče o tyto pacienty je interdisciplinární spolupráce. Na vybraných kazuistikách jsou dokumentována úskalí diagnostiky a léčby u těchto nemocných.

HAE – ÚSKALÍ V LÉČBĚ A NAŠE ZKUŠENOSTI

Teplá I.

Ústav klinické imunologie a alergologie, Fakultní nemocnice Hradec Králové

Hereditární angioedém (HAE) patří mezi autozomálně dominantně děděné onemocnění.

Je charakteristické opakujícími se nesvědivými otoky podkoží a sliznic, otoky různé intenzity a délkou trvání. Lanadelumab je monoklonární protilátkou registrovanou pro dlouhodobou profylaxi HAE a také nabízí možnost volby pro pacienty s anamnézou četných nebo závažných atak.

V našem centru ve FN HK je aktuálně dispenzarizováno 33 pacientů, přičemž 7 z nich absoluuje léčbu lanadelumabem. Profylaxe berotralstatem či plazmatickým C1 inhibítorem pro subkutánní podání se u dvou pacientů nesetkala s takovou účinností, jakou jsme očekávali.

Faktem však zůstává, že vhodně zvolená dlouhodobá profylaxe vede k významné redukci či dokonce vymizení atak.

HYPEREOZINOFILNÝ SYNDRÓM VO SVETLE NOVÝCH MOŽNOSTÍ LIEČBY – KAZUISTICKÁ SÉRIA

Urdová V.^{1,2,3}, Wild A.⁴, Podmanická Z.⁵, Jeseňák M.^{1,3,6}

¹ Klinika pneumológie a ftizeológie, Jesseniova lekárska fakulta Univerzity Komenského, Univerzitná nemocnica Martin

² II. interná klinika, Slovenská zdravotnícka univerzita, Fakultná nemocnica s poliklinikou F. D. Roosevelta, Banská Bystrica

³ Oddelenie klinickej imunológie a alergológie, Univerzitná nemocnica Martin

⁴ Hematologické oddelenie, Fakultná nemocnica s poliklinikou F. D. Roosevelta, Banská Bystrica

⁵ II. detská klinika, Slovenská zdravotnícka univerzita, Detská fakultná nemocnica s poliklinikou Banská Bystrica

⁶ Klinika detí a dorastu, Jesseniova lekárska fakulta Univerzity Komenského, Univerzitná nemocnica Martin

Hypereozinofília je definovaná ako zvýšený počet eozinofilov v periférnej krvi (nad $1,5 \times 10^9/L$). Môže viesť k poškodeniu a dysfunkcii tkanív a orgánov.

Pre stanovenie diagnózy primárneho hypereozinofilného syndrómu (HES) je nutné vylúčiť sekundárne príčiny eozinofílie, ako sú infekčné, alergické, autoimunitné, onkologické a iné ochorenia. Ide o raritnú, avšak potenciálne veľmi závažnú diagnózu.

Podľa aktuálnej klasifikácie eozinofilových ochorení WHO je HES definovaný ako pretrvávanie eozinofílie nad $1,5 \times 10^9/L$ viac ako 4 týždne, orgánové poškodenie a dysfunkcia spôsobená infiltráciou eozinofilmi s vylúčením sekundárnej príčiny.

Z primárnych hypereozinofilných syndrómov hovoríme o myeloidnom a lymfoidnom klonálnom HES a idiopatickom HES. V diagnostickom procese je v prvom rade potrebné zamerať sa na skríning prítomnosti fúzneho génu FIP1L1: PDGFRA v periférnej krvi alebo v kostnej dreni. Z iných molekulárnych abnormalít sa môžu vyskytovať PDGFRB, FGFR1, JAK2 alebo FLT3 fúzny gén.

Tieto somatické mutácie sú spojené s myeloidným variantom HES. V liečbe sa okrem imunosupresív a cytoredukčnej liečby hydroxyureou úspešne uplatňuje tyrozínkinázový inhibítor imatinib. Lymfoidný variant HES je

charakterizovaný klonálnou proliferáciou T- lymfocytov a najčastejšie je úspešne liečený kortikoterapiou.

V prípade, že nie je potvrdená sekundárna ani klonálna primárna príčina eozinofilie, ochorenie nazývame idiopatický HES. V liečbe tohto typu je indikovaná v prvom kroku kortikoterapia, ktorá obvykle vedie k rýchlej redukcii počtu eozinofilov a zlepšeniu klinického stavu, avšak dlhodobé podávanie je spojené s výraznými nežiaducimi účinkami. Aktuálne odporúčania poukazujú na výbornú efektivitu liečby namierenej proti interleukínu 5 – mepolizumab, a to v dávke 300 mg mesačne u pacientov starších ako 18 rokov.

V našej práci prezentujeme sériu 3 kazuistik pacientov s primárnym hypereozinofilným syndrómom: V prvom prípade išlo o 23-ročného pacienta s potvrdeným PDGFRA pozitívnym myeloidným HES so závažným poškodením srdca, obličiek a pečene, prejavmi status asthmaticus a epilepticus, ktoré viedli ku kóme a respiračnému zlyhaniu s potrebou umelej pľúcnej ventilácie. Komplexná liečba, cyto redukcia ani imunosupresia nevedla k zlepšeniu, preto bola zahájená liečba imatinibom s veľmi dobrým efektom a návratom pacienta do aktívneho života.

Ďalší dvaja prezentovaní pacienti boli liečení pre idiopatický HES. Išlo o 49-ročnú ženu s potvrdenou eozinofilnou myokarditídou s prejavmi zlyhávania srdca a 9-ročného chlapca s eozinofilovou infiltráciou pažeráka a masívnym eozinofilným ascitom. Závažné orgánové poškodenie viedlo k vysokodávkovanej kortikoterapii a imunosupresii, avšak pri redukcii tejto liečby bol zaznamenaný opätovný vzostup eozinofilov a zhoršenie stavu, preto bola indikovaná liečba mepolizumabom (off-label režim vzhľadom na vek 12 rokov v čase iniciácie liečby). Tá viedla k redukcii počtu eozinofilov a zlepšeniu klinického stavu, je stabilizovaný doteraz. U všetkých pacientov bolo možné popri liečbe mepolizumabom vysadiť kortikoidy ako aj imunosupresívnu liečbu.

Kľúčové slová: hypereozinofilný syndróm, imatinib, mepolizumab.

INHIBIČNÝ TEST PRO STANOVENÍ OCHRANNÝCH PROTILÁTEK U PACIENTŮ LÉČENÝCH SPECIFICKOU ALERGENOVOU IMUNOTERAPIÍ – ELIFAB

Vlas T.^{1,2}, Ochotná J.², Bojčuková J.¹, Vachová M.^{1,2}, Panzner P.^{1,2}

¹ Ústav imunologie a alergologie FN Plzeň

² Ústav imunologie a alergologie LF UK v Plzni

Východisko

Alergie na jed blanokřídlého hmyzu je jednou z nejčastějších příčin anafylaktické reakce. Jako prevence další závažné reakce po bodnutí hmyzem je doporučena imunoterapie hmyzím jedom (VIT). Účinnost alergen-specifické imunoterapie hmyzím jedom je prokázána, ale doposud chybí vhodné biomarkery pro předvídání klinické odpovědi po alergenové imunoterapii.

Mezi potenciální biomarkery se zahrnují alergen specifické IgE (sIgE), poměr sIgE k celkovému IgE, poměr sIgE k alergen-specifickým IgG4 (sIgG4), testy aktivace bazofilů, hladiny některých cytokinů, sérová inhibiční aktivita pro IgE, buněčné markery a provokační testy. Test ELIFAB (enzyme-linked immunosorbent facilitated antigen binding) je jedním z testů používaných pro stanovení inhibiční aktivity séra vůči sIgE.

Cíl

Navrhnout a ověřit postup vazby rekombinantního proteinu CD23 na povrch mikrotitrační destičky. Ověřit tvorbu komplexů alergen Ves v5 – sIgE a detekovat jejich vazbu na CD23. Následně pak ověřit, zda ve vzorcích séra pacientů před alergen-specifickou imunoterapií hmyzím jedom a po ní detekujeme inhibiční aktivitu cílenou proti alergen specifickým IgE protilátkám.

Metodika

Jde o čtyřvrstvý sendvičový ELISA test, kde se sérové IgE protilátky přemostěné alergenem vážou na rekombinantní protein CD23, navázaný na povrchu mikrotitrační destičky; tato vazba je pak detekována pomocí anti-human IgE protilátky s navázaným biotinem a následně vazby křenové peroxidázy pomocí streptavidinu na tento komplex. Po přidání chromogenního substrátu 3,3',5,5'-tetramethylbenzidinu a zastavení barevné reakce kyselinou sírovou je následně změřena optická denzita vzorku.

Závěr

Ověřili jsme vazbu sCD23 na povrch mikrotitrační destičky a následnou dostatečně afinní vazbu komplexu alergen-specifické IgE na tento CD 23. Vazbu jsme detekovali fotometricky. Největší komplikací pro provedení metody bylo získání dárcovského séra s vysokými hladinami alergen-specifických IgE (> 100 kIU/l). Během testování jsme stanovili změny v inhibiční aktivitě před zahájením specifické alergenové imunoterapie a po jejím ukončení.

Výzkum byl podpořen projektem institucionálního výzkumu MZČR – FNPI, 00669806.

Posterová sekce II.

PROTILÁTKY IGA PROTI B2 – GP I A OSTATNÍ APA U SNÍŽENÉ PLODNOSTI

Bibková K., Mičanová Z., Štampachová K., Ulčová-Gallová Z., Lošan P.

Next Clinics, Genetika Plzeň, s. r. o.

Cíl

Právě $\beta 2$ glykoprotein I (GP I) je klinicky považován za primární antigen autoimunitního antifosfolipidového syndromu (APS), který je v gynekologii charakterizován těhotenskou morbiditou a vaskulární trombózou. Běžně se sledují hodnoty izotypu IgG a IgM. My jsme se ale zaměřili u náhodně vybraných pacientek na IgA protilátky proti $\beta 2$ – GP I k ostatním antifosfolipidovým protilátkám (APA).

Materiál a metody

Vybrali jsme 123 pacientek (průměrný věk 34 let, rozmezí 46–21 let) s anamnézou 1–8 těhotenských ztrát (missed abortion, intrauterinní odumření plodu, spontánní potrat, preeclampsia) s přítomnými IgA protilátkami proti $\beta 2$ – GP I, které jsme vyšetřovali komerční ELISA metodou. Zároveň jsme se zaměřili i na IgG protilátky proti $\beta 2$ – GP I a dalších dvanáct různých IgG a IgM APA (kardiolipin, kyselina fosfatidová, ph-serin, ph-ethanolamin, ph-inositol, anexin V, ph-glycerol).

Výsledky

Vysoce pozitivní IgA protilátky proti $\beta 2$ – GP I mělo 109 (88 %) pacientek, z nich pak protilátka byla samostatně přítomná u 37 žen (34 %), spolu se dvěma až čtyřmi jinými APA byla nalezena u 72 pacientek (66 %). Všimli jsme si i přítomnosti izolovaných protilátek IgG proti $\beta 2$ – GP I u 37 žen (30 %); IgA a IgG společně s jednou až třemi pozitivními APA se vyskytly jen u 19 pacientek (15 %) z celkového počtu.

Závěr

Sledování APA s ostatními imunologickými výsledky je velmi důležité spolu s celkovým stavem a anamnézou pacientky. Jen jednotlivý výsledek je němý.

V posledních letech se klinický význam anti IgA $\beta 2$ – GP I zvýšil: **pozitivní hodnoty jsou podezřelé z vazby k trofoblastům, k buňkám endometria, které by mohly bránit implantaci.** Aktivace komplementu a zvýšená apoptóza embryonálních a placentárních buněk vede k opakovaným časným potratům, ztrátě plodu, preeklampsii a placentární insuficienci.

SROVNÁNÍ METOD BLASTICKÉ TRANSFORMACE LYMFOCYTŮ

Vlas T., Havlíčková M., Pomahačová Š.

Ústav imunologie a alergologie FN Plzeň

Východisko

Test blastické transformace (LBT) stanovuje proliferaci T-lymfocytů in vitro po jejich stimulaci různými produkty – antigeny, mitogeny. Kromě schopnosti

T-lymfocytů proliferovat můžeme sledovat i odraz v zastoupení jednotlivých lymfocytárních subpopulací. Standardně se od 50. let 20. století využívá thymidinový test, při kterém je měřena inkorporace radioaktivně značeného ^3H -thymidinu do DNA proliferačních lymfocytů; výsledek je hodnocen scintilačním analyzátozem.

S rozvojem nových technologií se však objevují nové indikátory proliferace a metody jejich měření. Kolorimetrické metody využívají inkorporace syntetického nukleosidu bromo-2'-deoxyuridin (BrdU), prekurzoru thymidinu. Metody průtokové cytometrie využívají KI-67 nebo propidiumjodid (PI).

Právě LBT se využívá pro diagnostiku vrozených imunodeficiencí, sledování účinnosti imunosupresivní léčby u pacientů po transplantaci kostní dřeně nebo monitorování pacientů s AIDS. Dále se využívá při experimentálním sledování účinnosti protinádorové terapie.

Cíl

Cílem této práce je porovnání metody využívající zobrazení pomocí mikroskopické techniky a metod využívajících značení pomocí KI-67 a PI.

Metodika

Sledovaný soubor tvoří 42 pacientů, 27 z nich je léčeno imunosupresí, 15 pacientů tvoří zdravou kontrolní skupinu. Odebrané vzorky krve byly inkubovány ve zkumavkách 72 hodin v inkubátoru při 37 °C a 5 % CO_2 s přidavkem mitogenu PHA o koncentraci 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$. U každého vzorku jsme stanovili proliferační potenciál na základě značení transformovaných buněk metodou KI-67 a PI.

Pro vzorky značené PI jsme využili BD Cycletest™ Plus DNA Kit, obsahující trypsin, inhibitor trypsinu a PI. Pro stanovení metodou KI-67 byla použita metoda intracelulárního značení směsí monoklonálních protilátek CD4 FITC, CD3 PB, CD45 KO, KI-67 PE. Vzorky, které byly značeny PI a KI-67, byly hodnoceny průtokovou cytometrií. Dále jsme zhodnotili nátěr v optickém mikroskopu pomocí barvení podle Giemsy.

Výsledky

Korelace výsledků měření mezi vzorky značenými PI a KI-67 je 0,74 ($p < 0,01$), mezi vzorky značenými PI a hodnocenými optickým mikroskopem je 0,55 ($p < 0,01$), mezi vzorky značenými KI-67 a hodnocenými optickým mikroskopem je 0,73 ($p < 0,01$).

Závěr

Srovnání naměřených výsledků nám ukazuje, že rozdíly mezi značením pomocí PI a KI-67 jsou minimální, a obě metody lze tedy s výhodou použít v rutinním stanovení. Metoda značení pomocí KI-67 se jeví výhodnější, protože nepracuje s potencionálně karcinogenním PI a vzhledem k nastupující legislativě IVDR nevyžaduje ani zvláštní software pro hodnocení. Nejvyšší rozdíly byly zaznamenány v hodnocení nátěru pomocí mikroskopické techniky, které je poměrně subjektivní a vyžaduje zkušeného laboratorního pracovníka pro vyhodnocení.

V súčasnej dobe pracujeme na prevozu metódy do podoby „in-house“ testu podľa IVDR.

HODNOTENIE STAVU T-LYMFOCYTOV U NOVORODENCOV NA NOVORODENECKEJ KLINIKE INTENZÍVNEJ MEDICÍNY

Hulínková I.¹, Medová V.², Šoltýsová A.², Dobšínska V.³, Čižnár P.¹

¹ *Detská klinika Lekárskej fakulty Univerzity Komenského a Národného ústavu detských chorôb v Bratislave*

² *Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislave*

³ *Transplantačná jednotka kostnej drene, Klinika detskej hematológie a onkológie Lekárskej fakulty Univerzity Komenského a Národného ústavu detských chorôb v Bratislave*

Cieľ

Práve TREC (T-cell receptor excision circles) predstavujú senzitívny marker produkcie lymfocytov týmusom, používaný pri novorodeneckom skríningu závažnej T-bunkovej lymfopénie. V našej štúdií bola kvantifikácia TREC pomocou PCR navrhnutá ako marker v rôznych primárnych a sekundárnych stavoch v populácii novorodencov bez SCID s vysokým rizikom.

Materiál a metódy

V priebehu rokov 2015 – 2018 sme odobrali 207 vzoriek suchých kvapiek krvi rizikových novorodencov prijatých na Novorodeneckú kliniku intenzívnej medicíny. Stanovili sa hodnoty TREC vypočítané na 10⁶ buniek a nastavili sa hraničné hodnoty 5. percentilu. Pozitívnu kontrolnú skupinu tvorili pacienti (n=13) s geneticky potvrdeným SCID.

Výsledky

Medián hodnoty TREC bol 34 591,56 (18 074,08 – 60 228,58) u dievčat, resp. 28 391,20 (13 835,01 – 51 835,93) na 10⁶ buniek pre chlapcov, p < 0,05. Zistilo sa, že novorodenci narodení cisárskym rezom majú vyššie hladiny TREC v porovnaní s novorodencami narodenými spontánnym pôrodom (p = 0,018); 3,8 % detí v skupine predčasne narodených novorodencov (n = 104) malo hodnotu TREC < 5. percentil; polovica z nich zomrela na sepsu, na rozdiel od žiadnej fatálnej komplikácie u detí s hodnotou TREC ≥ 5. percentil. V skupine donosených novorodencov (n = 103) malo 9 detí (8,7 %) TREC < 5. percentil, polovica z nich bola liečená pre asfyxiu, bez fatálnych komplikácií.

Záver

Hladiny TREC s prepočítaním na 5. percentil u vysoko rizikovej novorodeneckej skupiny sa navrhujú ako náhradný marker zvýšeného rizika fatálnych septických komplikácií. Včasné rozpoznanie týchto novorodencov v rámci systému hodnotenia rizika pomocou TREC by mohlo viesť k potenciálne život zachraňujúcim zásahom.

LYZÁT BAKTERIE PARABACTEROIDES DISTASONIS SNIŽUJE ZÁVAŽNOSŤ EXPERIMENTÁLNEJ AUTOIMUNITNEJ ENCEFALOMYELITIDY MODULACIÍ IMUNITNEJ ODPOVĚDI T-BUNĚK NA AUTOANTIGENY

Jirásková Z.¹, Kraus M.¹, Coufal Š.¹, Procházková P.¹, Slavíčková Ž.¹, Thon T.¹, Hrnčíř T.², Kreisinger J.³, Kostovčíková K.¹, Kleinová P.⁴, Lízrová Preiningerová J.⁴, Tichá V.⁴, Kovářová I.⁴, Kubala Havrdová E.⁴, Tlaskalová-Hogenová H.¹, Kverka M.^{1*}

¹ *Laboratoř buněčné a molekulární imunologie, Mikrobiologický ústav AV ČR, v. v. i., Praha*

² *Laboratoř gnotobiologie, Mikrobiologický ústav AV ČR, v. v. i., Nový Hrádek*

³ *Laboratoř evoluční biologie živočichů, Přírodovědecká fakulta UK, Katedra zoologie, Praha*

⁴ *Neurologická klinika a Centrum klinických neurověd I. LF UK a VFN, Praha*

Úvod a cíl

Střevní mikrobiota významně ovlivňuje reaktivitu imunitního systému. Jednou z komenzálních střevních bakterií známých svým protizánětlivým účinkem je druh *Parabacteroides distasonis*.

Cílem této práce bylo zjistit, zda preventivní podávání lyzátu bakterie *P. distasonis* (Pd) ovlivní průběh experimentální autoimunitní encefalomyelitidy (EAE) a zda je tento efekt spjatý se změnou imunitní odpovědi a změnou ve složení střevní mikrobioty.

Materiál a metody

Anaerobně nakultivovaný Pd jsme mechanicky rozdrtili metodou French Press a podávali myším kmene C57BL/6 pomocí žaludeční sondy ve čtyřech dávkách (1,5 mg/dávka) s týdenním odstupem. Poté jsme indukovali EAE subkutánní aplikací emulze peptidu myelinového oligodendrocytárního glykoproteinu s kompletním Freundovým adjuvans, spojené s intraperitoneální aplikací toxinu *Bordetella pertussis*.

V následujících třech týdnech jsme porovnávali míru neurologického postižení těchto zvířat s těmi, která dostávala pouze placebo (fyziologický roztok). Sekvenací 16S V3-V4 ampikonů qPCR jsme analyzovali změny ve složení střevní mikrobioty. Produkci defensinů jsme stanovili pomocí qPCR. Imunitní odpověď v mezenterálních a inguinálních uzlinách jsme analyzovali pomocí průtokové cytometrie.

Výsledky

Perorální podávání lyzátu Pd významně oddálilo incidenci prvních příznaků EAE a snížilo její celkovou závažnost. Indukce EAE byla hlavním faktorem vedoucím ke změnám ve složení střevní mikrobioty. Pozorovali jsme snížení přítomnosti laktobacilů a segmentovaných filamentózních bakterií. Lyzát Pd zvýšil přítomnost rodů *Anaerostipes*, *Parabacteroides* a *Prevotella* a ovlivnil expresi antimikrobiálních peptidů ve střevní sliznici. Podávání lyzátu Pd významně zvýšilo expresi regulačních T-lymfocytů a indukovalo protizánětlivé prostředí v mezenterálních lymfatických uzlinách, zároveň snížilo podíl aktivaci T-lymfocytů v inguinálních uzlinách.

Závěr

Preventivní podávání lyzátu *Parabacteroides distasonis* snižuje závažnost EAE indukci T-regulační odpovědi a modulaci imunitní odpovědi T-buněk na autoantigeny. Lyzáty Pd by se tak mohl v budoucnu stát modulatorem autoimunitního zánětu centrálního nervového systému, například v případě roztroušené sklerózy.

Tato studie byla podpořena grantem Ministerstva zdravotnictví České republiky, grant č. NU20-04-00077 a Akademii věd ČR, prémie Lumina quaeruntur č. LQ200202105.

ANTIVIROTICKÝ POSTUP PROTI COVID-19 A OSTATNÍM RNA-VIRŮM

Křístek J.

Karlovarské imunologické centrum, s. r. o.

Genom u COVID-19 představuje lineární vlákno RNA: RNA má pozitivní polaritu a slouží jako messenger RNA. Po uvolnění z kapsidy si virová nukleová kyselina podřídí metabolismus buňky, tak aby tvořila místo svých bílkovin a nukleových kyselin bílkoviny a nukleové kyseliny viru. To je umožněno činností RNA-dependentní RNA-polymerázy, RdRp, která je zodpovědná za replikaci virového genomu. Aktivní centrum RdRp je tvořeno sub-doménami Finger, Palm a Thumb, která umožňují rozlišení mezi NTP a deoxyNTP, čímž je zajištěna syntéza RNA podle RNA-templátu (Pathania et al., 2022).

Na základě údajů uvedených zmíněnými autory byl navržen master mix, který se skládá z ribonukleotid trifosfátů, NTP (správné sekvence) a deoxynukleotid fosfátů, dNTP, kde je postupně vždy jeden NTP nahrazen deoxyNTP, což by v důsledku mělo vést k oslabení syntézy nových vláken RNA.

Např. ATP TTP GTP CTP TNT + vlákno

dUTP dATP dCTP dGTP dATP

Ve zmíněném antivirotickém postupu navrhuji Master mix, který se skládá z ribonukleotid trifosfátu (správné sekvence) a deoxynukleotid fosfátů; zmíněný mix pak vyzkoušet na tkáňových kulturách laboratorních zvířat a posléze aplikovat pacientům s COVID-19, včetně nově popsané varianty COVID Flirt, MERS, virů influenzy, RS viru a ostatních RNA virů.

LITERATURA

Coronaviry přenosné na člověka. Laboratorní listy. 2022; 2.

Pathania S., Rawal RK, Singh PK. RdRp (RNA-dependent RNA polymerase): A key target providing anti-virals for the management of various viral diseases. Journal of Molecular Structure. 2022; 1250: 131756.

Hopkins J. What to know about COVID FLIRT Variants. Available from <https://publichealth.jhu.edu>

ANTIVIROTIC PROCEDURE AGAINST COVID-19 AND OTHER RNA VIRUSES

Genome COVID-19 consists of linear strand of RNA, having plus polarity. It serves as messenger RNA. After

releasing from capsid viral nucleic acid subordinates metabolism of cell to form nucleic acids, proteins for virus. It enables activity of RNA dependent RNA polymerase, RdRp. Its domain consists of finger, palm and thumb that can discriminate of nucleotide trifosphate and deoxy nucleotide trifosphate, NTP and dNTP that ensures proper synthesis of RNA. According to these data it was proposed composition of master mix, for example:

ATP TTP GTP CTP TNP + strain

dUTP dATP dCTP dGTP dATP

Such antiviral procedure would be examined in tissue culture cells and probably also in animals.

STANOVENÍ CD57 NA LYMFOCYTECH U ZDRAVOTNICKÝCH PRACOVNÍKŮ V KONTEXTU PANDEMIE COVID-19

Lochmanová A.^{1,2}, Martinek J.^{1,3}, Tomášková H.^{1,3}

¹ OIA, Zdravotní ústav Ostrava

² Ústav laboratorní diagnostiky, LF OU

³ Ústav epidemiologie a ochrany veřejného zdraví, LF OU

Populace T-buněk hraje významnou roli v patogenezi řady onemocnění nebo stavech spojených s chronickou imunitní aktivací. Chronická antigení stimulace vede k postupné akumulaci pozdně diferencovaných, antigeně specifických, oligoklonálních T-lymfocytů, které bývají spojovány s povrchovou expresí CD57.

Cíl

Původně bylo naším cílem zjistit, zda existuje nějaká spojitost mezi infekcí/očkováním SARS-Cov2 a expresí CD57+ na T-lymfocytech. Vycházeli jsme ze studie, která primárně porovnávala testy hodnotící specifickou imunitu proti SARS-CoV-2 zprostředkovanou T-buňkami prostřednictvím produkce IFN- γ , resp. Quan-T-Cell a T-SPOT. COVID.

Materiál a metody

Do studie bylo zařazeno 77 zdravotnických pracovníků: zahrnovala jedince neočkované, očkované, kteří byli v minulosti pozitivně testováni na SARS-CoV-2, a očkované, kteří nikdy nebyli pozitivně testováni. Imunofenotypizační vyšetření zahrnovalo zastoupení CD57+ na celkových CD3+ T-lymfocytech a subpopulacích pomocných CD4+ a cytotoxických CD8+ T-lymfocytů.

Výsledky

Frekvence exprese CD57 na celkových CD3+ T-lymfocytech se pohybovala nejčastěji mezi 20–30 %. Zvýšený nárůst exprese CD3+CD57+ byl pozorován u malého počtu jedinců a markantnější byl v případě cytotoxických CD8+ T-lymfocytů, kde byl provázen i zvýšeným zastoupením CD8+ T-lymfocytů obecně.

Závěr

Soubor vyšetřených jedinců se ukázal jako značně heterogenní, a na rozdíl od specifické imunitní odpovědi realizované prostřednictvím IGRA testů nepřineslo sledování CD57 k této problematice jednoznačný přínos. Exprese CD57 byla s různou intenzitou vázána na všechny vyšetřované skupiny. V rámci naší sledované skupiny jsme jednoznačně nepotvrdili stoupající frekvenci tohoto znaku s věkem. Na zvýšení počtu CD57 T-lymfocytů

v periferní krvi se může podílet i fyzický a emocionální stres.

SUBSETY B-LYMFOCYTŮ V TRANSPLANTOLOGII LEDVIN

Malá E., Krejsek J., Králíčková P.

Ústav klinické imunologie a alergologie, Fakultní nemocnice a LF v Hradci Králové (UK)

Cíl

B-lymfocyty (BL) jsou potentní regulátory tolerance transplantované ledviny příjemcem. Cílem sledování byla analýza vztahů subsetů BL porovnáním tří skupin transplantovaných pacientů (KTRs) se zdravou populací (HCs) a ESKD (end-stage kidney disease), protože nalezení klíčových vazeb by mohlo být novým nástrojem pro vývoj léčebných strategií, redukci IS, zlepšení dlouhodobého přežití graftu. Analýza subsetů BL v klinickém monitorování není rutinně zavedena.

Materiál a metody

Celkem 83 pacientů KTRs bylo rozděleno: 1. KTRs se stabilním grafterem > 10 let po 1. transplantaci ledviny (LTG-KTRs, N=29), 2. KTRs se stabilním grafterem 1–9,99 let po 1. transplantaci (SG-KTRs, N=40), 3. KTRs s akutní humorální rejekcí (AR-KTRs, N=14). Subsety BL KTRs byly porovnány s HCs (N=13) a ESKDs (N=13). Vyšetření subsetů BL bylo provedeno cyto-flow-metrií.

Výsledky

Statisticky významné nejvyšší zastoupení BL (CD19⁺) bylo prokázáno v LTG-KTRs a HCs. Signifikantně nejvyšší zastoupení transitional (TCs, CD19⁺CD27⁺CD24⁺CD38^{high}IgM⁺) a naivních BL (Naive, CD19⁺CD27⁺IgD⁺) bylo zaznamenáno v LTG-KTRs a SG-KTRs, v porovnání s AR-KTRs, HCs a ESKDs. Signifikantní rozdíl mezi LTG-KTRs a AR-KTRs byl s poklesem o > 75 %. Všechny skupiny KTRs měly shodně prokázáno signifikantní snížení UN (unswitched, CD19⁺CD27⁺CD38⁺IgM⁺), ISM (isotype switched BL, CD19⁺CD27⁺CD38⁺IgD⁺IgM⁻) a MZ (marginal zone BL, CD19⁺CD27⁺IgD⁺) v porovnání s HCs a ESKDs (hraniční statistická významnost). Statisticky významně nejvyšší zastoupení PCs (plasma cells, CD19⁺CD27^{high}CD38^{high}IgD⁺IgM⁻) bylo prokázáno ve skupinách AR-KTRs, ESKDs a HCs, naopak signifikantně nejnižší zastoupení PCs v LTG-KTRs a SG-KTRs.

Závěry

Statisticky signifikantní výsledky post-transplantačně stabilních skupin KTRs při srovnání s rejekční AR-KTRs jsou možným, racionálním a slibným výsledkem pro další, rozsáhlejší práce, které by mohly být skutečně přínosem v dlouhodobém sledování a při hledání nových biomarkerů post-transplantační stability a funkčnosti graftu.

IMUNOGENITA A ÚČINNOST OČKOVÁNÍ PROTI KLÍŠŤOVÉ ENCEFALITIDĚ U VOJENSKÝCH PROFESIONÁLŮ

Malíková M., Siráková L., Hanovcová I., Smetana J., Chlíbek R.

Katedra epidemiologie, Vojenská lékařská fakulta, Univerzita obrany, Brno

Cíl

Klíšťová encefalitida je závažné infekční onemocnění virového původu. Virus klíšťové encefalitidy je **flavivirus**, který je přenášen klíšťaty rodu *Ixodes* spp. v rozsáhlé oblasti od západní Evropy až po východní pobřeží Japonska. Klimatické změny, pracovní expozice i volnočasové aktivity zvyšují pravděpodobnost přisátí infikovaného klíštěte, a přispívají tak k nárůstu případů i navzdory dostupnosti účinných vakcín. Zejména vojáci z povolání jsou díky výcviku a působení v přírodě vysoce exponováni. Hlavním cílem výzkumu bylo zhodnocení imunogenity a účinnosti očkování proti klíšťové encefalitidě právě u vojáků z povolání.

Materiál a metody

V průběhu výzkumu probíhaly jednorázové odběry krve u vojáků z povolání, kteří byli očkováni vakcínou proti klíšťové encefalitidě. Současně vojáci vyplňovali i dotazník o očkování proti klíšťové encefalitidě, díky kterému byla získána přesná data o provedení vakcinace a také míra expozice klíšťatům a klíšťové encefalitidě. V získaných vzorcích byly stanoveny hladiny IgG protilátek a jejich avidita metodou ELISA. Získané výsledky byly analyzovány a vyhodnoceny v souvislosti se získanými daty o očkování (jako jsou typ aplikované vakcíny, vakcinační schéma, počty aplikovaných dávek, doba od aplikace poslední dávky vakcíny).

Výsledky

Celkem bylo zpracováno 808 sér. U vojáků s nedokončeným základním schématem 3. dávek očkování proti klíšťové encefalitidě byla protektivní hladina IgG protilátek zjištěna pouze u 50 %. Vojáci s 3. a 4. dávkami byli séropozitivní v 85–90 %. Téměř 100% séropozitivity bylo dosaženo v případě aplikace 5. a více než páté dávky. V případě avidity protilátek byly výsledky podobné a odvíjely se od počtu aplikovaných dávek vakcíny. Po 3. a více dávkách byly vysokoavidní protilátky zaznamenány u více než 85 % sér.

Závěry

U většiny vojáků, kteří absolvovali základní očkování, byly stanoveny protektivní hladiny IgG protilátek proti klíšťové encefalitidě. Je ovšem nutné zlepšit evidenci očkování a dodržovat očkovací schémata. Před výjezdem na mise do endemických zemí je třeba mít dokončené základní schéma očkování proti klíšťové encefalitidě, aby byla zajištěna protektivní hladina IgG protilátek.

NEURO-IMUNOLOGICKÁ REGULÁCIA: VARIABILITA SRDCOVEJ FREKVENCIE A IMUNO-ZÁPALOVÁ AKTIVITA U PACIENTOV S KARCINÓMOM MOČOVÉHO MECHÚRA

Mikolaskova I.¹, Zvarik M.², Szaboova K.³, Tibenská E.³, Durmanova V.¹, Suchankova M.¹, Kollarik B.⁴, Hesko P.⁴, Hunakova L.¹, Bucová M.¹

¹ *Imunologický ústav Lekárskej fakulty, Univerzita Komenského v Bratislave*

² *Katedra jadrovej fyziky a biofyziky, Fakulta matematiky, fyziky a informatiky, Univerzita Komenského v Bratislave*

³ *Medirex, s. r. o., Bratislava*

⁴ *Urologické oddelenie, Nemocnica svätého Cyrila a Metoda, Bratislava*

Ciele

Karcinóm močového mechúra (KMM) je častým zhubným nádorom urinárneho traktu s vysokou mierou recidív. Periférne stresové reakcie zvyšujú hladiny imuno-zápalových cytokínov, ktoré môžu ovplyvniť výsledky liečby nádorového ochorenia. Výskumy poukazujú na negatívny vplyv chronickej sympatickej a neuroendokrinnnej aktivácie na funkciu imunitného systému. Naopak, aktivácia vagového nervu má významné imunomodulačné účinky, ktoré pôsobia proti zápalu. Cieľom tejto klinickej štúdie bolo preskúmať hladiny špecifických imuno-zápalových parametrov a rovnováhu autonómneho nervového systému (ANS) prostredníctvom hodnotenia variability srdcovej frekvencie (HRV) u pacientov s KMM v porovnaní so zdravými kontrolami; HRV umožňuje posúdiť zmeny v parametroch spojených s aktivitou ANS (úroveň stresu).

Metódy

Do štúdie bolo zaradených 57 pacientov podstupujúcich transuretrálnu resekciu nádoru močového mechúra (TURBT) a 62 zdravých kontrol. Vzorky krvi boli analyzované pre imuno-zápalové parametre vrátane TREM-1 a TREM-2 (trigger receptors expressed on myeloid cells-1,-2) pomocou prietokovej cytometrie. Sérové hladiny solubilných TREM-1 a TREM-2, MCP-1 (monocyte chemotactic protein-1), fractalkine/CX3CL1, BDNF (brain-derived neurotrophic factor), IFN- γ (interferon gamma) a IL-10 (interleukin 10) boli merané pomocou testu ELISA (FineTest, Čína). Päťminútové záznamy EKG pre hodnotenie HRV boli získané pred TURBT. Biomarkery z kompletného a diferenciálneho krvného obrazu boli získané pomocou automatizovaného hematologického analyzátoru.

Výsledky

Pacienti s KMM preukázali odlišný imunitný profil v porovnaní so zdravými kontrolami. Tento profil sa vyznačoval signifikantne vyšším pomerom TREM-1/TREM-2 (% MFI) na CD14+ monocytoch; TREM sa ukázali ako silné regulátory vrodenej imunitnej odpovede, ich zvýšená expresia môže byť spojená s robustnou zápalovou odpoveďou a progresiou ochorenia.

U pacientov s KMM bol pozorovaný aj trend zvýšenej sérovej koncentrácie solubilnej formy TREM-1 a sTREM-1/sTREM-2. Okrem toho mali pacienti s KMM

signifikantne vyššie sérové hladiny BDNF a MCP-1 pro-zápalového chemokínu, zatiaľ čo hladiny IFN- γ cytokínu Th1-imunity a IL-10 Th2 regulačného a protizápalového cytokínu boli signifikantne nižšie. V porovnaní so zdravými kontrolami boli u pacientov s KMM pozorované signifikantne nižšie pomery krvných buniek k monocytom LMR a PMR. Pomery PMR a NMR boli navyše signifikantne nižšie u pacientov so svalovinu infiltrujúcim KMM (štádiá > pT2) v porovnaní s pacientmi s nižšími štádiami ochorenia.

HRV parametre asociované s prevahou sympatika (SNS a Stres index, priemerná srdcová frekvencia) boli zvýšené u pacientov s KMM, naopak vagálne-asociované HRV parametre (SDNN, RMSSD, PNS index, 2UV) boli výrazne nižšie u pacientov v porovnaní so zdravými kontrolami. Asociácie medzi imunitnými parametrami a parametrami HRV odhalili pozitívne korelácie medzi sTREM-1 a sTREM-1/sTREM-2 a SNS-indexom, Stress-indexom a priemernou srdcovou frekvenciou, čo naznačuje možný vzťah medzi zvýšenou aktivitou sympatika a zápalovou reakciou u pacientov s KMM.

Záver

Táto štúdia naznačuje prepojenie medzi zápalom, poruchami imunitnej funkcie a zvýšeným vplyvom sympatického nervového systému u pacientov s KMM. Tieto faktory by mohli ovplyvňovať priebeh a prognózu ochorenia. Spojenie hodnotenia HRV s imuno-zápalovými parametrami môže priniesť cenné poznatky pre komplexnú liečbu pacientov s KMM. Ďalší výskum je však potrebný na overenie diagnostického a prognostického prínosu týchto parametrov. Získané poznatky by sa dali využiť pri navrhovaní personalizovaných intervenčných stratégií zameraných na zvládanie stresu a posilnenie oslabenej autonómnej a imunitnej regulácie u pacientov s KMM.

Podakovanie

Autori ďakujú za podporu Ministerstvu školstva, vedy, výskumu a športu SR, číslo grantu VEGA 1/0090/22 a Agentúre na podporu výskumu a vývoja, číslo grantu APVV-22-0231.

STANOVENÍ PROTLÁTEK PROTI SARS-COV-2 V IMUNOGLOBULINOVÝCH PŘÍPRAVCÍCH

Novák V.¹, Martinek J.^{1,2,3}, Zelená H.⁴

¹ *Oddělení imunologie a alergologie, Zdravotní ústav Ostrava*

² *Ústav laboratorní diagnostiky, LF OU*

³ *Ústav epidemiologie a ochrany veřejného zdraví, LF OU*

⁴ *Oddělení virologie, Zdravotní ústav Ostrava*

Úvod

Imunoglobulinové prípravky sa vyrábajú z poolovanéj krvnej plazmy zdravých darců. Podľa evropských požiadaviek by malo íť u každého prípravku o pool IgG minimálne 1 000 darců. Zastoupení jednotlivých protilátok odráža epidemiologickú situáciu, ale také napr. proočkovanosť. Imunoglobulinové prípravky sa v dnešnej dobe využívajú k liečbe mnoha nemocí (PID, hypoimmunoglobulinémie, demyelinizační polyneuropatie aj.).

Cíl

Během pandemie COVID-19 v období 06/2021–12/2023 jsme měřili v léčebných substitučních přípravcích protilátky proti SARS-CoV-2 a VNT (virus neutralizační test). Chtěli jsme ověřit, jak se budou během pandemie COVID-19 měnit hladiny protilátek proti SARS Cov2 v přípravcích, které jsme používali pro substituční léčbu našich pacientů s protilátkovými imunodeficiencemi, a jestli budou mezi jednotlivými preparáty nějaké zásadní rozdíly.

Materiál a metodika

Jako zástupce intravenózních přípravků jsme vybrali Kiovig, subkutánní preparáty zastupovala Hizentra. Představitelem léku pro facilitované podkožní podání (po přípravě hyaluronidázou) byla HyQvia. Protilátky IgG byly stanoveny metodou ELISA (Euroimmun), VNT stanoveno in-house metodou. Preparáty se testovaly tak, jak byly připraveny výrobcem, bez dalšího ředění.

Výsledky

IgG (výsledky ve formátu index positivity, později BAU) pozitivita prokázána u 22 z 24 měření od 06/2021. Pozitivita VNT prokazována až od období podzim/zima 2022.

Závěr

Prokázali jsme očekávaný nárůst protilátek IgG i VNT u všech testovaných preparátů, což odpovídá vývoji pandemie COVID-19 včetně vlivu očkování. Nízká pozitivita IgG protilátek a negativita VNT z počátku měření (roku 2021) může být přisuzována nízké koncentraci protilátek proti SARS-CoV-2, popřípadě přirozeným autoprotilátkám nebo zkříženě reagujícím protilátkám proti sezónním koronavirům.

KVALITA SPERMIOGRAMŮ S OHLEDEM NA AKROZOMÁLNÍ ENZYMY A PROTILÁTKY PROTI SPERMIÍM U MUŽŮ Z NEPLODNÉHO PÁRU

Štampachová K., Bibková K., Mičanová Z., Ulčová-Gallová Z., Lošan P.

Next Clinics, Genetika Plzeň, s. r. o.

Cíl

Součástí screeningu reprodukční imunologie u muže je i sledování spermioqramů spolu s kvalitou akrozomálních proteinů (AP) a přítomnosti seminálních spermaglutinačních protilátek.

Materiál a metody

Spermioqramy hodnotíme podle platné normy WHO (Manual for Semen Analysis) z roku 2021. Náhodně jsme z Poradny pro imunologii reprodukce vybrali 135 mužů z neplodných párů (průměrný věk 35,5 let). K detekci AP imunofluorescenční metodou používáme monoklonální protilátky (Hs8 a Hs14), původně připravené v Ústavu molekulární genetiky, AV ČR, dnes EXBIO Praha, a. s. Protilátky pro IgG a IgA proti spermiím vyšetřujeme komerčním přímým Mixed-Antiglobulin Reaction testem (MAR-test, IBP medica, s. r. o.).

Výsledky

Normozoospermioqram měla téměř polovina: 67 mužů (49 %); u ostatních (51 %) jsme našli patologie progresivního pohybu spermií (u 48 asthenozoospermii, u 5 oligozoospermii a u 15 pacientů oligoasthenozoospermii).

Bez ohledu na typ spermioqramu silnou pozitivitu intra-akrozomálních proteinů značených monoklonální protilátkou Hs8 jsme našli u 110 pacientů (81 %) a Hs14 u 117 pacientů (86 %), pozitivní seminální spermaglutinační protilátky u více než 40 %; v IgA u 7 % a v IgG u 2 %, převažovaly protilátky shlukující spermie tail to head (T–H).

Závěr

Detailní vyšetření hlavních i imunologických parametrů lidského ejakulátu ukážeme v přehledné tabulce vyšetřovaných mužů. Není překvapením, že i u některých normozoospermatických mužů je velmi slabý nález intra-akrozomálních enzymů, tedy významný defekt akrozomu (vážně tedy i sekundární vazba spermie na zonu pellucidu).

Na druhé straně někteří pacienti s oligozoospermii mohou mít výborný akrozom. Ve sledování plodnosti mužů obracíme tedy pozornost na **individuální** komplexní zhodnocení spermioqramu, protilátek proti spermiím, kvalitu akrozomu a dalších vlastností ejakulátu.

ROLE TiO₂ NANOČÁSTIC V MODULACI MONOCYTO-MAKROFÁGOVÉHO SYSTÉMU

Švadláková T.^{1,2}, Koláčková M.¹, Rosecká M.¹, Krejsek J.¹, Andrýs C.¹

¹ Ústav klinické imunologie a alergologie, Fakultní nemocnice Hradec Králové a LF v Hradci Králové (UK)

² Ústav preventivního lékařství, LF v Hradci Králové (UK)

Cíl

Cílem této *in vitro* studie bylo hodnocení imunomodulačních účinků netoxických dávek TiO₂ na lidské primární monocyty a THP-1 odvozené makrofágy.

Materiál a metody

K testování byly vybrány komerčně dostupné TiO₂ P25 nanočástice od Sigma-Aldrich (šarže: MKCD8503), které byly předem charakterizovány a testovány pro přítomnost biologické kontaminace. Primární monocyty byly izolovány z periferní krve zdravých dárců; THP-1 byly diferencovány v makrofágy pomocí phorbol-myristát acetátu. Výchozí expozice obou buněčných modelů TiO₂ probíhala v plném kultivačním médiu RPMI 1640 s 10% séra (u monocytů se jednalo o autologní sérum) po dobu 24 h.

Jednotlivá hodnocení zahrnovala: 1) životnost buněk, 2) produkci prozánětlivých a regulačních cytokinů po souběžné (ko-expoziční model) a postupné (post-expoziční model) expozici buněk TiO₂ a vybraným bakteriálním agens, 3) míru fagocytárních funkcí, 4) fenotypové změny u primárních monocytů.

Výsledky

Podle morfologického hodnocení a výsledků cytotoxických testů (LDH a WST-1) nedocházelo po 24 h expozice TiO₂ k významnému cytotoxickému účinku. Naopak

u primárních monocytů bylo oproti nestimulované kontrole pozorováno lepší *in vitro* přežívání a následná diferenciaci v makrofágy, což potvrdily i změny ve fenotypu. V žádném případě nedošlo po expozici samotným TiO₂ k významné produkci prozánětlivých a regulačních cytokinů IL-1β, IL-6 a TNF-α, respektive IL-10. Zvýšená produkce IL-1β po „primingu“ buněk lipopolysacharidem (LPS) spolu se specifickým inhibitorem potvrdily působení TiO₂ jako druhý signál kanonické aktivace NLRP3.

Rovněž byl potvrzen výrazný aditivní efekt TiO₂ při produkci IL-1β během ko-expozice buněk muramyl dipeptidu. Na druhou stranu post-expoziční aktivace zejména primárních monocytů LPS nebo teplem usmrcenými bakteriemi *E. coli* vedla ve srovnání s kontrolou bez TiO₂ k útlumu, až inhibici produkce IL-1β, a naopak k výraznému zvýšení produkce IL-10. Výrazné změny ve fagocytární aktivitě nebyly potvrzeny.

Závěr

Imunomodulační vlastnosti TiO₂ byly potvrzeny pro oba buněčné modely, především jako ko-indukční efekt v akutní prozánětlivé odpovědi založené na aktivaci NLRP3. Významné post-expoziční změny byly pozorovány pouze u primárních monocytů. Bylo rovněž potvrzeno, že se kvůli jejich původu a diferenciacímu stadiu jedná o výrazně citlivější model.

ALTERATIONS IN T-CELL PHENOTYPE AND FUNCTION IN SCHIMKE IMMUNO-OSSSEOUS DYSPLASIA

Vladyka O.¹, Zieg J.², Paračková Z.¹, Bloomfield M.¹, Šedivá A.¹, Klocperk A.¹

¹ Department of Immunology, 2nd Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital in Motol, Prague, Czech Republic

² Department of Pediatrics, 2nd Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital in Motol, Prague, Czech Republic

³ Department of Internal Medicine, 2nd Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital in Motol, Prague, Czech Republic

Schimke immuno-osseous dysplasia is a rare multisystemic disorder caused by biallelic loss of function of the SMARCAL1 gene that plays a pivotal role in replication fork stabilization and thus DNA repair. Individuals affected from this disease suffer from disproportionate growth failure, steroid resistant nephrotic syndrome leading to renal failure and primary immunodeficiency mediated by T-cell lymphopenia, increasing patients' risk of infectious complications.

We compared T-cells and PBMCs of four patients with SIOD to those of age and sex matched healthy donors. We employed classical and spectral flow cytometry to assess the phenotypical and functional properties of T-cells, both *ex vivo* and in IL-7 non/enriched cell culture. Furthermore, we used the NanoString Sprint for panel transcriptomic analysis of genes related to the immune system and compared native RNA expression in the PBMCs and RNA expression after UV light irradiation. Lastly, we

assessed chromatin damage and apoptosis related to UV irradiation.

T-cells in SIOD are hallmarked by decrease in markers associated with naïvety and stemness (CD27, CD28, CD127, TCF1), and corresponding increase in markers of activation (HLA-DR, CD38) and exhaustion (CD57, FAS, PD1) with proinflammatory Th1 skew, increased production of IFNγ and lack of response to IL-7. The transcriptomic analysis revealed 65 differentially expressed genes in native state, which increased to 256 genes after UV irradiation. The irradiation caused irreparable amounts of double-strand breaks in the T-cells of SIOD patients followed by apoptosis.

Our results highlight the exhausted and pro-inflammatory phenotype of T-cells in SIOD which along with the lymphopenia causes impairment of immune reactions in SIOD patients. This phenotype cannot be simply attributed to the lymphopenia as it differs from other immunodeficiencies such as the 22q11DS.

FUNKČNÍ VLASTNOSTI POPULACÍ NEUTROFILŮ

Vlková M.¹, Kunčický V.², Surá K.², Štíhová J.^{1,2}

¹ Institute of Clinical Immunology and Allergology, Faculty of Medicine, Brno, Czech Republic

² Institute of Clinical Immunology and Allergology, St. Anne's Faculty Hospital, Brno, Czech Republic

Výskyt nezralých neutrofilů v periferní krvi je velmi nízký: u zdravých dospělých tvoří tato populace méně než jedno procento ze všech leukocytů. Zvýšené vyplavování nezralých neutrofilů je popisováno u bakteriálního zánětu, septického stavu, ale může se vyskytnout i u nebakteriálních zánětů, může být ovlivněno metabolickými změnami, traumatem a dalšími stavy. Při těchto onemocněních můžeme také pozorovat přítomnost tzv. exhausted neutrofilů, které mohou tvořit v závislosti na tíži onemocnění pacienta 1–50 % ze zralých neutrofilů.

Cílem naší studie bylo provést funkční testy se zaměřením na expresi aktivačních a mitochondriálních markerů v populacích neutrofilů před simulací a po stimulaci oxidačního vzplanutí metodou průtokové cytometrie u 20 dospělých zdravých dárců. K zjištění mitochondriálního obsahu, mitochondriálního membránového potenciálu a mitochondriálního superoxidu byly použity fluorescenční sondy MitoTracker Green FM, MitoTracker Red CMXRos a MitoSOX. Dále byla hodnocena exprese CD16, CD11b a CD66b jakožto markerů aktivity, před stimulací i po stimulaci oxidačního vzplanutí. Byly hodnoceny rozdíly mezi všemi populacemi po stránce stimulační, kinetické a v reakci na inhibitory oxidačního vzplanutí.

Z našich výsledků vyplývá, že **nezralé neutrofilové a jejich mitochondrie** vykazují významně odlišné funkční vlastnosti oproti zralým neutrofilům: jejich **schopnosti aktivity, oxidačního vzplanutí a tvorba mitochondriálního superoxidu je snížena**, a to nejen v kvantitě oxidačních produktů, ale i v kinetice po jejich aktivaci, a závisí na expresi rozpoznávacích pattern recognition receptorů. Exhausted neutrofilové vykazují zvýšené oxidační

vzplanutí i tvorbu mitochondriálního superoxidu, se současným snižováním exprese aktivačních markerů a snižováním mitochondriálního potenciálu.

Z našich výsledků vyplývá, že **funkční vlastnosti neutrofilů jsou ovlivněny zastoupením těchto tří populací**, což by mohlo pomoci při interpretaci nálezů u pacientů se změnami zastoupení neutrofilních populací, např. při septických stavech.

REGULACE EXPRESE CD163 NA PERIFERNÍCH MONOCYTECH KORTIKOSTEROIDY A ANTITHYMOCYTÁRNÍM GLOBULINEM U PŘÍJEMCŮ TRANSPLANTOVANÉ LEDVINY

Zemanová K., Čechrdlová E., Fialová M., Novotný M., Tichánek F., Krupičková L., Viklický O., Stríž I.
IKEM, Praha

Používání moderní imunosupresivní terapie hraje důležitou roli při dosahování vysoké míry přežití štěpů u příjemců transplantovaných orgánů, ale spolehlivé biomarkery pro sledování snížení regulace imunitních mechanismů stále chybějí.

Jedním z potenciálních kandidátů je CD163, receptor pro komplex haptoglobin-hemoglobin exprimovaný podskupinou monocytů a imunosupresivních makrofágů typu M2. U monocytů je exprese CD163 *in vitro* zvyšována kortikosteroidy. Cílem naší studie bylo zhodnotit expresi CD163 na monocytech periferní krve (PBM) a sérové hladiny jeho rozpustné formy, sCD163, u osob s transplantovanou ledvinou během podávání kortikosteroidů a antithymocytárního globulinu (ATG).

Studijní soubor tvořilo 94 pacientů, kteří podstoupili transplantaci ledviny od zemřelého dárce a u nichž se

během ročního sledování nevyskytla akutní rejekce. Odběr vzorků byl proveden v den 0, den 7, 3 měsíce a jeden rok po transplantaci ledviny. Hodnota sCD163 byla měřena metodou ELISA a membránová forma CD163 byla hodnocena průtokovou cytometrií. Následně byly naměřené údaje statisticky korelovány s klinickými záznamy vyšetřovaných pacientů pomocí lineárních smíšených modelů.

Vysoké dávky kortikoterapie během prvního týdne po transplantaci ledviny byly spojeny s dramatickým zvýšením exprese CD163 na PBM (průměrný podíl CD163 pozitivních buněk: 88 %) ve srovnání s buňkami izolovanými ze vzorků před transplantací bez kortikosteroidů (47 %, $p < 0,0001$). Nebyly pozorovány žádné významné změny mezi sérovými koncentracemi sCD163 ve vzorcích před transplantací (1,12 pg/ml) vs. týden po transplantaci (1,11 pg/ml) ($p = 0,99$).

U pacientů léčených současně ATG bylo zvýšení membránové exprese CD163 po jednom týdnu méně výrazné (86 % [uživatelé ATG] vs. 94 % [uživatelé bez ATG], $p = 0,0125$), zatímco sérové hladiny sCD163 byly u uživatelů ATG zvýšené (1,27 vs. 0,71 pg/ml, $p < 0,0001$). Ve vzorcích odebraných tři měsíce a jeden rok po transplantaci se membránová exprese CD163 snižovala s klesajícími dávkami kortikosteroidů.

Naše údaje naznačují jedinečnou odpověď krevních monocytů na ATG a zdůrazňují význam zohlednění různých typů indukce v kontextu dynamiky CD163. Membránová exprese CD163 na monocytech odráží účinek kortikoterapie, ale současná indukce ATG ji může snížit, pravděpodobně štěpením, jak naznačuje zvýšení sCD163 v séru.

Podpořeno Ministerstvem zdravotnictví ČR – koncepční rozvoj výzkumné organizace (Institut klinické a experimentální medicíny – IKEM, IN 00023001).