

## Klinické aspekty laboratorní diagnostiky v alergologii

„KDYŽ MÉNĚ JE VÍCE...“

### INICIATIVA CHOOSING WISELY V ČR

Rakušan D.

*Interní klinika 3. LF UK a FTN, Praha*

Podle kvalifikovaných odhadů je dnes 20–30 % procent prostředků ve zdravotnictví vynakládáno na takzvanou „low value care“, to znamená péči, která přináší pacientovi velmi malý nebo žádný užitek a může mu potenciálně škodit. „Overdiagnosis“ vede jednak k nálepkování pacientů spornou diagnózou, a navíc k léčbě sporných nálezů, tedy k „overtreatment“. Na diagnostické úrovni používáme v duchu defenzivní medicíny diagnostické testy v situaci nízké pravděpodobnosti choroby a riskujeme, že se staneme zajatci falešně pozitivních či nevýznamných incidentálních nálezů s lavinou dalších vyšetřovacích kroků a zbytečných kontrol. V roce 2012 byla americkou internistickou společností / ABIM / spuštěna kampaň Choosing Wisely, která vyzvala devět spřátelených, příbuzných společností, aby v rámci svých odborností vytvořily seznam 5 diagnostických či terapeutických úkonů v dané specializaci, které jsou dle lékařů nadužívané či neposkytují pacientům smysluplný prospěch.

Za deset let iniciativa rozšířila do dalších 30 zemí. Principy kampaně můžeme doložit heslem „Less is more“. Je zdůrazňována potřeba nepoužívat „low value“ diagnostické a terapeutické kroky, volit pouze postupy založené na evidence based medicine, dále neduplikovat vyšetření, zvažovat pečlivě potenciální škodlivost vyšetření, volit méně rizikové a zatěžující procedury, diagnostiku a léčbu individualizovat. Velkou výhodou této kampaně je, že ji lze použít na různých úrovních a v různé ambiciózní formě. Ideálně můžeme využít důmyslného konceptu Top Five listu a pokusit se na úrovni své praxe, nebo na úrovni nemocničního oddělení, či nejambiciózněji na úrovni odborných společností o implementaci vlastního TOP FIVE listu Choosing Wisely doporučení.

### PANDORŮVA SKŘÍŇKA ZKŘÍŽENĚ REAGUJÍCÍCH ALERGENŮ

Bojčuková J.<sup>1</sup>, Vlas T.<sup>1,2</sup>, Panzner P.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Ústav imunologie a alergologie, Fakultní nemocnice Plzeň

<sup>2</sup> Ústav imunologie a alergologie, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova

V současné době je pomocí molekulární alergenové diagnostiky možné poměrně přesně identifikovat daný alergen, a tím i rozlišit, zda se jedná o skutečnou senzibilizaci na konkrétní alergen, či jde o zkříženou reaktivitu mezi alergeny v rámci jedné proteinové rodiny. Zkřížená reaktivita mezi alergeny je definována jako rozpoznání 2 a více molekul alergenů protilátkami nebo T-lymfocyty se stejnou specifitou.

Existuje mnoho nástrojů ve formě online databází, které vypočítají a porovnají podobnost sekvencí mezi jednotlivými alergenovými komponentami. Zkřížená reaktivita mezi alergeny je dána převážně podobností jejich sekundární a terciální struktury. Předpokladem zkřížené reakce mezi alergeny je sekvencní identita >70 %, a naopak, pokud alergeny sdílí sekvencní identitu <50 %, je zkřížená reakce nepravděpodobná.

Sekvencní identita mezi alergeny je často používána jako jeden z parametrů pro určení míry zkřížené reaktivity mezi dvěma alergenovými molekulami.

Tato práce se zaměřuje na využití molekulární diagnostiky a bioinformatických databází (porovnávající sekvence aminokyselin) u zkříženě reagujících alergenů v rámci jednotlivých proteinových rodin. V naší studii jsme se zaměřili na analýzu dat z multiplexu ALEX (MacroArrays Diagnostics GbmH). Zpracovávali jsme soubor 5 333 dat z období 3/2019–6/2024. Ze souboru jsme si vybrali skupiny proteinových rodin, které jsou řazeny mezi zkříženě reagující: PR-10 proteiny, nsLTP, profiliny, lipocaliny a tropomyosiny. Jejich procentuální zastoupení v celém souboru bylo následující: PR-10 33,6 %; nsLTP 7,4 %; profiliny 8,1 %; lipocaliny 17,6 %; tropomyosiny 1,8 %. Vybrané alergeny byly v rámci své proteinové rodiny mezi sebou analyzovány na základě jejich sekvencní homologie a byla zhodnocena míra pravděpodobnosti zkřížené reaktivity.

Propojení molekulární diagnostiky alergenů a bioinformatiky může vést do budoucna k přesnější identifikaci zkříženě reagujících alergenových komponent a být dalším nástrojem pro specifickou alergenovou imunoterapii.

### NOVINKY V LABORATORNÍ DIAGNOSTICE IGE MEDIOVANÉ ALERGIE

Šetinová I.

*Immunia, spol. s r. o., Praha*

V roce 2023 bylo publikováno nové doporučení Evropské alergologické společnosti pro diagnostiku IgE mediované potravinové alergie (PA). Diagnostika potravinové alergie začíná důkladnou anamnézou s cílem identifikovat podezřelé potraviny, které vyvolaly klinické obtíže. Dle anamnestických údajů je 1. krokem diagnostiky provedení kožních testů a vyšetření sIgE protilátek s extraktem podezřelých potravin. Vyšetření molekulárních alergenů Ara h 2, Cor a 14 a Ana o 3 souběžně s vyšetřením extraktového sIgE arašídového a kešu ořechu je doporučeno u pacientů s podezřením alergie na arašíd, lískový a kešu ořech. Vyšetření multiplexovými metodami lze využít v případě idiopatické anafylaxe k odhalení skrytého alergenu nebo k odhalení zkřížené reaktivity většího množství rostlinných potravinových alergenů. Při diskrepanci anamnézy a výsledků SPT a sIgE podpoří diagnózu test aktivace bazofilů

s arašidem a sezamem. Zlatým standardem diagnostiky PA je provedení otevřeného orálního expozičního testu (OFC) k potvrzení diagnózy: dvojitě zaslepený expoziční test je vyhrazen především pro klinické studie. U dětí je doporučeno přehodnocování výsledků a opakování testů včetně OFC k včasnému odhalení navození orální tolerance.

Závěrem přednášky bude prezentováno doporučení využít test aktivace bazofilů (BAT) pro diagnostiku časně hypersenzitivní reakce na léky včetně technických aspektů a interpretace výsledků. Toto doporučení bylo publikováno v letošním roce. BAT je vhodným doplňkovým diagnostickým testem pro bezpečnou diagnostiku časně hypersenzitivní reakce na určité léky.

### MOŽNOSTI LABORATORNÍ DIAGNOSTIKY OPOZDĚNÉ PŘECITLIVĚLOSTI NA NIKL

Štohanslová B., Havranová M., Šetinová I., Daňková E.  
*Immunia, spol. s r. o., Praha*

V práci prezentujeme své zkušenosti s testem aktivace lymfocytů pro diagnostiku přecitlivělosti na nikl.

Ke stanovení buněčné proliferace T-lymfocytů byl použit T-cell BlastoFlowEx Kit (Exbio) využívající značení protilátkou proti Ki-67. Výsledky byly porovnány s epikutánními testy a klinikou našich pacientů.

Mezi oběma metodami byla nalezena vysoká korelace. Epikutánní testy jsou brány jako zlatý standard. Námí navržený test blastické transformace lymfocytů po ovlivnění nikelnými ionty dosahuje v porovnání s náplastovými testy vysokých hodnot klinické citlivosti a specifčnosti.

Literatura zabývající se tématem přecitlivělosti na nikl uvádí, že test blastické transformace je citlivější než epikutánní testy. Naše zkušenosti toto tvrzení také podporují.

Test blastické transformace lymfocytů se značením proliferujících buněk pomocí Ki-67 je vysoce citlivá a specifická metoda vhodná pro rutinní použití v laboratoři. Je vhodným doplněním i náhradou při nemožnosti použít náplastové testy.

## Potravinové alergie a intolerance

### ABKM STÁLE AKTUÁLNÍ, CO MŮŽEME DĚLAT LÉPE?

Vrbová E.

*IMMUNO-FLOW, s. r. o., Praha*

Alergie na bílkovinu kravského mléka nadále zůstává diagnózou, se kterou se setkáváme (a budeme setkávat) v našich ambulancích. Ať už se jedná o IgE mediovanou formu (samu o sobě či často v rámci multiproteinových alergií), nebo o formu non IgE mediovanou, která kvůli neexistenci dostupného spolehlivého laboratorního či jiného vyšetření dodnes představuje tak trochu diagnostický oříšek. Nejspíše díky tomu určité (možná nemalé) množství pacientů dostane (mezi maminkami velmi módní) nálepku ABKM.

Prevalence potvrzené ABKM v populaci je přítomná nižší než 1 %. Ne vždy přítomnost kolik, hlenu a krve ve stolici souvisí s potravinovou alergií. Neměli bychom zapomínat na jiné možné příčiny těchto stavů včetně funkčních poruch GIT, dnes nověji označovaných DGBI (disorders of gut-brain interaction). Vzhledem k tomu, že dieta bez BKM má nejen negativní dopady psychosociální, ale negativně ovlivňuje i příjem železa, vápníku, zinku, vitamínu B2, C, D a E kojící matky, měli bychom její indikaci pečlivě zvažovat, v diagnostice ABKM postupovat dle aktuálních guidelines a mimo jiné neopomíjet provedení eliminačně-expozičního testu.

### KAZUISTICKÝ POHLED NA SPOLUPRÁCI DĚTSKÉHO DERMATOLOGA S ALERGOLOGIÍ

Bartoňová J.

*Klinika nemocí kožních a pohlavních, Fakultní nemocnice Hradec Králové*

Více než 30 % pacientů v ambulanci dětského dermatologa jsou děti s atopickým ekzémem.

Většina rodičů kojenců a mladších dětí přichází s tím, že za kožní projevy jistě může alergie na potraviny, méně často na inhalační alergeny nebo srst zvířat.

A většina rodičů také žádá o doporučení dietních omezení a vyšetření na alergologii i při velmi diskrétních projevech ekzému.

Část kojících maminek drží velmi striktní diety s omezením nejčastějších alergenů a následně velmi omezují pestrost příkrmů svých dětí, které pak špatně prospívají.

Úlohou dermatologa je rodičům vysvětlit, že atopický ekzém je z části zapříčiněn změnou utváření struktury kůže proti populaci bez ekzémových projevů a podle klinických projevů odhadnout roli alergie na tíži projevů a doporučit/nedoporučit alergologické vyšetření.

Spolupráce s alergologem je velmi důležitá zvláště u těžkých a generalizovaných forem ekzému, kde velmi přispívá ke správnému nastavení režimových opatření a diety.

Součástí sdělení jsou krátké kazuistiky z ordinace.

## NOVINKY V DIAGNOSTICE IGE ZPROSTŘEDKOVANÉ POTRAVINOVÉ ALERGIE

Bělohlávková S.

*AlergoCentrum Dr. Bělohlávkové, s. r. o., Praha*

Prevalence i závažnost potravinových alergií (PA) v posledních dekádách dramaticky stoupá a v současné době jí trpí 3–10 % dětí a až 10 % dospělých. Závažnější typy potravinové alergie zásadním způsobem ovlivňují jak zdravotní stav, tak kvalitu života a sociální situaci pacientů.

Stanovení správné diagnózy potravinové alergie je zcela zásadní zejména proto, že by mělo zabránit neadekvátním dietním opatřením. S narůstající prevalencí a závažností potravinové alergie se tak v poslední dekádě dramaticky rozšiřují i možnosti její diagnostiky. Komponentová, molekulární či nověji PAMD (Precision Allergy Molecular Diagnostic) se v současné době stala nezastupitelnou součástí diagnostického algoritmu.

Od objevu IgE protilátek v 60. letech minulého století přes definování prvních klinicky relevantních alergenů v 80. letech a zavedení prvního mikročipu do praxe koncem let devadesátých se molekulární diagnostika dostala v posledních letech v podstatě do běžné praxe. Aktuálně jsou dostupné řádově stovky molekul, proti nimž lze stanovit specifické IgE. Vyšetřovat je lze jak v podobě stanovení jednotlivých sIgE, tak pomocí mikročipů (multiplexové metody), které umožní stanovení sIgE proti stovkám alergenů z jednoho odběru.

V diagnostice potravinové alergie nám molekulární diagnostika umožňuje stanovení míry rizika jednotlivých potravin. Můžeme odhadnout pravděpodobnost a typ potenciálních zkřížených reakcí nebo prognózu některých typů potravinové alergie. Velký význam má také při pátrání po spouštěcích tzv. idiopatických anafylaxi.

Cílem sdělení je shrnutí současných poznatků týkajících se diagnostiky IgE-mediované potravinové alergie se zaměřením na možnosti diagnostiky molekulární. Důraz je kladen na specifika České republiky, jak z hlediska epidemiologie PA, tak z hlediska dostupnosti jednotlivých metod v našich podmínkách.

## PROČ A KAM MIZÍ POTRAVINOVÁ ALERGIE?

Liška M.

*Ústav imunologie a alergologie, Fakultní nemocnice  
Plzeň*

Vedle zpráv o epidemii alergických onemocnění a s nimi i potravinové alergie se zapomíná na to, že celá řada potravinových alergií může v průběhu života zmizet a že také mizí. Epidemiologické studie potvrdily, že v prvním roce věku hrají prim alergie na bílkovinu kravského mléka a vejce, které však v průběhu několika následujících let života většinou vymizí. Naopak nástup alergie na arašídý, ořechy, ryby nebo mořské plody je oproti tomu opožděný a stejně tak i jejich ústup je mnohem pozvolnější, v některých případech může s věkem

dokonce docházet k nárůstu výskytu. V dospělosti výrazně vstupuje na scénu alergický syndrom pyl–potravin (PFAS), vyvolaný zkříženou reaktivitou mezi pylovými alergeny a potravinami.

Nabízí se myšlenka, zda celý proces mizení, ev. transformace potravinové alergie, neprobíhá v rámci dobře známého atopického pochodu, při němž atopického jedince nejprve postihne atopický ekzém, který v průběhu předškolního věku vymizí, ale poté bývá často následován respiračními alergickými onemocněními, jako je alergická rýma nebo průduškové astma, s nimiž se může pojit zmíněný PFAS. Při mizení potravinové alergie, resp. nástupu tolerance, obvykle pozorujeme nárůst hladiny specifických IgG<sub>4</sub> protilátek, pokles poměru specifických IgG<sub>4</sub>/IgE a nárůst počtu specifických regulačních T-lymfocytů. IgG<sub>4</sub> protilátky mohou jednak blokovat interakci alergenu se specifickým IgE, ale – a to se zdá pro nástup tolerance důležitější – prostřednictvím interakce s receptorem FcγRIIb na povrchu bazofilů a žírných buněk mohou blokovat pokračující stimulaci a podporu TH2-imunitní odpovědi, a tím podpořit nástup tolerance. Indukci regulačních T-lymfocytů se nastupující tolerance zásadně liší od tzv. uchované neodpovídavosti dosažené při orální imunoterapii, kdy je nárůst hladin specifických IgG<sub>4</sub> pouze dočasný. Lze předpokládat, že potravinové alergie mizí v rámci atopického pochodu a v závislosti na osobní anamnéze pacienta, kde vstupuje do hry genetika, terapeutické zásahy, životospráva a vlivy prostředí.

## NEALERGICKÁ AKTIVACE MASTOCYTŮ – FIKCE, NEBO ZNEPOKOJIVÁ REALITA

Fuchs M.

*IMMUNO-FLOW, s. r. o., Praha*

IgE aktivace mastocytů po interakci alergen-sIgE-FcεRI je dobře známa bezmála 40 let. Za tuto dobu se dočkala podrobného zmapování doslova až do té nejposlednější molekuly, dnes se bez ní neobejde moderní alergologická diagnostika. Naproti tomu diagnosticky nepoměrně obtížnější non-IgE aktivaci mastocytů se pozornost věnuje až několik posledních let. Mastocytárních receptorů schopných vyslat aktivační, resp. degranulační signál je přitom vedle FcεRI více než 200. Úkolem moderní, personalizované medicíny by mělo být non-IgE aktivaci mastocytů imunopatologicky pojmenovat a pokusit se o identifikaci biologických antigenů/ligandů s reálnou vazbou k mastocytárním receptorům. Vedle této korektní alergologie se bohužel zásluhou svépomocných patientských skupin otevřela nová disciplína s divokou štvanicí na možné viníky více či méně specifikovaných obtíží. Pojmy jako „mcas“, „histaminik“, „histaminoliberace“ nebo „švýcarský seznam“ se sociální sítě jen hemží, aniž by došlo k hlubšímu pochopení této křehké i komplikované problematiky.

Ambicí této prezentace je čtené mechanismy nealergické aktivace mastocytů alespoň krátce představit, včetně obrazových schémat, a tak možná i získat argumenty k čím dál tím těžší diskusi s nespokojenými a neuspokojitelnými pacienty, resp. i-pacienty.

## Bronchiální astma

### ALLERGEN IMMUNOTHERAPY FOR ALLERGEN-DRIVEN ASTHMA: A WAY TO PREVENTION, DISEASE MODIFICATION AND REMISSION

Diamant Z.

*University of Groningen, The Netherlands*

A substantial number of patients with asthma presents with an allergen-driven disease and those with allergic rhinitis (AR) often develop comorbid allergic asthma (AA) over time as part of the „allergic march“.

Allergen-specific immunotherapy (AIT), either subcutaneously (SCIT) or via the oral route (SLIT), offers a rational and causal approach to treatment and prevention of allergic airway diseases, such as AR and AA. Currently, several international consensus reports, including GINA and EAACI, advocate AIT as add-on therapy in the management of these conditions. In contrast with standard, including corticosteroid-containing treatment options for allergic airway diseases, AIT has:

- Preventive potential (i. e. reduces the risk of multi-allergy as well as asthma development)
- Disease modifying potential – which is long-lasting, even after cessation of treatment – and may thus help to establish disease remission.

Therefore, it is crucial that AIT is considered an important part of the therapeutic armamentarium for the management of allergic airway diseases in clinical practice.

The lecture will address the following issues:

- Applications of AIT in asthma, including severe asthma (SA) – overview of recent study outcomes (e.g. REACT, MITRA and VITAL studies) and will also address
- Pro/cons of AIT in asthma (SCIT vs SLIT etc.)

### ALERGENOVÁ IMUNOTERAPIE U ALERGICKÉHO FENOTYPU ASTMATU: CESTA K JEHO PREVENCI, MODIFIKACI A REMISI

Diamant Z.

*Univerzita v Groningenu, Nizozemsko*

Významná část astmatiků má alergický fenotyp astmatu (AA), kterému v rámci tzv. „atopického pochodu“ často předchází alergická rýma (AR).

Alergenová imunoterapie (AIT) – jak subkutánní (SCIT), tak sublinguální (SLIT) – představuje kauzální léčebnou modalitu v léčbě a prevenci alergických onemocnění dýchacích cest a její zavedení u obou diagnóz je doporučováno několika konsenzu, včetně GINA a EAACI.

Na rozdíl od standardní farmakoterapie alergické rýmy a astmatu, včetně kortikosteroidů, představuje alergenová imunoterapie léčebnou modalitu, která má:

- preventivní potenciál, tj. redukuje jak riziko polysenzibilizace, tak rozvoj (vznik, resp. progresi) astmatu

- modifikující potenciál, tj. schopnost ovlivnit další průběh nemoci a dosáhnout dlouhodobé remise, přetrvávající i po ukončení AIT.

V uvedených souvislostech je žádoucí nahlížet na AIT jako na zásadní součást prevence a léčby alergických onemocnění dýchacích cest, která by v klinické praxi neměla být nikdy opomínána.

Přednáška se věnuje otázkám:

- indikací a (za)vedení AIT u astmatu, včetně jeho nejtěžších forem, přehledu recentních výsledků studií (REACT, MITRA a VITAL)
- pro/kontra AIT u astmatu (SCIT vs SLIT aj.)

### KONTROVERZE PREVENTIVNÍ LÉČBY LEHKÝCH FOREM ASTMATU

Pohunek P.

*Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha*

V polovině devadesátých let 20. století došlo k zásadní změně v léčbě astmatu, která výrazně ovlivnila jeho průběh a prognózu. Díky pochopení patofyziologické podstaty astmatu a roli, kterou v jeho vzniku, průběhu a vývoji hraje především eozinofilní zánět, se hlavní složkou léčby astmatu stala dlouhodobá preventivní protizánětlivá léčba. Její zařazení do léčebného plánu vedlo k významnému zlepšení kontroly nad nemocí, snížení počtu hospitalizací a celkovému snížení morbidit a mortality. Astma se tak stalo především ambulantní nemocí. Mnoho příkladů mezi sportovci a jinými veřejně známými osobnostmi ukazuje, že je možné s astmatem žít plnohodnotný život.

Dnes již nikdo nepochybuje o tom, že u středně těžkého a těžkého astmatu je protizánětlivá léčba nezbytnou součástí léčebného plánu a že u většiny pacientů jde o léčbu celoživotní. Nejasnosti se však objevují u pacientů, jejichž astma lze zařadit do kategorie intermitentního nebo mírně perzistujícího. Nejenže občasná a mírná příznaky jsou často podceňovány nebo zanedbávány a diagnóza je stanovena až po akutní těžké exacerbaci, ale také se opakovaně setkáváme s nejasnostmi ohledně léčebného postupu u těchto pacientů. Pokud již pacienti s mírnými příznaky vůbec nějakou léčbu dostanou, je to velmi často jen základní úlevová léčba, především salbutamol v dávkovaném aerosolu.

V roce 2019 se v doporučených postupech GINA objevilo zásadní doporučení, aby u mírného astmatu nebyla monoterapie beta-2 agonistou vůbec používána a aby i při intermitentní potřebě úlevové léčby byl do inhalace vždy zařazen i inhalační kortikosteroid. Nejnovější doporučení jdou ještě dále, neboť u adolescentů a dospělých s mírným astmatem ve stupni 1 a 2 je uvedena možnost intermitentního použití kombinovaného léku s obsahem formoterolu i jako základní léčba bez kontinuálního podávání inhalačního kortikosteroidu.

Přibývá studií, které ukazují, že tento postup je dostatečně účinný a bezpečný. Z pohledu dlouhodobého

chápání astmatu jako nemoci, jejíž podstatou je zánět ve sliznici dýchacích cest, však zůstávají některé otázky a kontroverze.

### VÝVOJ FENOTYPOV ASTMY NAPRIEČ VEKOVÝMI KATEGÓRIAMI

Jeseňák M.

*Klinika detí a dorastu, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Univerzitná nemocnica Martin*

*Klinika pneumológie a ftizeológie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Univerzitná nemocnica Martin*

*Oddelenie klinickej imunológie a alergológie, Univerzita Komenského v Bratislave, Univerzitná nemocnica Martin*

Bronchiálna astma predstavuje jedno z najčastejších chronických respiračných ochorení vo všetkých vekových kategóriách s odhadovanou prevalenciou do 10 %. Dva základné aspekty pri vzniku a perzistencii astmy sú bronchiálna hyperreaktivita (špecifická a/alebo nešpecifická) a chronický zápal. Napriek rovnakým klinickým prejavom astmy vo všetkých vekových kategóriách, jednotlivé charakteristiky ochorenia, prognóza, charakter zápalu, spúšťače exacerbácií ako aj terapeutické možnosti sa naprieč vekovými kategóriami zásadne líšia.

Jedným zo základných aspektov úspešného manažmentu astmy je identifikácia charakteru zápalu – stanovenie endotypu, (prostredníctvom opakovaného merania vybraných biomarkerov), zadefinovanie konkrétneho fenotypu a následne správne zvolená (a flexibilne modifikovaná) liečebná stratégia rešpektujúca jednotlivé charakteristiky daného astmatika. Fenotyp je definovaný ako súbor viditeľných a merateľných vlastností charakterizujúcich danú

chorobu v skupine pacientov. Endotyp naopak označuje súbor mechanizmov vysvetľujúcich vznik astmy v určitej podskupine pacientov, pričom ide o podtyp ochorenia definovaný funkčne alebo patofyziologicky špecifických molekulárnym mechanizmom. Spojivom medzi endotypom a fenotypom je biomarker (merateľný indikátor spájajúci konkrétny fenotyp s endotypom), pričom aktuálne máme k dispozícii predovšetkým eozinofily v periférnej krvi (a ev. v spúte), oxid dusnatý vo vydychovanom vzduchu či celkové IgE v krvi. Vo vzťahu k selekcii finálnej liečebnej stratégie má význam predovšetkým určenie, či ide o astmu eozinofilovú (T2-high), alebo neeozinofilovú (T2-low), pričom každá alergická astma je eozinofilová ale nie každá eozinofilová astma je automaticky aj alergická.

Samostatné postavenie má astma v detskom veku, pričom jej prirodzený priebeh môže mať viacero trajektórií – od perzistencie, permanentnej remisie, relabujúco-remitujúceho priebehu až po opätovné objavenie sa astmy v dospelosti. Medzi hlavné rizikové faktory perzistencie patrí ženské pohlavie, fajčenie (pasívne aj aktívne), alergická senzibilizácia a závažnosť astmy. Ako viaceré práce naznačujú, aj samotný fenotyp sa môže meniť a vyvíjať v priebehu veku. Akokoľvek, aj spontánna remisia príznakov v detstve nemusí automaticky korelovať aj s kompletným odznením pridruženého zápalu. Hoci dosiahnutie remisie astmy je dnes považované za legitímny cieľ u adolescentov a dospelých, doposiaľ neexistuje platná definícia remisie obzvlášť v detskom veku.

Identifikácia správneho fenotypu je kľúčovou pri selekcii správnej liečebnej stratégie, a to najmä u pacientov s ťažkou formou astmy. Strata odpovede na liečbu alebo nedosiahnutie kontroly nad ochorením môže mať viacero dôvodov vyžadujúcich komplexné individuálne vyhodnotenie a následnú korekciu liečby.

## Laboratorní diagnostika v klinické imunologii

### OHLÉDNUTÍ ZA 30 LETY EXISTENCE SEKCE LABORATORNÍ IMUNOLOGIE ČSAKI

Král V.

*Centrum imunologie a mikrobiologie, ZU Ústí nad Labem*

Změna společenských poměrů na přelomu 80. a 90 let minulého století byla příčinou velkých změn ve všech oblastech našeho života, tedy i ve zdravotnictví. Možnost získat a používat nové technologie v klinické péči i laboratorní diagnostice nutně ovlivnila i obor alergologie a klinická imunologie, především jeho mladší, ale rychle se rozvíjející oblast „klinická imunologie“, kde hraje laboratorní diagnostika velmi významnou roli.

Vznik Sekce laboratorní imunologie ČSAKI (SLI) byl vyvolán potřebou koordinovat činnost pracovníků oboru, kteří dle svého nejlepšího svědomí pracovali v různých a často měněných či paralelně vznikajících „pracovních skupinách“ pro řešení řady problémů, které

přinesla hektická doba počátku 90. let. Především lze uvést zásadní změny v poskytování a úhradách zdravotní péče, vznik zdravotních pojišťoven a obrovské nasazení skupiny 20–30 nadšenců, kteří připravovali první verze registračních listů pro „Sazebník“ (Seznam zdravotních výkonů s bodovými hodnotami, vyhláška č. 134/1998 Sb.); tzv. konsolidaci/integraci laboratorního komplementu – bylo nesmírně důležité obhájit existenci AKI jako dvojjediného oboru se samostatnou, specifickou laboratorní složkou; účast na zavádění systému EHK v ČR (AKI, odbornost 813, účast od roku 1996); oblast PGV jak v rámci AKI, tak podíl na utváření náplně základního vzdělávacího kmene oborů komplementu. SLI se také vždy snažila o zachování velmi úzké spolupráce „kliniky a vědy“ (ani toto nebylo v období 90. let úplnou samozřejmostí).

Príslušníci „zakládající generace“ SLI ČSAKI jsou nyní většinou ve věkové kategorii 60+, a mohou tak

bilancovat uplynulých 30 let existence sekce. Není snad neskromné konstatovat, že bylo odvedeno obrovské penzum práce, která významně přispěla k rozvoji oboru AKI a jeho vnímání v kontextu množiny medicínských oborů jako úspěšného dvojjediného oboru alergologie a klinická imunologie se specifickou klinickou a laboratorní složkou.

Jaké problémy musí SLI aktuálně řešit? Lze uvést např. rychlý rozvoj elektronizace zdravotnictví včetně rizik v oblasti kybernetické a informační bezpečnosti; dopady evropské legislativy v oblasti ochrany práv jedince (GDPR); stále přísnější evropské direktivy pro klinickou činnost i laboratorní diagnostiku (EBM, IVDR). Současná SLI se bude při plnění nových úkolů potýkat s generační obměnou a pravděpodobně i s problémem posunu životních hodnotových kritérií u nastupující mladé generace.

Chci věřit, že SLI nové úkoly úspěšně zvládne a zůstane významnou organizační složkou ČSAKI ČLS JEP.

## STANOVENÍ ZÁKLADNÍCH A ODVOZENÝCH SUBPOPULACÍ LEUKOCYTŮ PRŮTOKOVOU CYTOMETRIÍ V KLINICKÉ IMUNOLOGICKÉ LABORATOŘI – CO A JAK MĚŘÍME PRO NAŠE LÉKAŘE?

Jankovičová K. et al.

*Ústav klinické imunologie a alergologie, Fakultní nemocnice a Lékařská fakulta UK v Hradci Králové*

Průtoková cytometrie se stala již v 90. letech minulého století běžnou součástí vyšetřovacích postupů v klinické imunologii a hematologii. Během tohoto období se zázemí v našich laboratořích výrazně proměnilo a posunuli jsme se od vyšetřování dvoubarevné fluorescence k vícebarevné. Většina laboratoří je tak schopna analyzovat vícebarevné panely cílené na specifické buněčné populace. Řada laboratoří má i tuto část svého provozu automatizovanou. Progres nastal i v dostupnosti reagensů a jejich konjugovaných fluorescenčních variant, kdy je kromě jednobarevných reagensů dostupná i řada koktejlů ať již v tekuté formě, nebo vysušené.

Technické možnosti posledních 10 let tedy posunuly průtokovou cytometrii do oblasti klastrové analýzy, která se hojně využívá v různých odvětvích imunologického a hematologického výzkumu, kde se otvírá s nástupem AI mohutný potenciál pro další bádání. V oblasti klinických laboratoří je situace trochu odlišná. Zásadní dopad na využití průtokové cytometrie v klinické laboratoři má Nařízení Evropského parlamentu a Rady EU 2017/746 o diagnostických zdravotnických prostředcích *in vitro* – tzv. IVD-R direktiva, která klade důraz na použití validovaných a certifikovaných postupů v diagnostickém procesu pro výrobce, popřípadě vlastní laboratoř. Rozvíjející se technické možnosti se tak dostávají v klinické praxi do rozporu s validačními omezeními a v řadě případů rozmanitost vyšetřování brzdí.

I když pomíneme technické možnosti imunologických laboratoří, které se za poslední roky zlepšily, spektrum běžně vyšetřovaných populací, které lékařům nabízíme

v rámci laboratorní diagnostiky, se zásadním způsobem neproměnilo. O důvodech tohoto stavu by se dalo spekulovat, avšak nejpravděpodobnější z nich bude využitelnost informací o jednotlivých subpopulacích v klinické diagnostice. V přednášce budou analyzovány základní i další populace leukocytů, které většina klinických laboratoří nabízí pro své žadatele, a bude diskutováno jejich využití.

## PROBLEMATIKA IVDR V IMUNOLOGICKÉ LABORATOŘI

Martinovský A.

*Porta Medica, s. r. o.*

Když bylo v roce 2017 přijato nařízení o zdravotnických prostředcích pro diagnostiku *in vitro* (EU) 2017/746, nevzbudilo v prvních letech příliš zájmu v odborné veřejnosti. Pouze úzký okruh regulatorních odborníků, zejména z řad větších výrobců IVD prostředků, začal upozorňovat na extrémní zvýšení zátěže výrobců a všech osob, které s IVD prostředky zachází. Zbytek odborné veřejnosti problematiku buď vůbec nezachytil, nebo se rozhodl uvěřit hlasům o možném zrušení nebo významných změnách a odkladech. Nařízení, stejně jako sesterské nařízení o obecných zdravotnických prostředcích 2017/745, mělo a stále má jediný cíl – posílit bezpečnost a ochranu pacientů a uživatelů, zvýšit důvěru ve zdravotnické prostředky a zajistit jednotné podmínky na evropském trhu zdravotnických prostředků. Nemá dnes již smysl polemizovat o tom, zda to bylo nutné, ani nad tím, kdo to vše zaplatí.

S přibližujícím se datem plné použitelnosti nařízení, pro které se v mezíchase vžilo označení IVDR, se většina výrobců a distributorů začala o nové povinnosti zajímat. Postupné odklady přinesly změny původně závazných termínů, přičemž nově vzniklá přechodná období jsou značně komplikovaná a vyznají se v nich pouze regulatorní odborníci. Většina jejich interpretací je nepřesná nebo neúplná. První část přednášky se bude těmto termínům věnovat, protože pro poskytovatele zdravotních služeb jsou z mnoha důvodů důležité.

Odborná veřejnost u poskytovatelů zdravotních služeb, klinické laboratoře a management se o problematiku článku 5 odst. 5 IVDR, tedy o možnost „výroby“ tzv. in house prostředků, začaly zajímat převážně až s nadcházejícím datem 26. 5. 2024. Obvykle zcela unikly pozornosti ty povinnosti, které měly být plněny již od 26. května 2022.

Přednáška se již nebude vracet k minulosti, ale bude zaměřena zejména na to, jakým způsobem zvládnout přípravu poskytovatele zdravotních služeb na plnění platných povinností. Situace na mnoha pracovištích je bohužel taková, že vedení laboratoří, kolegové pověřeni problematikou IVDR a kvalifikáři již požadavky IVDR znají. Naopak vedení poskytovatelů zdravotních služeb si obvykle náročnost splnění nových požadavků neuvědomuje. Pracoviště tak nejsou ve shodě s požadavky IVDR článku 5 odst. 3 až 5. V přednášce bude představen projektový přístup pro zvládnutí těchto náročných úkolů.

## PROBLEMATIKA IVDR V IMUNOLOGICKÉ LABORATOŘI

Vlas T.

Ústav imunologie a alergologie FN Plzeň  
Fakulta zdravotnických studií, ZČU v Plzni

In vitro diagnostika (IVD) hraje zásadní roli ve zdravotní péči tím, že poskytuje kritické informace pro diagnostiku, monitorování a prevenci chorob. V reakci na potřebu zvýšené kvality a bezpečnosti těchto prostředků Evropská unie přijala nařízení o diagnostických zdravotnických prostředcích *in vitro* (IVDR), které nahradilo předchozí směrnici IVD (IVDD). IVDR (Regulation (EU) 2017/746) bylo oficiálně přijato 5. dubna 2017 a vstoupilo v platnost 26. května 2017, přičemž plné provedení a povinná shoda s jeho požadavky byla stanovena na 26. května 2022.

Toto nařízení přináší významné změny, včetně přísnějších požadavků na bezpečnost a účinnost zdravotnických prostředků, zvýšené transparentnosti a sledovatelnosti produktů a důraznějšího klinického hodnocení. IVDR zavádí novou klasifikaci IVD prostředků do čtyř rizikových tříd (A, B, C a D), což má přímý dopad na úroveň regulační kontroly a požadavky na posouzení shody.

Nařízení stanovuje různé lhůty pro přechodná období, která umožňují výrobcům přizpůsobit se novým požadavkům. Tyto lhůty zahrnují následující klíčová data:

- 26. května 2022:** Datum, od kterého musejí být všechny nové IVD zařízení uvedena na trh v souladu s IVDR. Pro výrobky s označením CE podle staré směrnice IVDD byla zavedena přechodná opatření, která umožňují jejich uvedení na trh až do 26. května 2025, pokud splňují určité podmínky.
- 26. května 2024:** Od tohoto data musí být oznámené subjekty akreditovány podle IVDR, aby mohly provádět posuzování shody pro třídy B, C a D.
- 26. května 2025:** Datum ukončení platnosti certifikátů vydaných podle IVDD, kdy musí být všechny výrobky na trhu plně v souladu s IVDR.

V březnu 2024 došlo u IVDR pro výrobce k odkladu do roku 2030; z tohoto odkladu byly vyjmuty „in-house“ testy, pro něž platí původní datum zavedení účinnosti normy od 26. 5. 2024.

IVDR také klade důraz na zavedení post-marketingového dohledu a systémů pro řízení rizik, aby bylo zajištěno nepřetržité sledování bezpečnosti a výkonnosti IVD prostředků. Implementace této normy má za cíl posílit ochranu pacientů a uživatelů, zvýšit důvěru ve zdravotnické prostředky a zajistit jednotné podmínky na evropském trhu zdravotnických prostředků.

## JAK KOMUNIKOVAT ELEKTRONICKY, ABYCHOM SI ROZUMĚLI

Stávek P.

Institut klinické a experimentální medicíny (IKEM),  
Praha

Výpočetní technika se pro řízení provozu českých laboratoří využívá bezmála 40 let. Laboratorní informační systémy (LIS) nejdříve nahradily laboratorní knihy, následoval sběr dat z analyzátorů, a nakonec byly hledány cesty, jak dostat výsledky stanovení co nejrychleji na oddělení. Začátkem devadesátých let minulého století disponoval nemocničními informačními systémy (NIS) stále větší počet nemocnic a v tu dobu tvořily laboratorní žádanky a výsledky podstatnou část objemu komunikace. Velmi záhy bylo jasné, že brzy nebude stačit sdílet (nejen) laboratorní data pouze v rámci nemocnice, ale naopak bude žádoucí je posílat mezi různými zdravotnickými zařízeními. V této době bylo používáno několik desítek různých, většinou lokálních komunikačních protokolů. Proto bylo nutné komunikační rozhraní standardizovat. Z iniciativy Ministerstva zdravotnictví, IPVZ a firem vytvářejících informační systémy pro zdravotnictví tak vznikl Datový standard pro předávání dat mezi informačními systémy zdravotnických zařízení (DASTA). Oficiálně byl uveden do praxe v roce 1997.

Dalo by se předpokládat, že po čtvrt století by měla být komunikace s minimem chyb. Opak je bohužel pravdou. Mnohá pracoviště provedla implementaci do svých IS nesprávně. Nežádá to proběhlo způsobem „nařídili nám to, musíme to nějak nastavit“, jako by dotyční pracovníci nepochopili, že pokud všichni nebudeme používat jednotný a všem srozumitelný jazyk, ve výsledku můžeme ohrozit život konkrétního pacienta.

Chybovost je pak alarmující. Proč tomu tak je? Autor se domnívá, že svůj dluh nesou všechny články řetězce. Pracovníci laboratoří musí pochopit, že komunikační kanály je nutné průběžně udržovat, aby byly aktuální. Tam, kde je nastavili v minulosti bez další údržby, je nutné provést celkovou revizi NČLP kódů i verze DASTA. Odpovědnost je na nich. Nemalou měrou se na tristním stavu NČLP podílí i odborné společnosti, kdy nepřístupují dostatečně aktivně při zavádění kódů pro nové položky. Je třeba si uvědomit, že nestačí mít moderní analyzátoři, perfektní výsledky interní a externí kontroly kvality, úhledný a barevný výsledkový list atd. Vše toto nakonec znehodnotí poslaná elektronická sestava, která odporuje popisu DASTA a laboratoř objednateli vlastně dodá zmetek.

## Alergie na hmyzí jedy

### HIGH BURDEN OF CLONAL MC DISORDERS AND H $\alpha$ T IN PATIENTS WHO NEED VIT

Korošec P.

*University Clinic of Respiratory and Allergic Diseases Golnik; Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana; Faculty of Medicine, University of Maribor; Slovenia*

Before initiating venom immunotherapy (VIT), there is a need to identify possible underlying clonal MC disorders (CMD) or hereditary  $\alpha$ -tryptasemia (H $\alpha$ T; inherited replications of  $\alpha$ -tryptase-encoding gene copies at *TPSAB1*) that may affect the risk and severity of future sting reactions, and/or long-term effectiveness of VIT. Identifying those inherited or acquired risk factors would help drive clinical decision-making. However, routine tryptase genotyping and examination for *KIT* p.D816V in PBL have not been employed prospectively in large HVA populations undergoing VIT. Very recently, we have performed this testing by employing prospective universal tryptase genotyping and examination for *KIT* p.D816V in peripheral blood of large HVA populations and demonstrated a high burden of CMD and H $\alpha$ T in patients who require VIT, an order of magnitude higher than some previous reports. CMD or H $\alpha$ T was present in more than one in four individuals requiring VIT and nearly half of those with a history of severe sting anaphylaxis. The majority of those with CMD had normal BST levels – even those with severe HVA. Individuals with both CMD and concomitant H $\alpha$ T were at greatest risk and had the most severe outcomes. This multi-center prospective study illustrates the utility and importance of performing these screening assays routinely and demonstrates how doing so can have a direct impact on the clinical management of these patients. These findings will improve our ability to target those at greatest risk with the most effective strategies to prevent future anaphylaxis.

### DIAGNOSTIKA HEREDITÁRNÍ A-TRYPTASEMIE V GENETICKÉ LABORATOŘI CKTCH BRNO

Grombřířiková H., Freiburger T.

*Genetická laboratoř, Centrum kardiovaskulární a transplantáční chirurgie, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno, Česká republika*

Hereditární  $\alpha$ -tryptasemie (H $\alpha$ T) je autozomálně dominantní stav charakterizovaný zvýšeným počtem kopií genu *TPSAB1*, který kóduje  $\alpha$ -tryptázu. Prevalence H $\alpha$ T v evropské populaci je 5,4 %. Jedinci s H $\alpha$ T mají typicky zvýšenou bazální hladinu tryptázy. Zjištění H $\alpha$ T je důležité při hodnocení hladin sérové tryptázy při diagnostice systémové mastocytózy a anafylaxe. H $\alpha$ T je asociována s těžkými anafylaktickými reakcemi na jed blanokřídlých a potravinové alergenů, s idiopatickou anafylaxí, i se zvýšeným výskytem systémové mastocytózy. V současné

době se diskutuje o zahrnutí H $\alpha$ T jako důležitého biomarkeru do modelů hodnocení rizika a budoucích diagnostických algoritmů pro pacienty s mastocytózou a/nebo anafylaxí.

Genetická struktura lidského tryptázového lokusu je složitá, geny pro  $\alpha$ - a  $\beta$ -tryptázu jsou značně homologní, což komplikuje molekulárně genetickou diagnostiku H $\alpha$ T. V genetické laboratoři CKTCH Brno jsme zavedli metodu diagnostiky H $\alpha$ T využívající digitální PCR, která kvantifikuje geny kódující  $\alpha$ - a  $\beta$ -tryptázu. První výsledky ukazují vysokou specifitu a citlivost vyšetření. Diskutujeme přínos i praktické aspekty vyšetření.

*Podpořeno grantem MUNI/A/1566/2023.*

### DIAGNOSTIKA ALERGIE NA HMYZÍ JEDY, JSME PŘIPRAVENI NA INVAZI NOVÝCH DRUHŮ?

Vachová M.

*Ústav imunologie a alergologie FN Plzeň a LF UK v Plzni*

Alergie na hmyzí jedy je v Evropě nejčastější příčinou anafylaxe. Většina alergických reakcí po bodnutí je způsobena hmyzem z řádu blanokřídlí (*Hymenoptera*), nejčastěji vosou a včelou. Přednáška tudíž shrnuje nejnovější poznatky týkající se diagnostiky alergie na jed vosy a včely. Důraz bude kladen zejména na přínos molekulární diagnostiky, se zaměřením na naše zkušenosti s molekulou včelího jedu Api m 4, dostupnou v režimu „research-use“. Dále bude pozornost věnována aktuálním možnostem diagnostiky alergie na jedy méně obvyklých druhů hmyzu, se kterými se díky globálnímu oteplování a možnému importu těchto hmyzů i do našich končin můžeme teoreticky také setkat. V rámci sdělení bude prezentován jednoduchý diagnostický algoritmus určený k vyšetření pacientů se suspektní alergií na hmyzí jed, vhodný k využití v běžné praxi.

*Podpořeno projektem institucionálního výzkumu MZČR – FNPI, 00669806. Podpořeno projektem Co-operation Imunita a infekce (LF v Plzni, Univerzita Karlova).*

### ALERGENOVÁ IMUNOTERAPIE JEDEM – MODIFIKOVANÉ POSTUPY

Kučera P.

*Oddělení alergologie a klinické imunologie, Ústav imunologie a klin. biochemie, FN KV a 3. LF UK Praha*

**Cíl práce:** Alergenová imunoterapie jedem hmyzu (venom immunotherapy, VIT) je imunomodulační terapie, vedoucí k navození téměř úplné tolerance alergenu – jedu rodu *Hymenoptera*, který způsobuje systémovou alergickou reakci u citlivých jedinců. Oproti imunoterapii inhalovanými alergeny je jedinou aplikační cestou



injekční cesta. Základní iniciální postup VIT je klasické podávání stoupajících jednotlivých dávek v týdenním intervalu. Alternativní možností je podávání více dávek každý den (rush postup), nebo při jedné návštěvě pacienta v ambulanci (cluster postup). Tyto protokoly vedou k dřívějšímu dosažení udržovací dávky, a tedy i tolerance, a dále dochází k úspoře času pacienta. VIT je zatížena malým rizikem výskytu systémových nežádoucích účinků, zejména v úvodní fázi; dle literárních zdrojů je klasický postup lépe tolerován než zrychlené postupy. Celkové nežádoucí účinky mají velmi různý výskyt kvůli své definici; výskyt těžkých alergických reakcí je velmi vzácný. Zaměřili jsme se na bezpečnost VIT metodou cluster.

**Materiál a metody:** Na našem pracovišti je sledován výskyt systémových alergických reakcí při alergénové imunoterapii (AIT) jako indikátor kvality poskytované péče. Retrospektivně jsme analyzovali výskyt systémových alergických reakcí při aplikaci alergenu inhalačního a alergenu jedu s postupy klasickými a postupem cluster v období let 2015–2023.

**Výsledky:** Výskyt systémových alergických reakcí se pohyboval v rozsahu 0–3 události za rok (0–0,18 % ze všech podaných aplikací AIT). Použití alergenu jedu představuje cca polovinu pacientů s AIT, postup cluster byl použit u 40 % pacientů s VIT: Bezpečnost imunoterapie různými alergeny i postupy byla srovnatelná.

**Závěr:** Aplikace VIT s postupem cluster lze označit jako relativně bezpečnou alternativu léčby, která zkrátí časově náročnou část iniciální léčby, dříve dosáhne udržovací dávky a tolerance alergenu. Její bezpečnost umožňuje aplikaci v ambulantním zařízení AKI vybaveným postupem a trénovaností na léčbu anafylaxe.

## VENÓMOVÁ IMUNOTERAPIA A JEJ ŠPECIFIKÁ V DETSKOM VEKU (RWE)

Kapustová D.<sup>1</sup>, Kapustová L.<sup>1</sup>, Petrovičová O.<sup>1</sup>, Šlenker B.<sup>1</sup>, Mikler J.<sup>1</sup>, Jeseňák M.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Klinika dětí a dorastu, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Univerzitná nemocnica Martin*

<sup>2</sup> *Oddelenie klinickej imunológie a alergológie, Univerzitná nemocnica Martin*

### Ciele

Cieľom našej práce bola špecifikácia VIT v detskom veku, zostavenie súboru detských pacientov s alergiou na jed blanokřídneho, analýza priebehu systémovej alergickej reakcie po bodnutí blanokřídlým hmyzom, vyhodnotenie tolerance, výskytu nežádúcich účinkov a efektivity VIT a štatistické zhodnotenie zmien vybraných laboratórných parametrov počas liečby VIT.

### Materiál a metódy

Vytvorili sme prospektívnu štúdiu, ktorú celkovo tvorilo 33 detských pacientov. Dáta boli zberané postupne od roku 2015 do roku 2024. Definovali sme základnú charakteristiku súboru, analyzovali toleranciu a efektivitu liečbu, výskyt nežádúcich účinkov a zmenu vybraných imunologických laboratórných parametrov počas podávania VIT.

### Výsledky

Celkovo náš súbor tvorilo 33 pacientov, z toho 12 dievčat a 19 chlapcov. Častejšie sa vyskytovala alergia na jed včely (60,6 %) ako na jed osy (42,4 %), z toho jeden pacient mal súčasne diagnostikovanú alergiu na jed včely aj osy. VIT bola realizovaná v režime cluster. Medzi najčastejšie klinické prejavy alergie na jed blanokřídneho hmyzu patrili kožné prejavy (angioedém, pruritus, generalizovaná urtikária) a dyspnoe. Nežiadúce účinky počas podávania VIT sa najčastejšie vyskytli počas úvodnej fázy režimu cluster, pričom prevažná väčšina bola v zmysle lokálnych reakcií v mieste podania alergénu. Prirodzená reexpozícia bola hlásená u 18,2 % pacientov, pričom nedošlo k rozvoju anafylaktickej reakcie. Zaznamenali sme taktiež pozitívne zmeny v dynamike vybraných imunologických laboratórných parametrov (napr. vzostup šIgG4 proti alergénovému extraktu, pokles šIgE proti extraktu a alergénovým komponentom jedu blanokřídneho hmyzu), ktoré poukazujú na postupné navodenie imunitnej tolerance v priebehu podávania VIT.

### Záver

Každému detskému pacientovi s alergiou na jed blanokřídneho hmyzu vzhľadom na závažnosť reakcie (často až život ohrozujúci stav) by mala byť navrhnutá realizácia jedinej kauzálnej liečby, ktorou je venómová imunoterapia. Aj naše skúsenosti dokladujú, že táto liečba je práve v detskom veku veľmi efektívna, dobre tolerovaná a bezpečná terapia, ktorá dokáže výrazne zlepšiť kvalitu života detského pacienta ako aj jeho rodiča.

## NEZBYTNÁ VÝBAVA PRO PACIENTA S ALERGIÍ NA HMYZÍ JED KE ZVLÁDNUTÍ ANAFYLAXE

Vítovcová P.<sup>1</sup>, Vachová M.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Ústav imunologie a alergologie FN Plzeň*

<sup>2</sup> *Ústav imunologie a alergologie LF UK v Plzni*

Anafylaktická reakce je závažná a potencionálně život ohrožující celková reakce s typicky rychlým nástupem. Rychlé rozpoznání a včasné zahájení léčby je tedy pro pacienta zcela zásadní. Léčbou první volby je neprodlené intramuskulární podání adrenalinu. Pacienti, kteří již mají v anamnéze závažnou celkovou alergickou reakci po bodnutí blanokřídlým hmyzem, by měli být vybaveni pohotovostní léčbou obsahující zejména adrenalinový autoinjektor. Tento „pohotovostní balíček“ by měli nosit stále u sebe. Pacienti by měli být řádně poučeni, jak se v případě bodnutí zachovat. Vybavení pohotovostní léčbou u pacientů s pozitivní anamnézou anafylaktické reakce před zahájením alergénové imunoterapie hmyzím jedem je jednoznačné. Doporučení pro vybavení touto léčbou u pacientů v průběhu a po ukončení alergénové imunoterapie včelím nebo vosím jedem prochází průběžně revizemi a je předmětem diskusí. Doporučení se liší nejen napříč jednotlivými zeměmi, ale také klinická praxe je rozdílná mezi jednotlivými odborníky.

*Podpořeno projektem institucionálního výzkumu MZČR – FNPI, 00669806. Podpořeno projektem Coopera-tio Imunita a infekce (LF v Plzni, Univerzita Karlova).*

## Spojené cesty alergoimunologa a gastroenterologa

### GASTROINTESTINÁLNÍ TRAKT JAKO KLÍČOVÝ HRÁČ V PATOGENEZI A KLINICKÝCH PROJEVECH VROZENÝCH PORUCH IMUNITY

Králičková P.

Ústav klinické imunologie a alergologie, LF UK a FN Hradec Králové

#### Mikrobiom a neinfekční komplikace vrozených poruch imunity

*Souvislosti mezi mikrobiomem, metabolismem lipidů a naladěním imunitního systému se ve své přednášce věnovala doc. MUDr. Pavlína Králičková, Ph.D., z Ústavu klinické imunologie a alergologie LF UK a FN Hradec Králové. Jak doložila, odlišnosti ve složení mikrobiomu a poruchy lipidového spektra se u vrozených poruch imunity vyskytují převážně u pacientů s neinfekčními komplikacemi, zatímco pacienti s pouze infekčním fenotypem IEI mají mikrobiom podobný jako zdraví lidé.*

#### Neinfekční komplikace vrozených poruch imunity

Pacienty s IEI přivádějí do ambulancí imunologů většinou časté závažné infekce. Téměř u 20 % jsou ale důvodem vyšetření projevy spojené s dysregulací imunitního systému s infekcí či bez infekce. Podíl neinfekčních komplikací u pacientů s IEI v průběhu onemocnění narůstá. Tyto komplikace jsou zastoupeny ve všech klinických jednotkách IEI. U dospělých nejčastěji samozřejmě u chorob daných imunitní dysregulací, ale často také u pacientů s protilátkovou deficiencí.

Neinfekční komplikace IEI zahrnují autoimunitní onemocnění, dysregulace imunity imitující autoimunitní onemocnění, maligní nádory a alergie. Klinický obraz IEI je velmi pestrý, a to i v rámci stejné genetické mutace. Může to být dáno rozdíly v genetickém pozadí, vlivem vnějšího prostředí, ale také složením mikrobiomu. Mikrobiom totiž tvorbou mastných kyselin s krátkým řetězcem epigeneticky přímo ovlivňuje DNA hostitele a expresi jednotlivých genů a dokáže přeladit fungování imunitního systému.

#### Neinfekční projevy CVID

U pacientů s CVID se neinfekční komplikace vyskytují v 68 %. U třetiny nemocných jde o autoimunitní onemocnění (hematologická, diabetes 1. typu, revmatoidní artritida, systémový lupus erythematoses, tyreopatie, psoriáza), či o polyklonální infiltrace orgánů plynoucí z imunitní dysregulace (GLILD, granulomy, splenomegalie, lymfadenopatie, nodulární regenerativní hyperplazie jater). U 7 % pacientů je postižena nějaká část zažívacího traktu a rozvíjí se perniciózní anemie, intestinální metaplasie žaludku, syndrom podobný celiakii nebo nespecifickým střevním zánětům.

Se změnou mikrobiomu úzce souvisí nodulární regenerativní hyperplazie jater. Jejím iniciální projevem jsou

plíživě se zhoršující jaterní testy; pak náhle dochází ke zhoršení jaterních funkcí až selhání. Často je diagnostikována pozdě. Časnější záchyt umožní provedení jaterní elastografie u pacientů s IEI velikostí sleziny > 16 cm a případná následná jaterní biopsie. Při potvrzení tohoto onemocnění se nasazuje imunosupresivní léčba, popř. léčba cílená na zjištěnou genetickou poruchu. V pozdních fázích onemocnění jsou výsledky HSCT a transplantace jater dosti neuspokojivé.

#### Mikrobiom u pacientů s CVID

Mikrobiom se vyvíjí do 4.–5. roku života. Jeho složení je ovlivňováno životním stylem a stravou a vykazuje úzký vztah s řadou onemocnění – s inzulínovou rezistencí, neurodegenerativními chorobami či poruchami imunity. U pacientů s CVID s nedostatkem slizničních IgA protilátek má mikrobiom jiné složení s převahou agresivnějších bakterií poškozujících střevní epitel, což zvyšuje jeho propustnost a vede k rozvoji systémového zánětu, především jater, ale i plic. U pacientů s CVID byla zjištěna nižší diverzita mikrobiomu a odlišné zastoupení jednotlivých kmenů bakterií.

Podstatným zjištěním je fakt, že mikrobiom pacientů s CVID pouze infekčního fenotypu se blíží mikrobiomu zdravých jedinců, naopak u pacientů s neinfekčními komplikacemi IEI je mikrobiom odlišný.

Některé změny střevního mikrobiomu vedou ke změnám lipidového profilu. U pacientů s IEI bývá normální hladina celkového a LDL cholesterolu, ale snížený HDL-c a zvýšené triglyceridy a VLDL-c, a to nezávisle na BMI. Zvýšená akumulace non-HDL-c v buňkách doložená u pacientů s IEI podporuje systémový zánět. Tento prozánětlivý lipidový profil zřejmě zvyšuje riziko neinfekčních komplikací IEI. Bylo zjištěno, že pacienti s IEI pouze s infekčními komplikacemi mají hladinu HDL blížící se zdravým jedincům, zatímco pacienti s neinfekčními komplikacemi IEI mají HDL nižší. Podobně je tomu v opačném směru s hladinou triglyceridů.

#### Možnosti ovlivnění mikrobiomu u pacientů s IEI

Příznivě může mikrobiom ovlivnit středomořská dieta, strava bohatá na vitaminy A a D a na kvašené výrobky, která zlepšuje střevní bariéru. Efekt probiotik nebyl u pacientů s IEI dosud doložen. Pozornost je nyní soustředěna na postbiotika, což jsou produkty střevních bakterií, např. mastné kyseliny s krátkým řetězcem. Fekální transplantace je spíše přemostěním krátkodobého kritického období (např. pro klostridiové enteritidy po antibiotické léčbě) než dlouhodobé řešení, a může být u pacientů s EIEI dokonce riziková.

#### Závěr

Byla prokázána těsná souvislost mezi složením mikrobiomu, metabolismem lipidů a naladěním imunitního systému. Mikrobiom je také zřejmě v příčinném vztahu s neinfekčními komplikacemi imunity.

## EOZINOFILNÍ EZOFAGITIDA A NAŠE ZKUŠENOST

Pecl J., Jabandžiev P.

*Pediatrická klinika, Fakultní nemocnice Brno*

Eozinofilní ezofagitida (EoE) je chronické progresivní zánětlivé onemocnění jícnu. Předkládáme retrospektivní analýzu námi sledovaných případů se zdůrazněním praktických poznámek vyplývajících z odborné zkušenosti s pacienty se stále významně poddiagnostikovaným onemocněním. Pediatrická klinika v Dětské nemocnici v Brně zajišťuje komplexní diagnosticko-terapeutickou péči o pacienty s tímto onemocněním. Typickým rysem EoE je dlouhý symptomatický čas před stanovením diagnózy, zejména u mladších pacientů. Vzhledem k absenci neinvazivních markerů EoE je v současné době jedinou možností stanovení diagnózy a monitorování efektu léčby invazivní ezofagoskopie s etážovým odběrem vzorků sliznice jícnu. Toto vyšetření u dětí často vyžaduje celkovou anestezii a přináší řadu dalších rizik. Znalost přesné imunopatogeneze a stanovení spolehlivé kombinace neinvazivních markerů aktivity EoE skýtá potenciál zefektivnit, personalizovat léčbu a zmírnit její negativní dopady; v současné době je proto předmětem našeho výzkumu.

*Podpořeno MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705)*

## SYNDROM BAKTERIÁLNÍHO PŘERŮSTÁNÍ V TENKÉM STŘEVĚ (SIBO) – DIAGNOSTIKA, LÉČBA A KLINICKÉ KONSEKVENCE

Bureš J.

*Ústav gastrointestinální onkologie ÚVN a Interní klinika I. LF UK a ÚVN, Praha*

Syndrom bakteriálního přerůstání v tenkém střevě (SIBO – Small Intestinal Bacterial Overgrowth syndrom) je definován jako zvýšený počet a/nebo abnormální složení mikroorganismů v tenkém střevě, způsobující gastrointestinální nebo dokonce mimostřevní příznaky. Fermentace sacharidů v tenkém střevě je spojena se zvýšenou tvorbou plynů (vodík, metan, sirovodík). Diagnostický je průkaz koliformních bakterií (>103 CFU/ml) v aspirátu z distálního duodena nebo proximálního jejunu. SIBO patří mezi nejvíce opomíjené diagnózy. Je častým nálezem u klinicky zdravých seniorů (75–94 let): až u 90 %. Prevalence SIBO je vysoká u morbidně obézních (25 %), u dráždivého tračnicku (30–85 %), sklerodermie (50 %), diabetes mellitus (30 %) nebo jaterní cirhózy (50 %). U všeobecné dospělé populace je prevalence odhadována 2,5–22 %.

Mezi stavy spojené se zvýšeným rizikem vzniku SIBO patří poruchy gastrointestinální motility (např. sklerodermie, mitochondriální myopatie aj.), onemocnění s narušenou anatomií tenkého střeva (Crohnova choroba, stavy po resekci tenkého střeva aj.), choroby se systémovými projevy (diabetes mellitus, obezita, celiakie, amyloidóza, hypotyreóza aj.) a farmakoterapie (inhibitory protonové pumpy, systémové glukokortikoidy, cytostatika aj.). Častý je současný výskyt SIBO a další

závažné komplikace – malabsorpce žlučových kyselin (zejména u onkologických pacientů a v případech stavů po resekci terminálního ilea). Symptomatologie SIBO je pestrá a různě závažná, od nespecifické dyspepsie s nadýmáním, přes průjmy (avšak u metanogenního fenotypu je zácpa), malabsorpční syndrom, metabolickou kostní nemoc, anemii až po intestinální selhání. Klinický obraz modifikuje základní onemocnění vedoucí k SIBO. Závažné mohou být projevy deficitu vitaminů (B12, D, A, thiamin, nikotinamid) a stopových prvků (železo, zinek).

Diagnostika SIBO je mikrobiologická (aspirát z tenkého střeva) nebo neinvazivními vodíkovými a metanovými dechovými testy (po podání glukózy nebo laktulózy). Principem léčby je terapie základního onemocnění (je-li možná), eliminace rizikových faktorů SIBO, řešení nutričních deficitů a prevence komplikací. K farmakoterapii SIBO se používá periodická rotace perorálních antibiotik (rifaximin, metronidazol, neomycin). Novinkou v léčbě je koligenta (perorální kolimycin a gentamycin). Prognóza SIBO je zpravidla závažná, je dána základním onemocněním, klinickými projevy, karencními stavy a komplikacemi (např. vyplývajícími z narušené bariérové funkce střeva). Nezbytný je přísně individualizovaný přístup ke každému pacientovi.

## BEZPEČNOST, KOMPLIKACE, PARADOXNÍ REAKCE A NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY INOVATIVNÍ LÉČBY IBD

Douda T.

*II. interní gastroenterologická klinika, IBD centrum, LF UK a FN Hradec Králové*

Charakteristickým znakem IBD je chronický střevní zánět vedoucí k patologické reakci ve vrozeném i adaptivním imunitním systému. Etiologie jak Crohnovy choroby, tak ulcerózní kolitidy je známa jen částečně; je způsobena souhrou mnoha faktorů – od genetické náchylnosti po vliv vnějšího prostředí komenzální střevní flóry a dysfunkci imunitního systému. Patogeneze IBD – nauka o mechanismech vzniku nemoci – je známá poměrně dobře. Rozmanité spektrum možných spouštěčů a komplexní imunitní odpověď nabízí mnoho terapeutických cílů, které se odrážejí v škále léků na IBD, jež byly vyvinuty.

Biologická léčba IBD má za sebou dvacetileté období. V současnosti představuje nejefektivnější léčebnou modalitu idiopatických střevních zánětů, přesto však nevede k trvalému vyléčení u většiny pacientů. Cílovým působením biologik je molekula, která má klíčové postavení v patogenezi IBD. Biologické preparáty lze dělit do několika skupin, kterými jsou inhibitory TNF $\alpha$ , inhibitory adhezivních molekul 4 $\beta$ 7, inhibitory interleukinu IL-12/23 nebo samotného IL-23. Další inovativní léčbou jsou tzv. „malé molekuly“. Nízká molekulová hmotnost velmi zásadně ovlivňuje způsob podávání léku, cílové působení, farmakokinetiku, imunogenicitu i lékové interakce. Hlavní výhodou malých molekul je možnost jejich perorálního podávání a odolnost vůči degradaci v kyselém žaludečním prostředí. Další charakteristikou malých

molekul je jejich krátký biologický poločas. Mezi malé molekuly řadíme inhibitory Janusových kináz a blokátory receptoru sfingosin-1 fosfát.

Nežádoucí účinky léčby se týkají zejména anti-TNF inhibitorů. Mimo infekční komplikace se vyskytují intrainfuzní reakce (závažné v 1 %, mírné v 5–13 %) a alergické reakce opožděného typu (s frekvencí 1–3 %). Pacienti léčení anti-TNF mohou mít zvýšené riziko vzniku non hodgkinského lymfomu (při konkomitantní léčbě thiopuriny) a zvýšené riziko maligního melanomu. Paradoxní autoimunitní kožní reakce vzniká u anti-TNF léčby až u 20 % léčených. Patří mezi ně psoriáza, palmoplantární pustulóza a psoriaziformní kožní léze. Lupus like syndrom je komplikace postihující 2 % léčených pacientů. Všechna biologická léčiva dostupná v České republice určená pro léčbu IBD jsou látky bílkovinné povahy (IgG1 monoklonální protilátky). V době 3. trimestru gravidity jsou aktivně transportovány přes placentu, a tím se dostávají i do oběhu plodu. Anti-TNF léčba je považována za bezpečnou v těhotenství. Dosavadní publikované výsledky ohledně ustekinumabu a vedolizumabu neprokazují její negativní vliv na průběh těhotenství a na vývoj plodu. Malé molekuly jsou v těhotenství kontraindikovány.

### SYSTÉMOVÁ SKLERODERMIE, POSTIŽENÍ GIT A MIKROBIOM

Jansová A., Soukup T.

*Subkatedra revmatologie, II. interní klinika LF UK a FN Hradec Králové*

Systémová sklerodermie (SSc) je systémové autoimunitní onemocnění, které se vyznačuje vaskulopatií,

poruchami imunitního systému a fibrotizací, což vede k postižení kůže a vnitřních orgánů. Postižení gastrointestinálního traktu (GIT) je téměř nedílnou součástí SSc.

Onemocnění GIT u SSc je variabilní. Způsobuje ho neuromuskulární dysfunkce a progresivní fibrotizace stěny trávicího traktu při ukládání kolagenu a dalších složek extracelulární matrix. To vede k dysmotilitě, malabsorpci, malnutrici a dilataci lumen GIT. Nejčastějšími příznaky jsou meteorismus, dysfagie a pálení žáhy. V těžkých případech může postižení GIT vést až k letálním komplikacím, jako je těžká intestinální pseudoobstrukce a karcinom jícnu. Příznaky postižení GIT se mohou objevit již před stanovením základní diagnózy. Mezi základní diagnostické metody pro zjištění GIT komplikací patří flexibilní esofagogastroduodenoskopie a ultrazvuk břicha.

Terapie postižení GIT u SSc je zejména symptomatická (režimová opatření, inhibitory protonové pumpy nebo H<sub>2</sub> blokátory, prokinetika), v případě syndromu bakteriálního přerůstání je nutná antibiotická léčba, u inkontinence stolice má pozitivní efekt i biofeedback. Systémová imunoprese většinou nemá vliv na výskyt ani na intenzitu příznaků spojených s postižením GIT.

Specifická střevní mikrobiota může být spojena se závažností příznaků GIT u pacientů se SSc. Jsou popsány četné změny střevního mikrobiomu u různých GIT potíží. Předmětem výzkumu je i možnost ovlivnění příznaků spojených s GIT postižením pomocí ovlivnění mikrobiomu probiotiky, prebiotiky a transplantací stolice. Kožní mikrobiální dysbióza je spojena se sníženým metabolismem lipidů a zvýšenou aktivací imunity a signalizací TGF- $\beta$ , avšak práci o mikrobiomu kůže u SSc je velmi málo.

## Komplement a jeho poruchy

### DIFERENCIÁLNÍ DIAGNOSTIKA ANGIOEDÉMŮ

Baroš J.

*Ústav klinické imunologie a alergologie, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně a Masarykova univerzita v Brně*

Angioedém (AE) je přechodný a lokalizovaný otok hlubších vrstev kůže a/nebo sliznic trvající obvykle několik hodin až dnů. Angioedém vzniká v důsledku zvýšené cévní permeability a postihuje anatomické oblasti s řídkou pojivovou tkání (např. obličej, jazyk, hrtan, končetiny, genitál, střevní stěnu). Aktuální klasifikace angioedémů, tzv. DANCE (z angl. Definition, Acronyms, Nomenclature, and Classification of angioedema) rozlišuje 5 různých podtypů AE.

Jedná se o angioedém mediovaný produkty aktivace žírných buněk (mast cell-mediated AE), angioedém bradykinergní (bradykinin mediated AE), vzácný angioedém způsobený dysfunkcí vaskulárního endotelu (vascular endothelium AE), dále léky indukovaný angioedém (drug

induced AE) a angioedém s neznámým mechanismem (unknown AE). Z klinického hlediska zůstává nadále stěžejní odlišení angioedému mediovaného mediátory mastocytů (zejména histaminu) a angioedému bradykinergního. Toto rozlišení totiž následně určuje odlišné léčebné přístupy: Zatímco histaminergní AE je zpravidla dobře ovlivnitelný běžnou antialergickou medikací, bradykinergní AE je touto léčbou neovlivnitelný a vyžaduje specifický léčebný přístup.

Histaminergní angioedém je zdaleka nejčastějším typem angioedémů. Je často asociován s kopřivkou, případně doprovází plně rozvinutou anafylaktickou reakci. Mezi zástupce méně častých bradykinergních angioedémů patří naprostá většina typů hereditárního angioedému (HAE), dále získaný angioedém s deficitem C1-inhibitoru. Angioedém indukovaný tzv. inhibitory angiotenzin konvertujícího enzymu (AE-ACEi) je relativně častý z důvodu velkého množství pacientů užívajících tuto skupinu antihypertenziv. Nově je zařazen mezi tzv. léky indukované AE (a nikoliv mezi bradykinergní AE).

Důvodem je prozatím neprokázaná léčebná odpověď na terapii užívanou u jiných typů bradykinergního AE.

Mezi další léky, které mohou vyvolat rozvoj angioedému, patří např. gliptiny, tkáňové aktivátory plazminogenu, nesteroidní antiflogistika, případně antihypertenziva ze skupiny ARNI (angiotensin receptor-neprilysin inhibitor). Z diferenciálně diagnostického hlediska je mnohdy v klinické praxi potřeba odlišit stavy, které mohou angioedém připomínat, tzv. pseudoangioedémy. Při podrobnějším rozboru však zjistíme zásadní odlišnosti v klinických projevech. Patří sem např. alergická kontaktní dermatitida, myxedém, syndrom horní duté žíly, Melkerssonův–Rosenthalův syndrom a jiné. Přednáška si klade za cíl přehledně rozdělit jednotlivé typy angioedémů s ohledem na odlišnou patofyziologii a z toho vyplývající odlišné léčebné přístupy.

### ZÍSKANÝ ANGIOEDÉM AKO FENOKÓPIA VRODENEJ PORUCHY IMUNITY

Jeseňák M.

*Klinika dětí a dorastu, Jesseniova lékařská fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Univerzitná nemocnica Martin*

*Klinika pneumológie a ftizeológie, Jesseniova lékařská fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Univerzitná nemocnica Martin*

*Oddelenie klinickej imunológie a alergológie, Univerzita Komenského v Bratislave, Univerzitná nemocnica Martin*

**Angioedém** (AE) je jedným z najčastejších klinických symptómov v praxi imunoalergológa, pričom pri jeho terapeutickom manažmente je nevyhnutné rozlíšiť, či ide o angioedém **histamínerný** (t.j. mediovaný mastocytmi) alebo ide naopak o angioedém **bradykinínový** (t.j. non-histamínerný). Zatiaľ čo histamínerný AE vzniká v priebehu minút až hodín, je obvykle sprevádzaný urtikáriou a pruritom a dobre odpovedá na antihistaminiká či kortikoidy, bradykinínom mediovaný angioedém vzniká a trvá v priebehu hodín až dní, nesprevádza ho ani urtikária a ani pruritus, pacient pociťuje skôr bolesť, tenziu a nepozoruje odpoveď na klasickú antialergickú liečbu. Jedným z dôležitých diagnostických testov je nasadenie 4-násobnej dávky neseďatívneho antihistaminika po dobu očakávaných 3 atakov AE. V anamnéze je potrebné identifikovať **lieky, ktoré môžu vyvolať rekurentný AE** – najmä ACE inhibítory či glyptíny.

Pri absencii odpovede na antialergickú liečbu je potrebné zrealizovať diagnostický algoritmus pre **hereditárny angioedém** (HAE) pričom prvý a druhý typ (t.j. HAE asociovaný s C1-INH) možno potvrdiť jednoduchým vyšetrením koncentrácie a funkcie C1-INH a koncentrácie C4 zložky (genetická konfirmácia principiálne nie je nevyhnutná na potvrdenie dg. HAE I. či II. typu). Pri absencii rodinnej anamnézy na AE a vzniku príznakov až vo vyššom veku je vhodné *doplniť vyšetrenie C1q zložky komplementu*, ktorá býva znížená pri **získanej forme AE** (AAE). Získaný angioedém dnes radíme do novej

kategórie vrodených porúch imunity – **fenokópie vrodených porúch imunity**. Ide o špecifickú kategóriu VPI s raritným výskytom, ktoré svojim klinickým a laboratorným obrazom napodobňujú klasické VPI. Tieto poruchy však nie sú dedičné Mendelistickým spôsobom a vznikajú na podklade získanej príčiny – buď vo forme somatického mozaicizmu alebo na základe prítomných autoprotilátok (napr. C1-INH). Získaný angioedém vzniká buď na podklade *zvýšenej konzumpcie C1-INH* (napr. pri autoimunitných či lymfoproliferatívnych ochoreniach) alebo *na základe prítomnosti autoprotilátok proti samotnému C1-INH*. Liečba je podobná ako pri HAE avšak potrebné je odstránenie príčiny AAE, ak je to možné.

### DLOUHODOBÁ PROFYLAKTICKÁ TERAPIE: 5 LET ZKUŠENOSTÍ S LANADELUMABEM

Sobotková M., Zachová R.

*Ústav imunologie 2. LF UK a FN Motol, Praha*

Lanadelumab je plně humánní monoklonální protilátka (IgG1κ) určená k dlouhodobé preventivní léčbě pacientů s hereditárním angioedémem (HAE). Mechanismus jeho účinku spočívá v inhibici plazmatického kalikreinu, čímž tlumí tvorbu bradykininu, mediátoru zodpovědného za vznik angioedémů u pacientů s HAE. Jeho účinnost ověřila studie HELP (Hereditary Angioedema Long-term Prophylaxis), která probíhala ve 41 centrech od března 2016 do dubna 2017 a do níž bylo zařazeno celkem 125 pacientů. Na studii HELP navázala otevřená extenze (HELP OLE Study), do které přestoupilo 109 pacientů z původní studie HELP a 103 nových (212 pacientů celkem). V roce 2018, díky vysoké efektivitě prokázané studií HELP, získal lanadelumab registraci FDA (Food and Drug Administration) i EMA (European Medicines Agency).

Účinnost lanadelumabu u dětí s HAE od 2 do 12 let věku ověřila studie SPRING, která probíhala od srpna 2019 do října 2021 a do níž bylo zařazeno 21 pacientů. Na základě této studie v roce 2023 EMA i FDA rozšířily jeho indikaci pro profylaxi HAE i na věkovou kategorii od 2 let věku. Od roku 2024 má preparát v ČR stanovenou úhradu pro léčbu pacientů od 12 let věku se závažnou formou onemocnění, ale pro děti od 2 do 12 let zatím nebyla úhrada stanovena a její schválení podléhá reviznímu lékaři zdravotní pojišťovny.

Léčba lanadelumabem byla poprvé zahájena v ČR na našem pracovišti v listopadu 2019 a první pacient v terapii stále pokračuje. Postupně se přidávali další pacienti, takže ke konci června 2024 je u nás léčeno celkem 25 pacientů (13 žen a 12 mužů, z toho 2 děti). Léčba je velmi dobře tolerovaná a z nežádoucích účinků jsme zaznamenali pouze kožní reakce v místě aplikace, které byly mírné a nevyžadovaly přerušení léčby. Přípravek je vysoce efektivní, a proto téměř 80 % léčených pacientů nad 12 let věku může preparát aplikovat v nejnižší možné dávce 300 mg každé 4 týdny.

## DLOUHODOBÁ PROFYLAKTICKÁ TERAPIE: 4 ROKY ZKUŠENOSTI SE SUBKUTÁNNÍMI C1 INHIBITORY

Hakl R.

*Ústav klinické imunologie a alergologie, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně a Masarykova univerzita v Brně*

### Úvod

Hereditární angioedém, způsobený deficitem C1 inhibitoru (HAE), je vzácné vrozené onemocnění, které se manifestuje otoky podkoží a sliznic v důsledku nekontrolované aktivace komplementového systému. Během ataky může být postižena prakticky kterákoliv tkáň; klinická manifestace onemocnění je tedy velmi široká. Strategie léčby zahrnuje dlouhodobou a krátkodobou profylaxi a léčbu atak. Při zavádění dlouhodobé profylaktické terapie se hodnotí četnost a závažnost atak, kvalita života pacienta, dostupnost zdravotnických prostředků. Aktuální mezinárodní doporučení preferují použití léků první linie, kterými jsou lanadelumab, plazma derivovaný subkutánní C1 inhibitor (pdC1-INH sc) a berotralstat.

### Metoda

Analýza zkušeností s léčbou pdC1-INH sc jednoho specializovaného centra pro léčbu HAE.

### Výsledky

Celkem byla dlouhodobá profylaktická terapie pdC1-INH sc zavedena u 6 pacientů (6 žen, 4 HAE 1 typu a 2 HAE 2 typu). Dvanáct měsíců před zavedením dlouhodobé profylaktické terapie pdC1-INH sc byl medián počtu atak ve skupině 37 (rozmezí 23–95 atak). Prezentujeme zkušenost se zavedením dlouhodobé profylaktické terapie v průběhu těhotenství a kojení, zkušenost s medikací u pediatrického pacienta, zkušenost u pacientek, u nichž nebyly inhibitory plazmatického kalikreinu dostatečně efektivní nebo vedly k nežádoucím účinkům. Při používání dlouhodobé profylaktické terapie pdC1-INH sc jsme nezaznamenali žádné nežádoucí reakce.

### Shrnutí

Naše výsledky ukazují dobrou účinnost pd C1-INH sc v dlouhodobé profylaktické léčbě HAE: Pd C1-INH sc patří mezi moderní dlouhodobou profylaxi, tzv. léky první linie, a měly by být zvažovány u pacientů, u kterých léčba ostatními léčebnými přípravky není dostatečně efektivní nebo vede k nežádoucím účinkům a u těhotných nebo kojících pacientek. Terapie byla účinná u všech našich pacientů; nebyly zaznamenány nežádoucí reakce.

## INTRACELULÁRNÍ KOMPLEMENT

Štíhová J.

*Ústav klinické imunologie a alergologie, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně a Masarykova univerzita v Brně*

### Úvod

Komplementový systém je znám především jako účinný nástroj vrozené humorální imunity, který se významně podílí na obraně vůči cizorodým agens indukci v úvodní fázi zánětu. Většinu složek tohoto sérového komplementu vytvářejí játra. Výzkum v posledních letech však odhalil, že některé složky komplementu jsou syntetizovány také populacemi leukocytů a buněk tkání nezávisle na sérovém komplementu. V těchto buňkách jsou složky komplementu součástí intracelulárních signalizačních drah ovlivňujících nejrůznější aspekty buněčného metabolismu. Tento intracelulárně lokalizovaný komplement byl nazván termínem „komplosom“ a jako první byla jeho funkce popsána v lidských CD4<sup>+</sup> T-lymfocytech.

### Metody

Formou teoretické rešerše a reprezentativních výsledků měření komplosomu pomocí průtokové cytometrie bude demonstrována jeho funkce v CD4<sup>+</sup> T-lymfocytech.

### Výsledek

Komplosom v CD4<sup>+</sup> T-lymfocytech reguluje metabolismus v klidové fázi a poskytuje buňkám signály k dlouhodobému přežití skrze kinázu mTOR za podmínky absence antigenních podnětů. V případě antigenní stimulace komplosom řídí Th1 odpověď skrze komplementový receptor CD46, při které se v časně fázi adaptivní imunitní odpovědi diferencují efektorové Th1 lymfocyty s výrazným prozánětlivým účinkem (tvorba IFN- $\gamma$ ). Komplosom rovněž iniciuje fázi regulace v pozdní fázi adaptivní imunitní odpovědi, kdy reguluje diferenciaci z Th1 lymfocytů do tzv. regulačního fenotypu typu 1 (type 1 regulatory T-cell, Tr1), který se vyznačuje výrazným útlumem produkce IFN- $\gamma$  a nárůstem produkce IL-10 s řadou tlumivých účinků.

Nedostatečná funkce komplosomu v CD4<sup>+</sup> a CD8<sup>+</sup> T-lymfocytech je spojena s neschopností indukovat dostatečně silnou Th1 odpověď ústící v rekurentní respirační infekce, zejména v dětství. Naopak nadměrná aktivace komplosomu v CD4<sup>+</sup> T-lymfocytech byla popsána u některých autoimunitních onemocnění s převládající Th1 poškozující odpovědí (roztřoušená skleróza, revmatoidní artritida).

### Závěr

V rámci této přednášky bude stručně popsána funkce komplosomu v CD4<sup>+</sup> T-lymfocytech a jeho podílu na patofyziologii některých onemocnění, včetně současných možností jeho ovlivnění léčbou.

## Transplantační imunologie

### NOVÉ PŘÍSTUPY V IMUNOGENETICE TRANSPLANTACE KRVETVORNÝCH BUNĚK

Mrázek F., Mojtková N., Šidová V., Onderková J.  
*Ústav imunologie, Fakultní nemocnice Olomouc a LF  
Univerzity Palackého v Olomouci*

Alogenní transplantace krvetvorných kmenových buněk (aTKKB) je významnou léčebnou možností u řady hematologických malignit, závažných primárních imunodeficitů nebo vrozených metabolických poruch. Výsledky aTKKB limitují mj. aloimunitní komplikace, jako je nemoc štěpu proti hostiteli (angl. GvHD) nebo rejekce.

Vítaným je naopak imunoterapeutický efekt aTKKB označovaný jako GvL (reakce štěpu proti leukemii). Imunogenetické vyšetření k zajištění tkáňové slučitelnosti stále sehrává centrální roli ve výběru optimálního dárce pro aTKKB. HLA shoda dárce s pacientem na úrovni vysokého rozlišení v alelách HLA-A, -B, -C, -DRB1, (-DQB1) prokazatelně zvyšuje celkovou úspěšnost transplantace, význam má i lokus HLA-DPB1. Z hlediska tkáňové shody se za optimálního dárce považuje HLA identický sourozenec nebo nepříbuzenský dárce, alternativní variantou je HLA haploidentický příbuzný nebo nepříbuzenský dárce s HLA neshodou.

Efektivita vyhledávání a dostupnost vhodných dárců byla v posledních letech významně zvýšena díky aplikaci technologie sekvenování nové generace (NGS) do testování HLA systému. Vzhledem ke zvýšení podílu HLA haploidentických transplantací v poslední dekádě se nezbytnou součástí imunogenetického vyšetření pro aTKKB stala rovněž identifikace preformovaných protilátek proti neshodným HLA antigenům dárce, které mohou podmiňovat rejekci a selhání štěpu.

Na základě výsledků rozsáhlých studií se nedávno objevily další imunogenetické parametry, které mohou být perspektivně začleněny do výběru optimálního dárce nebo individualizace postupů aTKKB. V oblasti HLA genů se jedná např. o hodnocení dimorfismu vedoucí sekvence prvního exonu genu HLA-B, analýzu heterodimerů HLA-DQ (genů HLA-DQB1, -DQA1), případně podrobnější charakteristiku jednotlivých HLA inkompatibilit. Z non-HLA genů se dlouhodobě diskutuje význam variability receptorů NK buněk (zejména KIR) a jejich interakce s ligandy na buňkách příjemce.

Z hlediska doporučení pro výběr optimálního dárce a transplantačních protokolů je v poslední době věnována velká pozornost komplexnímu hodnocení imunogenetických parametrů v hierarchii dalších významných faktorů úspěšnosti aTKKB, jako jsou věk a pohlaví dárce, charakter a rizikovost základního onemocnění, přípravné režimy nebo urgentnost transplantace.

*Podpořeno MZ ČR – RVO (FNOL, 00098892).*

### EPLETOVÉ A PEPTIDOVÉ ALGORITMY, TRANSPLANTAČNÁ IMUNOLÓGIA DNES

Čereš A., Hatok J., Schniederová M., Košarišťanová T., Slovákova D., Petrisková J., Vnučák M., Dedinská I., Jeseňák M.  
*Jesseniova lekárska fakulta UK Bratislava*

Inkompatibilita v systéme hlavného histokompatibilného komplexu (HLA) medzi darcom a príjemcom môže po transplantácii solídnych orgánov (SOT) viesť k aloreaktivite T-lymfocytov a B-lymfocytov. Jedným z najčastejších prejavov aloreaktivity T-lymfocytov a B-lymfocytov v prípade inkompatibility HLA je iniciálna tvorba de novo donor-špecifických protilátok (dnDSA). Syntéza dnDSA vedie k neskorému, chronickému zlyhávaniu funkcie štěpu po transplantácii obličky, až k humorálnej rejekcii. Štúdie z niekoľkých transplantačných centier indikujú algoritmus PIRCHE-II a hodnoty peptidových rozdielov medzi HLA alelami darcu a HLA alelami príjemcu, ktoré sú schopné  $\alpha$  a  $\beta$ -domény TCR CD4+ T-lymfocytov rozpoznávať ako prediktívny nástroj imunologického rizika syntézy de novo DSA. Súčasťou PIRCHE-II algoritmu je aj Snow algoritmus, ktorý podľa autorov (Niemanna, Materna a Spieringse) v štúdií repeated local ellipsoid protrusion supplements HLA surface characterization z roku 2023 umožňuje lepšie predikovať syntézu de novo DSA po transplantácii obličky na základe stupňa protrúzie epletov a na základe expozície epletov na povrchu HLA molekúl.

Do štúdie v transplantačnom centre v Univerzitnej nemocnici v Martine sme zahrnuli kohortu 80 pacientov, u ktorých bola transplantovaná oblička v rokoch 1998 – 2021. V štúdií sme diagnostikovali prítomnosť de novo DSA proti darcovským HLA antigénom I. a II. triedy metódou Luminex®. Následne sme algoritmom PIRCHE-II s aktualizovanou frost databázou stanovili skóre imunokompatibility medzi jednotlivými HLA alelami I. a II. triedy darcu a príjemcu na základe rozdielnych peptidov, ktoré sú schopné HLA-DRB1 alely prezentovať TCR CD4+ T-lymfocytom príjemcu. Na stanovenie intralokusových a interlokusových peptidov na HLA alelách darcu sme použili algoritmus Snow, ktorý určuje protrúziu a expozíciu epletov.

Analýza výsledkov syntézy dn DSA proti HLA alelám A, B, DRB1 a DQB1 u jednotlivých pacientov významne koreluje so zvyšujúcou sa PIRCHE-II hodnotou pre alely HLA-A, -B, -DB1, DQB1. V prípade DQB1 alely pri skóre PIRCHE-II > 15 sme zistili pozitívnu prediktívnu hodnotu, PPV, 0,92 predikcie tvorby dn DSA. V prípade DQB1 alely pri skóre PIRCHE-II < 15 sme zistili negatívnu prediktívnu hodnotu, NPV, 0,78 predikcie syntézy dnDSA. Pre stanovenie senzitivity a špecificity syntézy dn DSA proti DQB1 alelám s PIRCHE-II hodnotou > 15 sme použili ROC krivku. ROC krivkou sme stanovili senzitivitu na úrovni 92 % a špecificitu na úrovni 76 %. V analýze kohorty 80 pacientov budeme pokračovať

stanovením hodnôt algoritmom Snow pre jednotlivé alely, ROC krivky, PPV, NPV a AUC. Z prvých výsledkov našej štúdie vyplýva, že PIRCHE-II algoritmus je významným predikčným algoritmom pre stanovenie imunologického rizika tvorby de novo DSA po transplantácii obličky na základe rozdielnej imunokompatibility medzi jednotlivými HLA alelami príjemcu a darcu.

### **VOLNÝ IL-18 V SÉRU JAKO BIOMARKER REJEKCE TRANSPLANTOVANÉ LEDVINY**

Stríž I., Čechrdlová E., Krupičková L., Fialová M., Novotný M., Tichánek F., Švachová V., Viklický O.  
*Institut klinické a experimentální medicíny (IKEM), Praha*

Prozánětlivé cytokiny a jejich inhibitory se podílejí na regulaci mnoha imunitních a imunopatologických reakcí včetně rejekce transplantovaných orgánů. Cílem naší prospektivní studie bylo vyhodnotit změny sérových koncentrací šesti cytokinů IL-1 rodiny (IL-1 alfa, IL-1 beta, IL-1RA, IL-18, IL-18BP a IL-36 beta) u 138 příjemců transplantované ledviny a 48 zdravých dárců. Vzorky byly odebrány před transplantací a poté po jednom týdnu, třech měsících a jednom roce, další séra byla získána v den biopsie pozitivní na akutní rejekci.

Prokázali jsme, že koncentrace prozánětlivých členů rodiny IL-1 (IL-1 alfa, IL-18, IL-36beta) a protizánětlivého IL-18BP se bezprostředně po transplantaci snížily. Pokles sérových IL-1RA a IL-1 alfa nebyl pozorován u subjektů s akutní rejekcí. IL-18, včetně své volné formy, je jediným cytokinem, jehož sérové koncentrace se v období mezi jedním týdnem a třemi měsíci u obou skupin pacientů zvyšují, aniž by došlo také k indukci jeho inhibitoru IL-18BP. Sérové koncentrace vypočteného volného IL-18 byly v době akutní rejekce zvýšeny ve skupině pacientů s akutní rejekcí.

Z našich výsledků lze usuzovat, že cytokiny rodiny IL-1 se uplatňují zejména v časných fázích reakce na transplantovanou ledvinu. Sérové koncentrace kalkulovaného volného IL-18 pak mohou představovat i jeden z možných biomarkerů akutní rejekce. Je také možné, že cílené ovlivnění IL-18 pomocí solubilního inhibitoru (IL-18BP-tadekinig) by mohlo mít i terapeutický význam.

*Podpořeno MZ ČR – RVO („Institut klinické a experimentální medicíny – IKEM, IČ 00023001“)*

### **MOLEKULÁRNÝ MIKROSKOP V HODNOTENÍ BIOPSIÍ OBLIČKOVÝCH ŠTEPOV**

Vnučák M.<sup>1,2</sup>, Beliančinová M.<sup>1</sup>, Kleinová P.<sup>1,2</sup>, Blichová T.<sup>1,2</sup>, Graňák K.<sup>1,2</sup>, Čereš A.<sup>3</sup>, Hrubá P.<sup>4</sup>, Viklický O.<sup>4</sup>, Dedinská I.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Transplantačno-nefrologické oddelenie UN Martin*

<sup>2</sup> *I. interná klinika UN Martin, Jesseniova lekárska fakulta a Univerzita Komenského Bratislava*

<sup>3</sup> *Klinika nefrologie, Transplantační centrum, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha*

<sup>4</sup> *Transplantační laboratoř, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha*

#### **Úvod**

Diagnostika rejekcie štepu sa opiera o identifikáciu donor špecifických protilátok spolu s histologickým nálezom. Problematické sú predovšetkým nálezy hraničných zmien, ktoré však až v 70 % prípadov predstavujú nerejekčné nálezy.

Cieľom analýzy bolo porovnať výsledky histopatologických záverov so závermi vyšetrenia molekulárnym mikroskopom, ktorý hodnotí génovú expresiu (celogenómová microarray čipová technológia) a s využitím „machine-learning“ princípu určuje pravdepodobnosť výskytu patologických zmien vo vyšetrovanej vzorke.

#### **Materiál, metódy**

Vyšetrenie molekulovým mikroskopom (MMDx) bolo použité u 17 pacientov (9 mužov a 8 žien) po transplantácii obličky na Transplantačno-nefrologickom oddelení v Martine, ktorí podstúpili indikačnú (n = 11) alebo protokolárnu biopsiu štepu (n = 6).

#### **Výsledky**

Priemerný vek pacientov bol 45,4 rokov ± 11,1 (priemerný follow up od transplantácie obličky bol 34,5 mesiacov ± 32,6). V 35,3 % náleзов MMDx potvrdil výsledok svetelnej mikroskopie, v ostatných prípadoch sa nález nezhodoval, čo nás viedlo k zmene terapeutického prístupu. Na záver prezentujeme kazuistiku pacienta s nálezom akútnej celulárnej rejekcie bez klinickej aj laboratórnej korelácie, kde použitie MMDx významne zmenilo liečebnú stratégiu.

#### **Záver**

Vyšetrenie MMDx je vhodné doplniť u pacientov s nejednoznačným histologickým nálezom a u pacientov s nekorešpondujúcim klinickým obrazom vo vzťahu k výsledku biopsie. Limitácie pre MMDx sú cena a nemožnosť vyhodnotiť prípadnú rekurenciu základnej choroby obličiek v štepe.

*Za vyšetrenie vzoriek ďakujeme Laboratóriu molekulárnej medicíny IKEM.*

### **EVROPSKÁ LEGISLATIVA A ORGÁNOVÉ TRANSPLANTACE**

Vlas T.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Ústav imunologie a alergologie FN Plzeň*

<sup>2</sup> *Fakulta zdravotnických studií, ZČU v Plzni*

*In vitro* diagnostika (IVD) hraje zásadní roli při výběru vhodného orgánu k transplantaci. Využití vyšetřovacích metod snižuje riziko rejekce, prodlužuje dobu přežití transplantovaného orgánu, a tím zlepšuje kvalitu života příjemce. V reakci na potřebu zvýšené kvality a bezpečnosti laboratorních prostředků přijala Evropská unie nařízení o diagnostických zdravotnických prostředcích *in vitro* (IVDR), které nahradilo předchozí směrnici IVD (IVDD). IVDR (Regulation (EU) 2017/746) bylo oficiálně přijato 5. dubna 2017 a vstoupilo v platnost 26. května 2017, přičemž plné provedení a povinná shoda s jeho



požadavky byly stanoveny na 26. května 2022. V březnu 2024 došlo u IVDR k odkladu pro výrobce do roku 2030, avšak z tohoto odkladu byly vyjmuty „in-house“ testy, pro něž platí původní datum zavedení účinnosti normy od 26. května 2024.

Zavedení této normy výrazně ovlivňuje metody, které jsou využívány v rámci transplantační imunologie. Původní metody, které byly založeny na mikrolymfocytotoxickém testu, jsou nahrazovány metodikami splňujícími IVDR, případně je doporučeno používat vyšetřovací metody, které lze validovat v rámci „in-house“ IVDR. Prvním vyšetřením, které bylo výrazně ovlivněno zavedením nové normy, bylo stanovení panel reaktivních protilátek (PRA). Na základě shody transplantačních společností, došlo ke změně techniky vyšetřování metodou

PRA. Metoda, která využívala mikrolymfocytotoxický test, byla nahrazena technologií SAB Luminex a získaná hodnota cPRA je kalkulována pomocí výpočetního softwaru. Technologie SAB Luminex je plně validována výrobcem dle pravidel IVDR.

Druhá změna, která nastane v brzké době, bude odklon od klasického CDC crossmatch testu k flow-cytometrickému crossmatch testu (FCXM); FCXM je stále v režimu „in-house“, ale díky využití průtokového cytometru by měl být jednodušejší validovatelný.

Dodržování podmínek normy IVDR v laboratořích transplantační imunologie je velmi náročné a klade velké výzvy pro jednotlivé pracovníky. Odklon od in-house testů směrem k testům certifikovaným, případně validovaným dle IVDR, nese i velké finanční náklady.

## Získané poruchy imunity

### ZÍSKANÉ PORUCHY IMUNITY A JEJICH VZRŮSTAJÍCÍ VÝZNAM

Chovancová Z.

*Ústav klinické imunologie a alergologie FN u sv. Anny v Brně a LF MU*

Získané poruchy imunitního systému neboli sekundární imunodeficience (SID) představují heterogenní skupinu poruch funkce imunitního systému s rozmanitou etiologií, která je charakterizována širokým spektrem závažnosti klinické manifestace od mírné náchylnosti k infekcím až po rozvoj oportunních infekcí. Tato SID se může rozvinout v důsledku neinfekčních nebo infekčních onemocnění, mezi která patří například diabetes mellitus, porucha funkce jater nebo ledvin, protein-energetická malnutrice, porucha funkce sleziny, HIV infekce a další. Významnou skupinu SID tvoří iatrogeně navozené poruchy funkce imunitního systému, které se mohou rozvinout jako následek některých terapeutických procedur (například rozsáhlých chirurgických zákroků, radioterapie či splenektomie) nebo jako neočekávaný nežádoucí účinek užívání některých léčiv (například neuroleptik, antiepileptik nebo antikonvulziv). Nejčastěji však doprovází imunosupresivní a protizánětlivou léčbu užívanou k terapii maligních, autoinflamatorních nebo autoimunitních onemocnění (například při užívání klasických imunosupresiv, chorobu modifikujících léčiv, nesteroidních antiflogistik, tyrosin-kinázových inhibitorů nebo monoklonálních protilátek namířených proti molekulám CD20, TNF- $\alpha$ , IL-1 či IL-6).

Na klinickém, diagnostickém, a především terapeutickém významu nabývá SID zejména s rozvojem moderních léčiv autoimunitních, autoinflamatorních a nádorových onemocnění. Neustále se rozšiřující portfolium těchto léčiv a jejich zvyšující se finanční dostupnost vede k léčbě většího množství pacientů, čímž se zvyšuje také potřeba řešení nežádoucích následků jejich používání v podobě rozvoje SID, a to jak po stránce diagnostické,

tak léčebné (zejména nutnost podávání imunoglobulinové substituční léčby u pacientů s klinicky významnou sekundární poruchou tvorby protilátek). Zatím však v našem zdravotním systému neexistuje jasný systematický přístup týkající se péče o tyto pacienty, což by se mělo do budoucna změnit.

### ZÍSKANÉ PORUCHY IMUNITY U PACIENTŮ S HEMATOLOGICKÝMI MALIGNITAMI

Vodárek P.

*IV. Interní hematologická klinika, Fakultní nemocnice Hradec Králové*

Hematologické malignity patří k častým příčinám závažných defektů imunity. V České republice jsou každoročně nově diagnostikovány chronická lymfocytární leukemie (CLL), lymfom, mnohočetný myelom (MM), nebo akutní leukemie (AL) asi u 3 500 pacientů.

Kromě nemocných s CLL, z nichž až polovina léčbu nikdy nevyžaduje, musí být většina těchto pacientů bezprostředně léčena a hematoonkologická léčba představuje vedle základního onemocnění další významný faktor přispívající k poruchám imunity.

Specifickou kategorií představují nemocní podstupující alogenní transplantaci hemopoetických kmenových buněk, u nichž se dále přidává efekt imunosuprese nezbytné k prevenci a léčbě nemoci štetu proti hostiteli, a nemocní léčení T-lymfocyty s chimerickým antigenním receptorem (CAR-T-cells). Malignity s dlouhodobým průběhem, jako jsou CLL, MM a indolentní lymfomy, jsou obecně spojeny s hlubšími změnami v imunitním systému než agresivní lymfomy, kde zásadní imunoprese přichází až jako následek léčby.

Např. i neléčená CLL bývá spojena s hypogamaglobulinemií ve všech třídách, s deficitem složek komplementu a s funkčními změnami neutrofilů, monocytů, makrofágů i dendritických buněk. Dále dochází ke zvýšení počtu

regulačních T-lymfocytů, obrácení fyziologického poměru CD4<sup>+</sup> a CD8<sup>+</sup> T-lymfocytů a u obou populací je také pozorována deplece naivních buněk ve prospěch efektorových paměťových a terminálně diferencovaných efektorových T-lymfocytů. U AL se sice již před diagnózou můžeme setkat s častějšími infekcemi v důsledku neutropenie při infiltraci kostní dřeně, zásadní je však efekt následné léčby.

Klasická cytostatika (alkylační a interkalační) vedou především k předvídatelné a na dávce závislé neutropenii. Purinová analoga jako bendamustin či fludarabin způsobují navíc lymfodepleci, stejně jako kortikoidy používané pro své lymfotoxické účinky k léčbě všech lymfoproliferací včetně MM. Monoklonální protilátky, zejména cílené proti CD20 antigenu u B-lymfomů a CLL (rituximab, obinutuzumab) nebo CD38 u MM (daratumumab), mohou prohloubit preexistující hypogamaglobulinemii. Cílená léčba pomocí kinázových inhibitorů je spojena s řadou specifických účinků, které mohou stav imunity ovlivnit pozitivně i negativně. V přednášce budou uvedené změny přehledně shrnuty a vysvětleny.

### INCIDENCE MALIGNÍCH ONEMOCNĚNÍ U PACIENTŮ SE SEKUNDÁRNÍM IMUNODEFICITEM

Grell P.

*Klinika komplexní onkologické péče Masarykova onkologického ústavu a Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně*

Sekundární imunodeficiencie vznikají v důsledku vnějších faktorů, jako jsou infekce, chronické nemoci nebo léčebné intervence, a vedou k oslabenému imunitnímu systému. Oslabený imunitní systém u těchto pacientů je méně efektivní při identifikaci a eliminaci nádorových buněk, čímž usnadňuje vznik, vývoj a progresi maligních onemocnění.

K vyššímu výskytu malignit u pacientů s SID přispívá několik faktorů: Imunosupresivní terapie používaná po transplantaci orgánů nebo autoimunitních onemocněních je jedna z nejčastějších příčin. U transplantovaných pacientů je tak 2–3krát vyšší riziko rozvoje malignit než u běžné populace. Mezi nejčastější malignity u pacientů po transplantaci patří nemelanomové nádory kůže, post-transplantační lymfoproliferativní poruchy (zahrnují široké spektrum diagnóz s různou prognózou od plazmocytární hyperplazie, často spontánně regredující po vysazení imunosupresivní terapie, přes polymorfni lymfoproliferativní poruchy až po agresivní lymfomy), Kaposiho sarkom, ORL nádory, tedy onemocnění spojené s virovými infekcemi. Dále je vyšší riziko vzniku i nádorů plic a ledvin. Tito všichni pacienti mají nejenom vyšší incidence, ale i vyšší mortalitu, na které se podílejí omezené možnosti intenzivní onkologické terapie, nutnost další imunosuprese a komorbidit pacientů.

Podobně pacienti s chronickými infekcemi, jako je HIV, které přímo narušují imunitní systém, také vykazují vyšší míru malignit, včetně Kaposiho sarkomu, rakoviny děložního čípku a lymfomů. Chronické zánětlivé stavy

a dlouhodobé užívání imunosupresivních léků tento rizikový faktor dále zhoršují. Nemoci, jako je revmatoidní artritida, systémový *lupus erythematosus*, celiakie – pokud jsou léčeny dlouhodobými imunosupresivy – nejenže tlumí imunitní odpověď, ale také vytvářejí prozánětlivé prostředí příznivé pro vznik nádorů. Kromě toho podvýživa, běžný problém u jedinců s SID, oslabuje imunitní systém a přispívá k zvýšenému riziku vzniku nádorů.

Lze říci, že výskyt maligních onemocnění je u pacientů se sekundární imunodeficiencí výrazně vyšší kvůli oslabené imunitní kontrole a vzniku mikroprostředí, které je vytvořeno chronickou imunosupresí a zánětem. Personalizovaná imunosuprese a významu screeningu ve včasné diagnostice maligních onemocnění jsou zásadní pro další zlepšení dlouhodobých výsledků těchto pacientů.

### NEFROTICKÝ SYNDROM A ZÍSKANÁ PORUCHA IMUNITY

Malá E., Krejsek J., Králíčková P.

*Ústav klinické imunologie a alergologie, Fakultní nemocnice a LF UK Hradec Králové*

Nefrotický syndrom (NS) je charakterizován proteinurií (u dospělých > 3,5 g/24 hodin), hypoproteinémií (S-albumin < 35 g/l), hyperlipidémií (synergicky vystupňována s jaterní proteosyntézou, dočasně kompenzující proteinurii), periferními otoky. Příčinou proteinurie je porucha permeability glomerulární kapilární membrány pro makromolekuly. Podstatou je patologická změna struktury bazální membrány, podocytů, interpedicelárních prostorů, podocytárních proteinů a jejich funkcí. Podle Českého registru biopsií ledvin v letech 2015–2023 jsou nejčastějšími příčinami primárních glomerulonefritid: GN s minimálními změnami glomerulů (16 %), FSGS – fokálně segmentální glomeruloskleróza (11 %), membranózní glomerulonefritida (9 %). Většina sekundárních glomerulonefritid zůstává nebioprována a léčena v rámci sekundárních onemocnění (diabetické/hypertenzní nefropatie, SLE-nefritidy, ANCA-vaskulitidy, NS u onkologických onemocnění).

Těžký/kortikodependentní NS s eskalující proteinurií představuje závažnou komplikaci v rámci základního nefrologického onemocnění, klinických komplikací (orgánových/systémových selhání), nárůst komorbidit, rozvoj klinické significance sekundární imunodeficiencie (SID) u 23,7–42,4 % pacientů s těžkým NS a proteinurií > 15 g/24 hodin. Pacienti s refrakterním NS progredují do nevratné chronické renální insuficience.

Projevy SID jsou klinicky relevantní ve smyslu těžké, chronické a frekventní nemoci, nezlepšení klinického stavu i přes dlouhodobou chemoprophylaxi ATB. Klinicky závažné SID definujeme dle EMA jako pacienty s těžkými, komplikovanými, recidivujícími infekcemi, s neefektivní antimikrobiální terapií, s hladinami IgG < 4 g/l nebo s poruchou syntézy specifických postvakcinačních protilátek (či neschopností dosáhnout alespoň dvojnásobného zvýšení titru IgG po vakcinaci polysacharidovým/pneumokokovým a polypeptidovým antigenem).

Léčebná praxe u nemocných s NS je dočasná, bez plánu dosažení normalizace sérových hladin IgG. Timing

léčebné intervence následuje terapii základního onemocnění (IS léčba, biologická terapie) nebo v časovém odstupu, po prohloubení ztrát Ig, morbidity pacientů i jejich klinického stavu. Cestou podání jsou prakticky výhradně SCIG v dávce 0,2–0,5 g/kg/měsíc do stabilizace klinického stavu pacienta.

V letech 2017–2024 jsme na ÚKIA FN HK vyšetřili 320 nemocných se zavedením režimu SCIG u 16 pacientů (5 %) nemocných na dobu 7–12 měsíců. Součástí sdělení je kazuistika.

## CO PŘINESLA LÉČBA HIV

Snopková S.

*Klinika infekčních chorob LF MU a FN Brno*

Rychlý nástup celosvětové pandemie infekce lidským virem imunodeficiency (HIV) na přelomu 80. a 90. let minulého století způsobil, že se toto onemocnění stalo jednou z nejtudovanějších infekčních nemocí v historii medicíny. Kontinuální replikace HIV v lidském organismu vede přímo i nepřímo k postupnému úbytku CD4+ T-lymfocytů a progredující imunitní dysfunkci s fatálním koncem.

Antiretrovirovou léčbou (ART) je možné dosáhnout inhibice virové replikace, která je komerčně dostupnými testy metodou PCR v plazmě nedetekovatelná. Následná virová suprese poté zásadně mění trajektorii původně jednoznačně smrtelné nemoci, která je transformována do typicky chronické choroby, vyvíjející se několik desítek let. Tato léčebná strategie významně prodloužila a zkvalitnila život lidí s HIV, zachránila a stále zachraňuje miliony infikovaných na celém světě.

Virová replikace při ART klesá, u mnoha infikovaných však nedochází ke kompletní normalizaci všech biomarkerů ani po letech virové suprese. Řadu let byl imunologický stav hodnocen podle absolutního počtu CD4+ lymfocytů. Narušena je však celková homeostáza T-buněčného kompartmentu. Již v době primoinfekce HIV dochází k expanzi CD8+ lymfocytů. Vysoký počet CD8+ lymfocytů s nižším počtem CD4+ lymfocytů je charakteristickým znakem imunosenescence a je nezávislý prediktor všech příčin mortality. Hodnota poměru CD4+/CD8+ < 1,00 je detekována téměř u všech infikovaných, kteří nejsou adekvátně léčeni, a zůstává nízká u významné části pacientů, kteří po zahájení ART dosáhnou virové suprese a imunologické regenerace s přiměřeným vzestupem počtu CD4+ lymfocytů.

Většina léčených pacientů v mnoha případech nejeví klinické známky imunodeficitu, ale typicky prezentuje abnormální stupeň imunitní aktivace, která indikuje akceleraci imunologického stárnutí.

Perzistuje určitá míra systémové imunitní aktivace a zánětu, která vede k patofyziologii tzv. „sterilního zánětu“ a je společná pro poměrně rozsáhlou skupinu chorob, jako jsou kardiovaskulární onemocnění, dyslipidemie, inzulinová rezistence a diabetes 2. typu, trombembolická nemoc, neurokognitivní dysfunkce, osteoporóza, chronická onemocnění jater a ledvin a některé nádory. Tyto nemoci jsou u všeobecné populace typické pro stárnoucí

organismus a vyšší věk. Epidemiologické studie ukazují, že u pacientů infikovaných HIV se tato onemocnění, souhrnně označovaná jako non-AIDS nemoci, vyskytují se ve věkových kategoriích nejméně o 10 let mladších v signifikantně vyšší četnosti než u HIV-negativních jedinců.

Příčiny tohoto fenoménu jsou předmětem rozsáhlého základního i aplikovaného výzkumu a stovek různých studií. Prioritní role je v tomto kontextu připisována vlastnímu HIV-1 a jeho perzistenci v latentních tkáňových rezervoárech, mikrobiální translokaci ze střevního lumen do systémového oběhu, koinfekcím, ale také samotným antiretrovirovým léčivům.

Po téměř třiceti letech ART je evidentní, že léčba vedená v intencích současné farmakoterapie není zcela optimální a má své limity.

Velmi diskrétní intracelulární mechanismy replikace a latence HIV a složité imunologické reakce, které generuje virové agens, otvírají možnosti pro nejmodernější technologie vývoje léčiv. Nové efektivnější koncepce léčby, jejichž nejvyšším cílem je eliminace HIV z lidského organismu, musí být vysoce bezpečné a široce dostupné s nízkou ekonomickou náročností pro miliony infikovaných. Vzhledem k tomu, že pacienti léčení ART mají v dnešní době i přes některá úskalí téměř normální délku života, nové léčebné modality musí překonat relativně vysoký standard současné léčby infekce HIV.

*Projekt Národního institutu virologie a bakteriologie (Program EXCELES, ID: LX22NPO5103) – Financováno Evropskou unií – Next Generation EU.*

*Podpořeno MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705)*



## DIAGNOSTIKA A MANAGEMENT ZÍSKANÝCH PORUCH IMUNITY

Milota T.

*Ústav imunologie, 2. lékařská fakulta UK a Fakultní nemocnice v Motole, Praha*

Sekundární protilátkové imunodeficiency patří k nejčastějším poruchám imunitního systému. Základní dělení zahrnuje narušenou tvorbu protilátek nebo ztrátu; dělení reflektuje hlavní etiopatogenetické mechanismy.

Klinicky se manifestují především recidivujícími bakteriálními respiračními infekcemi. Chronické a recidivující infekce mohou vést k závažným komplikacím, jako jsou bronchiektázie nebo chronická obstrukční plicní nemoc. Charakteristickým laboratorním nálezem je hypogammaglobulinemie. Důležitou roli hraje i stanovení specifických postvakcinačních protilátek proti proteinovým a polysacharidovým antigenům.

Obraz může odpovídat také kombinovanému imunodeficitu s narušenou buněčnou imunitou, jejíž vyšetření je u těchto pacientů indikováno. Základním terapeutickým přístupem je antibiotická profylaxe a imunoglobulinová substituční léčba.

Tato prezentace shrnuje aktuální diagnostické a terapeutické možnosti používané a dostupné pro léčbu sekundárních protilátkových imunodeficiencí. Budou představeny také nové metody screeningového přístupu pro včasnou identifikaci těchto pacientů, jako je kalkulovaný

imunoglobulin, zahrnující retrospektivní analýzu dat na pracovišti autora.

*Projekt a prezentace byly podpořeny Agenturou pro zdravotnický výzkum České republiky NW-24-05-00031.*

## Antiinfekční imunita a vakcinace

### VÝVOJ UNIKÁTNÍCH PROTILÁTEK PROTI SARS-COV-2 A OVĚŘENÍ JEJICH BEZPEČNOSTI A ÚČINNOSTI *IN VIVO*

Hrdý J.<sup>1</sup>, Fraiberk M.<sup>1,2</sup>, Černý V.<sup>1</sup>, Novotná O.<sup>1</sup>, Petrásková P.<sup>1</sup>, Smrčková A.<sup>2</sup>, Pažout L.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ústav imunologie a mikrobiologie 1. LF UK a VFN v Praze

<sup>2</sup> Dyntec, s. r. o.

Naším cílem bylo vyvinout protilátky a vakcíny proti SARS-CoV-2 zabraňující vzniku onemocnění COVID-19. Zaměřili jsme se na vývoj rekombinantních protilátek hybridovou technologií, nanoprotilátek odvozených od lamích protilátek a IgY z kura domácího. V případě vakcín byly použity jako očkovací antigeny spikový protein, N a M protein viru SARS-CoV-2.

Protilátky specifické proti spikovému proteinu SARS-CoV-2 byly testovány *in vitro* (virus neutralizační testy) a *in vivo* s využitím zvířecího experimentálního infekčního modelu transgenních myši exprimujících lidský ACE2. Účinností vyvinutých protilátek byla ověřena v myším experimentálním modelu jak při prevenci infekce, tak při léčbě onemocnění COVID-19. V rámci preventivního podávání byly aplikovány dvě dávky protilátek s následnou intranazální infekcí SARS-CoV-2 (mutanta alfa). V případě terapeutického podávání byly protilátky aplikovány 2. a 3. den po infekci. Kromě protekce jsme se zaměřili i na analýzu buněčné imunity a schopnosti protilátek zabraňovat vzniku tzv. cytokinové bouře. Nové vakcíny byly podány ve dvou dávkách se 14denním rozstupem a následnou infekcí po 3 týdnech od podání 2. dávky.

Dle očekávání byla účinnost protilátek vyšší v případě preventivního podávání ve srovnání s léčebným podáváním protilátek proti již vyvolané infekci (50% protekce vs cca 30% protekce při infekci 10LD50). Pozorovali jsme velké rozdíly mezi jednotlivými protilátkami, a i protilátky bez virus neutralizační kapacity stanovené *in vitro* vykazovaly dobrou protekci *in vivo*. Nejúčinnější protilátky byly nanoprotilátky odvozené od lam a hybridomové protilátky (jak lidského, tak myšního původu). Přeživší myši, kterým byly podány protilátky, měly obecně vyšší sekreci interferonu gama (IFN $\gamma$ ) jak v CD4<sup>+</sup>, tak CD8<sup>+</sup> T-lymfocytech izolovaných z plic, nižší hladiny prozánětlivých cytokinů v séru a méně aktivovaných neutrofilů.

Získané výsledky poukazují na protektivní kapacitu námi vyvinutých protilátek s tím, že preventivní podávání je účinnější než terapeutické. Kromě snížení letality

podávání protilátek a vakcín vedlo k normalizaci vybraných imunitních charakteristik a prevenci dysregulace imunitní odpovědi.

*Tato práce byla podpořena CZ.01.1.02/0.0/0.0/20\_32/1/0024717 a FW03010472.*

### VÝZNAM OČKOVÁNÍ U PACIENTŮ S VROZENÝMI PORUCHAMI TVORBY PROTILÁTEK

Milota T.<sup>1</sup>, Smetanová J.<sup>1</sup>, Skotnicová A.<sup>2</sup>, Kalina T.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ústav imunologie, 2. LF UK a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

<sup>2</sup> Childhood Leukemia Investigation Prague, Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

Vrozené poruchy tvorby protilátek se klinicky manifestují závažnými chronickými či recidivujícími respiračními infekcemi, hypogammaglobulinemií a narušenou tvorbou specifických protilátek zahrnující postvakcinační odpověď.

Základním terapeutickým přístupem je antibiotická profylaxe a imunoglobulinová substituční terapie, která má ale limitovanou efektivitu, především proti sezónním virovým respiračním infekcím, jako je chřipka nebo COVID-19. I přes omezenou postvakcinační odpověď očkování reprezentuje nadějný preventivní přístup u těchto infekcí díky buněčné imunitě, která hraje v boji proti virovým infekcím stěžejní úlohu.

V této prezentaci shrnujeme dostupnou evidenci a doporučení pro očkování u pacientů s vrozenými poruchami tvorby protilátek. Prezentace bude také doplněna o vlastní výsledky prospektivní studie sledující imunogenicitu na úrovni protilátkové a buněčné imunity, bezpečnost a klinickou odpověď u pacientů s běžným variabilním imunodeficitem. Diskutována bude také úloha imunoglobulinové substituční terapie.

### OČKOVANIE PACIENTOV LIEČENÝCH INHIBÍTORMI KOMPLEMENTU – ODPORÚČANIA, SKÚSENOSTI

Bobčáková A.<sup>1</sup>, Jeseňák M.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Centrum pre očkovanie v špeciálnych situáciách, Ambulancia klinickej imunológie a alergológie, Klinika pneumológie a ftizeológie, Univerzitná nemocnica

Martin, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave

<sup>2</sup> Centrum pre očkovanie v špeciálnych situáciách, Ambulancia klinickej imunológie a alergológie, Klinika detí a dorastu, Univerzitná nemocnica Martin, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave

<sup>3</sup> Oddelenie klinickej imunológie a alergológie, Univerzitná nemocnica Martin

Komplement sa podieľa na imunitných reakciách organizmu lýzou bakteriálnych buniek prostredníctvom komplexu atakujúceho membrány (MAC), opsonizáciou a podporou chemotaxie. Dysregulácia komplementu je spojená so širokým spektrom zápalových a autoimunitných ochorení. Inhibítory komplementu umožňujú cieľnú liečbu ochorení asociovaných s jeho dysreguláciou.

Ekulizumab a ravulizumab blokujú štiepenie C5 zložky komplementu, a inhibujú tak terminálnu dráhu aktivácie komplementu (tvorbu MAC). Uplatňujú sa v liečbe paroxyzmálnej nočnej hemoglobínúrie (PNH), atypického hemolyticko-uremického syndrómu (aHUS), refraktérnej generalizovanej myasténia gravis (gMG) a spektra ochorení optickej neuromyelitídy (NMOSD). Keďže lýza prostredníctvom MAC je kľúčová v obrane proti *Neisseria spp.*, významne zvyšujú riziko neisseriových infekcií. Očkovanie proti *N. meningitidis* (MenACWY aj MenB) je preto vyžadované; prvú dávku vakcíny je potrebné podať minimálne 2 týždne pred začiatkom liečby s následným doočkovaním, v prípade urgentnej liečby je do realizácie očkovania nutná antibiotická profylaxia. Keďže pre alterovanú aktiváciu terminálnej dráhy komplementu očkovanie nemusí zaručiť úplnú ochranu proti *N. meningitidis*, niektoré autority odporúčajú podávanie ATB profylaxie počas celého trvania liečby. Vzhľadom k zachovanej opsonizácii nie je riziko pneumokokových a hemofilových infekcií významne zvýšené, očkovanie proti *H. influenzae typ B (Hib)* a pneumokokovým infekciám je vyžadované u detí do 18 rokov.

Pegcetacoplan inhibuje štiepenie C3 zložky komplementu, čím ovplyvňuje aj opsonizáciu, je potrebné očkovanie proti *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*.

V našom dispenzári sú sledovaní 4 pacienti v súvislosti s očkovaním pri liečbe ekulizumabom. Všetci sú očkovaní proti meningokokom bez pokračujúcej ATB profylaxie, neisseriové infekcie neboli zaznamenané. Pacienti boli tiež očkovaní proti pneumokokom, 3 pacienti boli očkovaní proti Hib v detstve.

Pre úspešný manažment pacientov liečených inhibítormi komplementu je nevyhnutný interdisciplinárny prístup: jeho dôležitou súčasťou je prevencia infekcií (vakcinácia, ATB profylaxia, razantná liečba infekcií). Klinický imunológ a alergológ má poznať riziká spojené s biologickou liečbou ovplyvňujúcou jednotlivé zložky imunitného systému a mal by byť nápomocný v komplexnom manažmente týchto pacientov.

## ROLE MIKROBIÁLNIĽ SIDEROFORŮ V INFEKČNÍ DIAGNOSTICE A NUTRIČNÍ IMUNITĚ

Havlíček V.

Mikrobiologický ústav AV ČR, v. v. i. v Praze

### Cíl práce

Vyvinout neinvazivní metodu pro diagnostiku infekčních bakteriálních a houbových onemocnění. Získat originální informace o rolích mikrobiálních metaloforů v antiinfekční imunitě.

### Materiál a metody

Vyvinuli jsme techniky „infekční metalomiky“, které jsou založeny na hmotnostní spektrometrii. Hlavními nástroji jsou vysokoučinná kapalinová chromatografie kombinovaná s iontovou cyklotronovou rezonancí či kvadrupóly s analýzou doby letu (TOF). Metodika může být přenesena na klinicky rozšířené MALDI-TOF platformy typu Biotyper.

### Výsledky

Siderofory či metalofory jsou syntetizovány celou škálou producentů k zajištění dostatečného přísunu buněčných živin. Syntetizují je nejen mikroby (zvláště bakterie, mykobakterie a vláknité houby), ale i rostliny, paraziti, či savci. V případě počínající infekce se rozpoutá mezi infikovaným hostitelem a mikrobiálním patogenem o tyto živiny boj. Základní přetahovaná probíhá především o železo, zinek, či měď. V souboji vyhrává lépe vybavený soupeř, tedy ten, který má bohatší (počet) a účinnější (rozpoznávání) molekulární nástroje ke strádání těchto esenciálních živin. Siderofory nejsou pouhými fitness faktory mikroorganismů, ale důležitými faktory virulence obecně. Savčí hostitel se probíhající infekci brání sekrecí lipokalinů – bílkovin, které váží jen některé mikrobiální siderofory. Evolučně vyselektované patogenní mikroorganismy dokážou svoje siderofory chemicky modifikovat, zvětšit jejich molekulární průměr, avšak se zachováním kov vázajících schopností.

Těmto látkám říkáme „stealth“ siderofory a jejich funkce je totožná s tou, kterou známe z technologií používaných ve válečných konfliktech. Nejúspěšnější patogeny pak vysílají falešné cíle (mock targets) či jiné inteligentní strategie pro zlepšení vlastní obrany vůči imunitnímu systému hostitele. Na příkladech pacientů z prospektivní studie ukážeme výhody nové metody „infekční metalomiky“ oproti DNA sekvenování, serologii, mikroskopii a kultivacím.

### Závěr

Mikrobiální siderofory jsou velmi specifickými značkami infekčních onemocnění, které se do okolí uvolňují ve fázi intenzivního buněčného dělení patogenu. Přítomnost sideroforů v infikovaném hostiteli odlišuje kolonizaci od invazivního průběhu infekce, což je přínos, který jiné diagnostické přístupy neposkytují.

### Poděkování

Grantová agentura ČR (22-06771S) a Agentura pro zdravotnický výzkum (NU23-05-00095).

## ANTIGENICITA A IMUNOGENICITA RŮZNÝCH MORFOLOGICKÝCH FOREM BAKTERIÍ *BORRELIA BURGdorFERI*

Křupka M.<sup>1</sup>, Sloupenská K.<sup>1</sup>, Koubková B.<sup>2</sup>, Horák P.<sup>3</sup>, Doležilková J.<sup>4</sup>, Hutýrová B.<sup>2</sup>, Račanský M.<sup>2</sup>, Miklušová M.<sup>5</sup>, Mareš J.<sup>5</sup>, Raška M.<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Ústav imunologie Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci

<sup>2</sup> Oddělení alergologie a klinické imunologie, Fakultní nemocnice Olomouc

<sup>3</sup> III. interní klinika – nefrologická, revmatologická a endokrinologická, Fakultní nemocnice Olomouc

<sup>4</sup> Oddělení parazitologie a lékařské zoologie, Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě

<sup>5</sup> Neurologická klinika, Fakultní nemocnice Olomouc

<sup>6</sup> Ústav imunologie, Fakultní nemocnice Olomouc

*Borrelia burgdorferi* sensu lato je druhový komplex pleomorfních spirochet, obsahující i druhy způsobující lymeskou boreliózu (LB), multisystémové onemocnění přenášené klíšťaty. Ačkoliv většina pacientů dobře odpovídá na antibiotickou léčbu, u části (cca 10–15 %) přetrvávají klinické potíže. V současnosti se pro tento stav používá pojem postboreliový syndrom (v angličtině výstižnější Post-Treatment Lyme Disease Syndrome – PTLDS).

Kromě klasických spirálovitých forem jsou schopny tyto borelie vytvářet morfologické formy označované

jako kulovitá tělíska (často nepřesně nazývané cysty) a agregáty. Morfologická změna je indukovatelná změnou kultivačních podmínek *in vitro*. Předmětem diskuse je možný příspěvek těchto forem k přetrvávání infekce nebo postinfekčních příznaků u LB.

V naší studii jsme se věnovali výzkumu imunologických vlastností těchto forem sledováním reaktivity sér pacientů s časným (n = 30) a pozdním stadiem (n = 30) LB a vyhodnocením imunitní odpovědi vyvolané vakcínací myši. V sérech pacientů jsme zjistili kvantitativní rozdíl v reaktivitě s jednotlivými morfotypy, kdy byly agregáty rozpoznávány nejintenzivněji, ale rozdíl byl statisticky významný pouze u poloviny testovaných kmenů. V postvakcinačních myších sérech jsme pozorovali statisticky významně vyšší reaktivitu s antigeny p83 a p25 (OspC) u myši očkovaných agregáty ve srovnání s myši vakcinovanými spirálními formami.

Byla také prokázána důležitost částicové povahy antigenu pro indukci Th1-řízené reakce. V žádné z morfologických forem nebyla vakcínací myši potvrzena možnost indukce protilátek zkříženě reagující s lidskými nukleárními a myositis specifickými/asociovanými autoantigeny.

*Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. NV19-05-00191, studentského projektu IGA\_LF\_2024\_013 a projektu MZ ČR – RVO (FNOL, 00098892).*

## Spojené cesty alergologa a ORL lékaře

### CHRONICKÁ RINITIDA Z POHLEDU ORL A MOŽNOSTI CHIRURGICKÉHO OVLIVNĚNÍ

Knížek Z.

*Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku, Nemocnice Pardubického kraje – Pardubická nemocnice*

Chronická rinitida je chronické zánětlivé onemocnění nosní dutiny projevující se nosní obstrukcí a/nebo výtokem z nosu. Role otorinolaryngologa v managementu pacientů s chronickou rinitidou je nezastupitelná, ať už z pohledu diagnostiky, či léčby. V rámci diagnostiky je endoskopické vyšetření zásadní v diferenciálně diagnostické rozvaze u pacientů s nosní obstrukcí a výtokem z nosu. V léčbě se následně uplatňují chirurgické postupy u pacientů, u kterých konzervativní postupy nevedou ke zlepšení kvality života. Cílem sdělení je upozornit na možnosti a limity endoskopického vyšetření u pacientů s podezřením na chronickou rinitidu a současně přiblížit možnosti chirurgického ovlivnění symptomů nosní obstrukce a výtoku z nosu.

### DIFERENCIÁLNÍ DIAGNOSTIKA CHRONICKÝCH RINOSINUSITID S NOSNÍMI POLYPY

Knížek Z.

*Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku, Nemocnice Pardubického kraje – Pardubická nemocnice*

Chronická rinosinitida (CRS) je chronické zánětlivé onemocnění nosní dutiny a vedlejších dutin nosních, které dosahuje celosvětově prevalence až 12 %. V posledním vydání European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps 2020 (EPOS 2020) najdeme dělení rinosinusitid na primární a sekundární.

U pacientů s CRS je popsána celá řada komorbidit, jednou z nich může být i alergická rinitida. Někdy může být náročné rozlišit mezi overlapem chronické rinosinitidy a alergické, či nealergické rinitidy. K rozlišení je vhodné využít kombinaci pacientem udávaných symptomů, nosní endoskopie a CT vyšetření.

Alergie nicméně hraje hlavní roli v patogenezi některých subtypů CRS – alergické fungální rinosinitidy (AFRS) a central compartment atopic disease (CCAD). Cílem sdělení je upozornit právě na subtypy CRS, které mohou svými symptomy a endoskopickým obrazem napodobovat chronickou rinosinitidu s nosními polypy;

přesto je management pacientů s těmito jednotkami zcela odlišný.

## CHRONICKÁ RINOSINUSITIDA S NOSNÍMI POLYPY – NOVÉ MOŽNOSTI LÉČBY

Koblásová N.<sup>1</sup>, Knižek Z.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku, Fakultní nemocnice Hradec Králové*

<sup>2</sup> *Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku, Nemocnice Pardubického kraje – Pardubická nemocnice*

Chronická rinosinusitida s polypy je jedním z fenotypů chronické rinosinusitidy. I přes relativně vysokou prevalenci není dosud plně objasněna etiopatogeneze onemocnění. Léčebné postupy zahrnující laváže nosní dutiny solnými roztoky, intranazální či krátkodobě podávané systémové kortikosteroidy a chirurgické výkony se opírají o zmírňování symptomů onemocnění a u části pacientů nevedou k dlouhodobě dobrým výsledkům léčby.

Dle recentních poznatků je patrné, že onemocnění spadá podobně jako astma či atopická dermatitida do závažných onemocnění zprostředkovaných Th2-lymfocyty a vrozenými lymfoidními buňkami 2 (označovanými jako zánět 2. typu).

V patogenezi tohoto zánětu se nejvíce uplatňují interleukiny IL-4, IL-5 a IL-13. V posledním vydání EPOS 2020 (vytvořeného Evropskou rinologickou společností) pak najdeme nové dělení chronických rinosinusitid s důrazem na endotypizaci onemocnění a indikace k léčbě monoklonálními protilátkami. Cílem sdělení je upozornit na výběr preparátů, indikační kritéria biologické léčby a výběr ideálního kandidáta k léčbě díky spolupráci s alergologem či pneumologem.

## EOZINOFILNÍ ZÁNĚT STŘEDNÍHO UCHA – DALŠÍ INDIKACE K BIOLOGICKÉ LÉČBĚ?

Bakaj T., Salzman R.

*Klinika ORL a chirurgie hlavy a krku, FN Olomouc*

Eozinofilní zánět středního ucha je chronické onemocnění charakterizované přítomností eozinofilních granulocytů ve sliznici středoušní dutiny. Je obvykle přidruženou nemocí k závažným onemocněním typu 2 – astma bronchiale a chronické rinosinusitidě s polypy (CRSwNP). Od roku 2011, kdy byla poprvé diagnostikována, má celosvětově narůstající incidenci. Odhaduje se, že může být diagnostikována až u třetiny pacientů s chronickou rinosinusitidou a chronickou otitidou.

Onemocnění představuje vysoké, asi 60% riziko ztráty sluchu ve formě smíšené nedoslýchavosti, asi v 6 % případů velmi těžkého stupně. Na rozdíl od chronické sekretní otitidy je zavedenou konzervativní a chirurgickou léčbou těžce ovlivnitelné. Prognóza sluchu pacientů, kteří podstoupili rekonstrukční operační výkon na středním uchu (tympanoplastiku), byla dokonce horší než u pacientů, kteří operaci nepodstoupili.

Léčba eozinofilní otitidy spočívala v celkové, nebo lokální (intratympanické) aplikaci kortikosteroidů. Nedávno zavedená biologická léčba, zaměřená na zánět 2. typu, se začala uplatňovat zejména v léčbě astma bronchiale i CRSwNP, ale v literatuře jsou již popsány i jednotlivé kazuistiky průběhu léčby eozinofilního středoušního zánětu.

Ve sdělení prezentujeme kazuistiku pacienta s oboustrannou chronickou otitidou, s velmi těžkou, konvenčními sluchadly obtížně korigovatelnou sluchovou vadou, u kterého byl po selhání konzervativní i chirurgické terapie diagnostikován eozinofilní středoušní zánět a indikována léčba dupilumabem, monoklonální protilátkou proti alfa-podjednotce receptoru pro interleukin 4 (IL-4R $\alpha$ ).

## ALERGICKÁ RINITIDA – SOUČASNÝ POHLED ALERGOLOGA

Hutyrová B.

*Oddělení alergologie a klinické imunologie, Fakultní nemocnice Olomouc*

*Ústav imunologie, LF Univerzity Palackého, Olomouc*

Alergická rinitida (AR) je definována jako chronické závažné onemocnění nosní sliznice, u kterého dochází k IgE-zprostředkované hypersenzitivní reakci I. typu po expozici alergenu u senzibilizovaného jedince. Prevalence AR celosvětově stoupá a v některých zemích postihuje až 50 % populace. Ačkoliv se zdá být banálním onemocněním, může významnou mírou ovlivňovat kvalitu života pacientů.

Nejčastějšími komorbiditami alergické rinitidy jsou bronchiální astma a atopická dermatitida, které se vyskytují souběžně, nebo se rozvinou konsekutivně v průběhu života. Alergická rýma, astma a atopická dermatitida jsou navzájem související klinické fenotypy, u kterých jsou zkoumány molekulární mechanismy podmiňující jejich společné i rozdílné patofyziologické charakteristiky. Významné klinické a imunologické rozdíly byly zjištěny mezi pacienty s alergenovou mono- a polysenzibilizací. Odlišné imunologické mechanismy mohou hrát roli i při vzniku různých fenotypů AR.

Manifestace alergické rinitidy závisí na genetických, epigenetických faktorech a vlivech zevního prostředí. V 90. letech zavedený koncept jednotných dýchacích cest se zdá být příliš zjednodušeným přístupem. V poslední době se na výsluní dostává „hypotéza epiteliálních bariér“, která však zahrnuje nejenom alergické nemoci horních a dolních dýchacích cest, ale i řadu kožních, gastrointestinálních, autoimunitních a neuropsychiatrických multimorbidit.

Současné znalosti o patofyziologii, diagnostice a léčbě alergické rýmy byly shrnuty v novém vydání ICAR: Alergická rinitida 2023 (International Consensus Statement on Allergy and Rhinology). Dokument uvádí aktuální doporučené diagnostické a terapeutické postupy u AR včetně standardní farmakoterapie, alergenové imunoterapie i chirurgické intervence.



## PRÍNOS LABORATÓRNÝCH BIOMARKEROV K (DIFERENCIÁLNEJ) DIAGNOSTIKE JEDNOTNEJ CHOROBY DÝCHACÍCH ORGÁNOV

Lukán N.<sup>1</sup>, Mahmodoová S.<sup>1</sup>, Kolarčík P.<sup>2</sup>, Patayová H.<sup>1</sup>, Janota S.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Ústav imunológie a alergológie, SZU Bratislava

<sup>2</sup> Ústav psychológie zdravia a metodológie výskumu LF UPJŠ, Košice

<sup>3</sup> V. interná klinika, UNB Bratislava

Koncept jednotnej choroby dýchacích orgánov (UAD) stelesňuje komplexný prístup k manažmentu ochorení horných a dolných dýchacích ciest, ktoré spolu súvisia anatomicky aj imunologicky. Kým patofyziológia alergickej UAD je pomerne dobre definovaná, etiológia a štruktúra nealergickej UAD zostáva nejasná, najmä z dôvodu existencie skupiny heterogénnych rinitíd v rámci nealergickej rinitídy (NAR), nezávislej od mechanizmu sprostredkovaného IgE. Chronická rinitída a rinosinuitída, astma a non-astmatická eozinofilová bronchitída sú častou príčinou aj syndrómu chronického kašľa (SCC), predovšetkým u nefajčiarov. V súčasnosti nie je publikovaných veľa špecifických štúdií z dôvodu náročnosti výskumu a vysokej individuálnej variability klinického obrazu. Berúc do úvahy aj naše výsledky, najmä vysoký podiel pacientov SCC s NAR, je snaha vyvinúť nové hodnotiace a diagnostické nástroje týkajúce sa vzťahu

NAR a citlivosti na kašeľ, a to aj z hľadiska potenciálneho neurogénneho mechanizmu.

V súčasnosti v dennej praxi dostupné bežné laboratórne biomarkery pre diagnostiku alergií horných a dolných dýchacích orgánov zahŕňajú najmä krvné eozinofily, celkové IgE, a alergén-špecifické IgE, doplnené o kožné prick testy. Laboratórne biomarkery môžu preukázať prítomnosť Th-2 mediovaného zápalu; ich klinická užitočnosť však zostáva nejasná. Potenciálne sľubné techniky vrátane tkanivových biopsií, nazálna cytológia, indukované spútum, ale aj stanovenie hladín cytokínov z nosovej a bronchiálnej laváže sú pre pacienta invazívne a pre rutinnú prax nie príliš praktické.

Eozinofilový kationický proteín (ECP) ako potenciálny biomarker alergického ochorenia je predmetom výskumu eozinofilných granulárnych proteínov už niekoľko rokov, pretože sa ukazuje byť užitočnejší ako celkový počet eozinofilov z hľadiska diagnostiky, liečby a monitorovania astmy a iných alergických ochorení. Akú diagnostickú hodnotu má vo vzťahu k alergickej, nealergickej UAD a SCC, sme sledovali na kohorte viac ako 200 pacientov a zdravých kontrol.

Naše výsledky naznačujú, že kombinácia vhodných neinvazívnych biomarkerov je spolu s klinickým obrazom prínosná pre presnejšiu diferenciálnu diagnostiku jednotnej choroby dýchacích orgánov vrátane SCC, ako aj pre dosiahnutie lepších výsledkov z hľadiska precíznej medicíny a personalizovaného prístupu k liečbe pacienta.

## Novinky v liečbě autoimunitních onemocnění

### JE VŮBEC NĚCO NOVÉHO V AUTOIMUNITÁCH?

Bartůňková J.

Ústav imunologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

Pokroky v diagnostice i léčbě zaznamenaly v posledních letech všechny oblasti imunopatologických stavů včetně onemocnění autoimunitních.

Již samotný název „autoimunitní“ doznává určité revize: některé, zejména monogenně podmíněné autoimunity se řadí mezi primární imunodeficiency. Ukazuje se také, že přes stejnou genetickou mutaci může být fenotyp chorob rozdílný, což dokazuje spoluúčast dalších modifikujících genů i vlivů prostředí.

U celé řady chorob není znám cílový autoantigen (např. IBD) a také u původně jasných alergických chorob, jako je např. alergické astma bronchiale nebo atopický ekzém, je zřejmé, že ve svém chronickém stavu představují již zánět s výraznou autoimunitní složkou. Proto se stírá ostrá hranice mezi autoimunitními chorobami (imunitní reakcí proti vnitřním antigenům) a chronickými alergiemi (imunitní reakcí vůči zevním antigenům) a vzhledem k dominujícímu chronickému zánětu se tyto nemoci označují jako IMID (immune mediated inflammatory disorders).

Dlouhodobé studie v posledních letech ukázaly, že výskyt autoprotilátek může předcházet léta klinické projevy autoimunity a také spektrum autoprotilátek se může časem měnit – některé signalizují onemocnění dlouho dopředu, jiné se objevují až v době klinických příznaků. Spektrum popsanych autoprotilátek se neustále rozšiřuje, přibývají poznatky jak o diagnostických, tak prognostických asociacích umožňujících kategorizaci nemocí (např. jiné spektrum autoprotilátek je u primárních myositid a jiné u myositid navozených statiny) a od toho se odvíjejí léčebná a režimová opatření. Dostupnost laboratorního vyšetření však vytváří často iatrogenně podmíněné misinterpretace i neuvážené terapeutické zásahy, které mohou pacienty poškodit, pokud není lékař indikující nebo interpretující tato vyšetření dosti erudovaný.

V oblasti léčby se kromě klasických kortikosteroidů a imunosupresiv čím dál víc uplatňují biologické léky, zejména monoklonální protilátky proti jednotlivým molekulám buněk účastnících se patogeneze zánětu a jejich mediátorům. U řady autoimunit se v posledních letech uplatňují i malé molekuly (kinázové inhibitory, většinou zasahující do dráhy aktivace T- a B-lymfocytů), původně vyvinuté pro onkologické indikace.

Jiná situace je u orgánově specifických autoimunit, zejména endokrinopatií, kde stále vévodí substituční léčba



chybějícího produktu (např. inzulin u diabetu I. typu). Časná detekce autoprotilátek spolu s dalšími rizikovými faktory (HLA) umožnila schválení imunosupresivní léčby ve stadiu prediabetu i u tohoto onemocnění (monoklonální protilátka proti T-lymfocytům), která může oddálit nástup diabetu o několik měsíců až let. Nevýhodou je samozřejmě její imunosupresivní působení na všechny T-lymfocyty s riziky infekcí. Antigenní nespecifita léčby je hlavním dosud nevyřešeným problémem léčby autoimunitních chorob a svatý grál léčby, tedy obnovení autotolerance, stále čeká na své objevitele.

## MONOGENNĚ PODMÍNĚNÉ AUTOIMUNITNÍ CHOROBY

Šedivá A.

*Ústav imunologie 2. LF UK a FN Motol, Praha*

Autoimunitní onemocnění jsou všeobecně vnímána jako komplexní stavy vznikající na genetickém podkladě, který je považován za polygenní genetickou vnímavost rozvoji autoimunitního onemocnění, k němuž přispívají i spouštěcí faktory, zvláště infekce, a faktory vnějšího prostředí.

Již delší dobu jsou známa vzácná autoimunitní onemocnění s monogenní dědičností, která vznikají na podkladě poruchy tolerance či selhání procesů apoptózy, k nimž se řadí APS1 na podkladě mutace AIRE, onemocnění IPEX na podkladě mutace FOXP3 vedoucí k poruše periferní tolerance či onemocnění ALPS s mutacemi v genech účastných v procesu apoptózy.

Nově se začíná formovat širší kategorie monogenních onemocnění vedoucích k autoimunitním projevům, kde jsou nalézány konkrétní mutace v imunitním systému.

Prototypem těchto jednotek je monogenní SLE. Jedná se o nyní již dobře definované onemocnění, které má daná diagnostická kritéria. Poruchy imunity v tomto případě zasahují systém komplementu, poruchy zpracování nukleových kyselin, poruchy v drahách interferonu a poruchy mechanismů tolerance.

I pandemie nemoci COVID-19 přispěla k lepšímu porozumění systému interferonu a zlepšila možnosti diagnostiky tak zvaných interferonopatií. Sem kromě některých monogenních forem SLE patří vzácná onemocnění, jako je syndrom Aicardiho–Goutièresův a navazující další desítky onemocnění způsobených poruchami v dráze interferonů I. typu, jako jsou poruchy zasahující samotnou interferonovou signalizaci, buněčné struktury, jako je proteazom, či mitochondrie a řadu jednotek spojených s poruchami metabolismu nukleových kyselin.

Monogenní příčiny mají také poruchy v oblasti NFκB dráhy, nazývané obecně RELopatie, například A20 deficiencie či otulopatie, nebo většinou neurologická onemocnění nazývaná RASopatie (neurofibromatóza, syndrom Noonanové).

Přesto, že se jedná o vzácná a většinou málo známá onemocnění, v některých případech se nacházejí i u našich pacientů. To se týká například monogenních vaskulitid, kam patří již známější onemocnění SAVI (STING Associated Vasculopathy with onset in Infancy) či DADA (Deficiency of Adenosine Deaminase 2).

Rozpoznání monogenních autoimunit je důležité pro možnosti cílené terapie. Náročná je diagnostika, která teprve postupně přichází do imunologických laboratoří.

## NOVINKY V LÉČBĚ SYSTÉMOVÝCH VASKULITID

Hrušková Z., Tesař V.

*Klinika nefrologie 1. LF UK a VFN, Praha*

Systémové vaskulitidy jsou obecně vzácná, ale potenciálně závažná až život ohrožující onemocnění, která jsou charakterizována zánětem cévní stěny. Nejčastěji se dělí podle velikosti postižených cév na vaskulitidy malých, středních a velkých cév.

Terapie systémových vaskulitid by měla být přizpůsobena typu vaskulitidy, rozsahu a závažnosti onemocnění, ale i charakteristikám pacienta a jeho komorbiditám. Dnes jsou v léčbě vaskulitid nejvíce využívána konvenční imunosupresiva, základním terapeutickým prostředkem zůstávají kortikosteroidy, dále je možno jmenovat cyklofosfamid, azathioprin či metotrexát.

V posledních letech ale roste význam biologické terapie: rituximab (anti-CD20) je již rutinně využíván v indukční i udržovací terapii ANCA asociované vaskulitidy, mepolizumab (anti-IL5) lze využít v léčbě eozinofilní granulomatózy s polyangiitidou, tocilizumab (anti-IL6R) pak v léčbě vaskulitidy velkých cév, inhibitory TNF v léčbě Takayasuovy arteriitidy.

Novou možností, která může zcela nahradit kortikosteroidy v léčbě ANCA asociované vaskulitidy, je avacopan, inhibitor receptoru pro komplementovou složku C5a. Mnoho klinických studií u vaskulitid nadále probíhá a lze doufat, že novější léčebné postupy v budoucnu dále zlepší nejen prognózu, ale i kvalitu života našich pacientů.

## SJÖGRENŮV SYNDROM Z POHLEDU STOMATOLOGA

Radochová V.

*Stomatologická klinika LF UK a FN v Hradci Králové*

Sjögrenův syndrom je autoimunitní onemocnění, které je charakterizované především chronickým zánětem s destrukcí exokrinních žláz. Dělíme ho na primární – samostatné onemocnění a sekundární – vyskytující se při jiném onemocnění autoimunitního charakteru (RA, SLE, MCTD – smíšená choroba pojiva, systémové vaskulitidy).

Nejčastěji se klinicky projevuje xerostomií a xeroftalmií vznikající při lymfocytární infiltraci slinných a slzných žláz. Toto onemocnění může postihnout i další orgány, včetně kloubů, plic, ledvin a nervového systému.

Diagnostika Sjögrenova syndromu je komplexní a vyžaduje kombinaci klinických příznaků, laboratorních testů a zobrazovacích metod. Mezinárodně uznávaná kritéria pro diagnostiku Sjögrenova syndromu zahrnují vyšetření nestimulované slinné sekrece, skóre očního barvení, Schirmerův test, Anti-Ro/SS-A protilátka a histopatologické vyšetření – slinná žláza s fokální lymfocytární sialoadenitidou a fokus skóre  $\geq 1/4$  mm<sup>2</sup>.

Terapie PSS se dělí obvykle na symptomatickou (terapie xerostomie, xeroftalmie) a na chorobu modifikující terapii. Terapeutické postupy při PSS jsou primárně

empirické. Evidence-based doporučení pro léčbu této choroby dosud chybí, neboť žádná terapie zatím výrazněji neovlivnila průběh choroby.

## Sekce imunologických laborantů

### 40 LET ANTIFOSFOLIPIDOVÉHO SYNDROMU

Jílek D.

*Oddělení klinické imunologie a alergologie, Krajská zdravotní, a. s. – Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o. z.*

Antifosfolipidový syndrom (APS) je systémové autoimunitní onemocnění charakterizované přítomností antifosfolipidových protilátek (APLA), vaskulárními trombózami a komplikacemi těhotenství. Je definován laboratorními a klinickými kritérii. V přehledném sdělení jsou podány základní informace o APS z hlediska historie, klinického obrazu, diagnostiky a léčby.

„Prehistorie“ APS začíná počátkem 20. století, kdy byly rozpoznány APLA (tehdy nazývané reaginy) jako sérologický příznak onemocnění syfilis (reakce BWR). Historie pak začíná v roce 1983, kdy G. Hughes popsal asociaci trombotických příhod s potraty a výskytem lupusového antikoagulans. V témže roce N. Harris publikoval stanovení antikardiolipinových protilátek u nemocných se SLE a trombózami, a to nejprve metodou RIA, později metodou ELISA. Onemocnění nazval antikardiolipinový syndrom.

Na rozdíl od jiných systémových autoimunitních onemocnění není léčba APS primárně imunosupresivní, ale protitrombotická a profylaktická antikoagulační. Sdělení uvádí přehled hlavních léčebných postupů APS a přehled používaných metod pro vyšetřování APLA.

### APS, JAK HO VIDÍ HEMATOLOG

Kavanová M.

*Institut klinické a experimentální medicíny, Hematologicko-transfuzní oddělení*

Antifosfolipidový syndrom (APS) je komplexní diagnóza, která je podmíněná jak nálezem v klinickém obraze pacienta, tak i splněním určených laboratorních kritérií.

Klinickým projevem jsou především trombotické komplikace, těhotenské ztráty a někdy – paradoxně – i krvácivý stav. V laboratorní diagnostice se pro potvrzení APS požaduje buď přítomnost protilátek proti negativně nabitým fosfolipidům, nebo přítomnost lupus antikoagulans (LA), jehož stanovení spadá do odbornosti hematologických laboratoří. Jedná se o jedno z nekomplexnějších a nejsložitějších stanovení, které může být ovlivněno již samotným odběrem, preanalytickou fází, typem analyzátoru, a především zvolenou reagentií.

Vzorek s pozitivitou LA musí vykazovat jasnou fosfolipidovou závislost v koagulačních testech, zároveň však nesmí dojít k záměně s deficitem koagulačních faktorů. Velkou komplikací je probíhající antikoagulační léčba, která silně interferuje se stanovením.

V případě, že laboratoř má informaci o probíhající léčbě, může v některých případech přítomné léčivo eliminovat. U některých typů antikoagulačních, jako je například heparin, nebo v případě, že nám tuto informaci klinické pracoviště neposkytne, toto povést nelze. V každém případě je vytvoření nekomplikovaného testu na přítomnost LA s vysokou senzitivitou a specifitou velkou výzvou do budoucna.

### CYTOKINY Z IL-6 RODINY U TRANSPLANTACÍ LEDVIN

Čečrdlová E.<sup>1</sup>, Fialová M.<sup>1</sup>, Krupičková L.<sup>1</sup>, Novotný M.<sup>2</sup>, Hrubý F.<sup>3</sup>, Zemanová K.<sup>1</sup>, Viklický O.<sup>2</sup>, Stríž I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Institut klinické a experimentální medicíny Praha, Pracoviště klinické a transplantační imunologie*

<sup>2</sup> *Institut klinické a experimentální medicíny Praha, Klinika nefrologie, Transplantcentrum*

<sup>3</sup> *Institut klinické a experimentální medicíny Praha, Pracoviště datové vědy*

#### Cíle práce

Cílem této studie bylo zjistit, zda by se jako prediktivní marker akutní rejekce dal využít některý z členů IL-6 rodiny cytokinů, který může mít vztah k míře zánětlivé reakce v organismu. Zaměřili jsem se na leukemia inhibitory factor (LIF) a interleukin-31 (IL-31), o jejichž úloze při transplantaci orgánů nejsou k dispozici žádné relevantní údaje.

#### Metody

V naší studii byly metodou Luminex hodnoceny sérové hodnoty IL-6, LIF a IL-31 u pacientů s transplantovanou ledvinou (94 bez rejekce a 44 s rejekcí, 48 kontrol). Vzorky byly odebírány před Tx a poté 7., 90. a 365. den po Tx. U pacientů s akutní rejekcí byly vzorky séra odebrány také v den biopsie.

#### Výsledky

Sérové hladiny IL-31 u pacientů s akutní rejekcí byly zvýšené po třech měsících ( $p < 0,001$ ) a jednom roce po Tx ( $p < 0,001$ ) a zejména v den biopsie pozitivní na akutní rejekci ( $p < 0,001$ ). Nebyla zjištěna žádná souvislost mezi typem rejekce a sérovými konc. IL-31. Oproti tomu, sérové hladiny LIF u pacientů s akutní rejekcí byly zvýšené ještě před Tx v porovnání s hodnotami pacientů s nekomplikovaným průběhem ( $p < 0,001$ ). Nebyla

nalezena korelace mezi sérovou hladinou LIF a vstupní Tx diagnózou.

#### Závěr

Výsledky naznačují, že zvýšené sérové hladiny LIF před Tx a zvýšené hladiny IL-31 v časně fázi po Tx se mohou podílet na akutní rejekci alotransplantátu ledviny. Vysoká koncentrace IL-31 ve vzorcích získaných v den

biopsie (při akutní rejekci) vyvolává možnost využití tohoto cytokinu jako nového biomarkeru imunitní odpovědi proti štěpu.

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

## Lékové hypersenzitivity

### IS (DRUG) ALLERGY A GENETIC DISEASE?

Kopač P., Svetina M., Kačar M., Zidarn M., Rijavec M., Šelb J., Korošec P.

*University Clinic of Respiratory and Allergic Diseases Golnik, Slovenia*

#### Introduction

Drug hypersensitivity reactions (DHRs) are unpredictable and idiosyncratic, with complex dose-response relationships, making them undetectable by current premarketing screening. Understanding factors that contribute to DHR will enhance future drug screening and improve drug safety. In delayed reaction, the associations between DHRs and HLA alleles are well-established for certain drugs, such as carbamazepine, abacavir, allopurinol, NSAIDs etc. However, for immediate reactions, such associations are not yet confirmed. The presence of the KIT p.D816V mutation and increased TPSAB1 copy number are associated with severe venom and idiopathic anaphylaxis. In this study we aimed to determine the impact of tryptase genotypes in drug-induced anaphylaxis.

#### Methods

A prospective cohort of 109 patients with confirmed IgE-mediated anaphylaxis (positive skin test and/or sIgE and/or basophil activation test) to drugs referred to our centre in 2021-23 underwent tryptase genotyping by droplet digital PCR and peripheral blood KIT p.D816V testing.

#### Results

H $\alpha$ T was more prevalent in individuals with antibiotic- (n=6 of 37; [16.2%]), monoclonal antibodies (mAbs) - (n=3 of 8; [37.5%]), proton-pump inhibitor (n=2 of 4; [50%]), radiocontrast agents- (n=1 of 3; [33.3%]) or chlorhexidine (n=1 of 7; [14.3%]) induced anaphylaxis compared to those with anaphylaxis due to non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) (n=1 of 21; [4.8%]) or neuromuscular-blocking drugs (NMBAs) (n=0 of 23; [0%]). KIT p.D816V was detected in 6.4% (7 of 109) of patients, 3 with antibiotic, 2 with NSAID, 1 with NMBA and one with PPI-induced anaphylaxis. There was no difference in severity of anaphylaxis in patients with or without H $\alpha$ T (57.1% vs 68.4%).

### Conclusions

We demonstrated a positive association between H $\alpha$ T and drug anaphylaxis, especially PPI, mAbs, radiocontrast agents, antibiotic and chlorhexidine induced reactions. None of the individuals with NMBA and minority of NSAID-triggered anaphylaxis were found to have H $\alpha$ T. KIT p.D816V was detected in 6 % patients with drug allergy.

### HYPERSENZITIVNÍ REAKCE NA BIOLOGIKA

Pešák S.<sup>1</sup>, Löscherová J.<sup>2</sup>, Thon V.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> UKIA LF MU a FNUSA, Brno

<sup>2</sup> LK FNUSA, Brno

<sup>3</sup> RECETOX MU a AKIMED, Brno

Biologika (biologické, biotechnologické substance) jsou látky, u nichž dosud nebyla přijata jednotná, obecně akceptovatelná definice. Někteří autoři definují biologika jako komplexní látky o relativně vysoké molekulové hmotnosti, které jsou produkovány živými systémy (mikroorganismy, rostlinnými nebo živočišnými buňkami), jiní je definují jako jakékoliv substance složené z organických molekul, nezávislé na jejich velikosti, a dalšími autory jsou vnímány jako jakékoliv biologicky derivované produkty.

Používání biologik není „žhavou novinkou“, látky jako lidský růstový faktor, inzulin, nebo stimulační faktory pro červené krvinky jsou používány již řadu let. Díky pokrokům v genomice a proteomice, které vedly k novým poznatkům o řadě receptorů a jejich signálních drahách, byl zaznamenán nebývalý nárůst v množství těchto preparátů a možnostech jejich využití.

Každá nová léčba však s sebou nese i rizika nových nežádoucích účinků. Alergolog se tak může ve své praxi setkat s pacienty, kteří byli odesláni k vyšetření pro velmi pestré spektrum nežádoucích účinků, a nemusí zahrnovat pouze „klasické“ anafylaxe, infuzní či cytokinové reakce, ale i projevy autoimunity či neimunologických reakcí. Tento příspěvek by měl sloužit pro snazší orientaci v klasifikaci, diagnostice a léčbě těchto reakcí.

## LÉKOVÉ ALERGIE U ONKOLOGICKÝCH PACIENTŮ – PŘÍKLADY Z PRAXE

Sobotková M.<sup>1</sup>, Bejčková A.<sup>2</sup>, Chládková Z.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ústav imunologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

<sup>2</sup> Pneumologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha

Hypersenzitivní reakce na systémovou chemoterapii představují závažnou komplikaci onkologické léčby. Jejich výskyt zpravidla vede k záměně léčby první linie za terapii jinou, což může vést ke zhoršení kvality života a zkrácení doby přežití pacienta. Kromě záměny léčiva suspektního z alergické reakce můžeme v rámci alergologického vyšetření provádět kožní testy ke stratifikaci rizika, expoziční testy nebo indikovat lékovou desenzitizaci.

Cílem vyšetření by měla být především snaha uvolnit pacientovi s onkologickým onemocněním léčbu první linie. Zde bychom rádi představili naše první zkušenosti s alergologickým vyšetřením u tří pacientů s bronchogenním karcinomem: U prvního pacienta jsme řešili reakci charakteru angioedému a mapovitého exantému, který se vyskytl asi za hodinu po dokapání první infuze s pembrolizumabem. S pembrolizumabem jsme provedli prick a intradermální testy s negativním výsledkem a byl indikován provokační test, který pacient bez komplikací toleroval. Další terapie pembrolizumabem probíhá bez komplikací s premedikací antihistaminikem.

Druhý pacient byl k alergologickému vyšetření indikován z důvodu oddálené kožní reakce charakteru makulopapulárního exantému, který se objevil asi týden po podání 2. cyklu udržovací léčby pemetrexedem. Zde jsme indikovali podání dalšího cyklu pemetrexedu formou desenzitizačního protokolu a s premedikací antihistaminiky. Bohužel opět došlo asi s týdenním odstupem k rekurenci exantému, který však byl dobře terapeuticky zvládnutelný a po zvážení rizik a benefitů pacient dále v terapii pokračuje. Od 6. cyklu chemoterapie se již kožní reakce neobjevují.

Třetí pacient prodělal systémovou reakci charakteru angioedému a dušnosti se spastickým poslechovým nálezem do několik minut po zahájení infuze etoposidu, před kterým byla v průběhu 60 minut podána karboplatina. Prick i intradermální testy byly negativní, proto jsme indikovali expoziční test s oběma chemoterapeutiky, který proběhl bez komplikací a následně pacient toleroval další 3 cykly této chemoterapie. Alergologické vyšetření tedy ve všech případech umožnilo pacientům pokračovat v terapii, která by měla být s ohledem na jejich diagnózu nejefektivnější.

## DESENZITIZÁCIA U NESKORÉHO TYPU LIEKOVEJ ALERGIE

Hlinka I., Hlinková B.

*AlergoImuno centrum, s. r. o., Kežmarok*

Lieková hypersenzitivita podľa našich skúseností veľmi nepriaznivo vplýva na psychiku pacientov, zhoršuje ich kvalitu života a v praxi často odvádza správny liekovú stratégiu k menej účinným alternatívam. Desenzitizácia u neskorého typu liekovej alergie býva účinná takmer

u 80 % pacientov. Mechanizmus desenzitizácie nie je zatiaľ objasnený, ale predpokladá sa účasť T-regulačných lymfocytov. Autori prezentujú v súlade s „Drug Hypersensitivity Interest Group of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology“ indikácie a kontraindikácie desenzitizácie u neskorého typu liekovej alergie, navrhované postupy a vlastné skúsenosti s desenzitizáciou na sulfonamidy, amiodaron, potencované PNC a alopurinol. Desenzitizácia bola aplikovaná u pacientov s neskorým makulopapulárnym exantémom a fixným liekovým exantémom. Hlavnou indikáciou bola nevyhnutnosť liečby pri neexistujúcej alternatíve pre daného pacienta. Autori zdôrazňujú, že musí ísť o veľmi rozvážne a individuálne rozhodnutie s prehodnotením pomeru riziko/benefit.

## NEVŠEDNÍ PŘÍČINA PERIOPERAČNÍ REAKCE V PRŮBĚHU ORGÁNOVÉ TRANSPLANTACE

Vydláková J.

*Imunologické pracoviště PLM, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha*

### Úvod

Na pracovišti klinické imunologie a alergologie IKEM v posledních 3 letech provádíme testování lékové alergie. Vzhledem k specifickému zaměření institutu na orgánové transplantace jsme během této doby kromě mnoha jiných polékových reakcí testovali 7 pacientů s epizodou těžké perioperační, resp. peritransplantační anafylaxe, kteří se často vymykají běžné praxi. V Transplantačním centru IKEM bylo za rok 2023 provedeno celkem 276 transplantací ledvin od kadaverózních i žijících dárců.

### Kazuistika

Kazuistika referuje 47letého pacienta s IgA nefropatií se zbytkovou schopností diurézy na dlouhodobé domácí peritoneální dialýze, který byl indikován k transplantaci ledviny od kadaverózního dárce 7. 6. 2023. Na operační sále po úvodu do anestezie nastal rozvoj anafylaktického šoku prakticky okamžitě po aplikaci antithymocytárního globulinu, použitého k indukci imunosuprese. Zjištěna byla bronchokonstrikce a hypovolemie, vyvstala nutnost dlouhé KPR včetně mechanizované srdeční masáže (LUCAS). Kardiální příčina byla po kontrole jícnovou echokardiografií vyloučena. Vzhledem k těžké hypovolemii provedena i explorativní laparotomie k vyloučení břišního krvácení. Pro refrakterní vasoplegii bylo zavedeno po 30 minutách KPR veno-arteriální ECMO. Po 2 dnech byl pacient na oddělení KAR stabilizován, extubován a ECMO bylo explantováno.

Před znovuzařazením na WL bylo třeba provést alergologické vyšetření a zhodnocení lékové alergie jako etiologického faktoru. V anamnéze byla uvedena alergie na roztoče a pyl, astma bronchiale GINA II-III, mnoho let zcela stabilizované; léková alergie kromě nejasné nevýznamné kopřivky po antihypertenzní medikaci před mnoha lety přítomna nebyla. Přestože od začátku se jevil preparát Grafalon (antithymocytární globulin) jako suspektní spouštěč reakce, bylo třeba vytvořit časovou osu aplikace všech léčiv podaných před výkonem

a otestovat i ostatní podané léky. *In vivo* testování na kůži významně komplikovala pacientova prakticky celotělová tmavá tetováž.

Bylo třeba dovyšetřit příčinu proběhlé nežádoucí reakce a doporučit úpravu medikace v rámci transplantačního postupu tak, aby se minimalizovalo riziko jejího opakování. Byly provedeny *in vitro* testy aktivace bazofilů s hlavními zástupci použitých léků s negativním výsledkem (v pořadí Propofol, Sufentanil, Rocuronium, Methylprednisolon, Pantoprazol, Cefuroxim) a opakovaně stanovena hodnota bazální sérové tryptázy, která byla vždy mírně zvýšená nad normu, avšak bez výraznějšího kolísání. Provedené kožní a intradermální testy s použitými léky kromě antithymocytárního globulinu byly hodnoceny jako zcela negativní. Vzorek ATG (Grafalonu) bylo obtížné získat, nakonec s malým množstvím bylo možno provést jen kožní prick test, který hodnocen jako pozitivní v časném odečtu, na provedení BAT testu nebylo dost materiálu. Spíše pro úplnost laboratorního

obrazu provedeno vyšetření specifických IgE protilátek proti vybraným alergenům a překvapivě odhalilo vysoce pozitivní specifické IgE proti alergenu králíka (31násobná hodnota cut off).

#### Závěr

Antithymocytární globulin (Grafalon) je imunoglobulinový přípravek proti lidským T-lymfocytům s imunosupresivní aktivitou izolovaný ze séra králíků imunizovaných lidskými T-lymfoblasty z lidské buněčné linie Jurkat. Jedná se o roztok polyklonálních protilátek proti T-buňkám; hlavní mechanismus deplece T-buněk jsou opsonizace a lýza aktivací komplementového systému. Před prvním podáním přípravku Grafalon by se mělo zjistit, zda pacient nemá v anamnéze alergickou predispozici, zejména na králičí proteiny, avšak ani pacient informaci o své senzibilizaci neměl, králíky však před mnoha lety choval. K indukci imunosuprese byl pro další transplantaci antithymocytární globulin striktně nedoporučen a nahrazen v protokolu basiliximabem (Simulect).

## Inhalační alergeny a alergenová terapie

### PYLOVÉ ALERGENY DŘEVIN A PROBLEMATIKA KÁCENÍ STROMŮ Z DŮVODU ALERGIE OBYVATEL

Rybníček O.

*Pediatrická klinika MU a FN Brno*

Alergická pylová rinokonjunktivitida, často společně s astmatem, patří k nejčastějším alergickým projevům. Je všeobecně známo, že mezi komunální preventivní opatření patří včasné pokosení trávníků před jejich rozkvětem, kultivace městských a příměstských neudržovaných ploch a snížení výskytu rumištních plevelů, především pelyňku. Doporučuje se cílená likvidace rostlin zavlečených (k severozápadu Evropy se rozšiřující ambrosie).

Internetem poučení občané také čím dál častěji vyžadují od lékaře potvrzení o alergii v případě, když se obávají, že určitá konkrétní dřevina v blízkosti jejich bydliště či pracoviště je příčinou jejich alergických potíží.

Pylová informační služba dlouhodobě vypracovává posudky na žádost různých městských či místních zastupitelstev, kde tito občané žádají o pokácení určitých stromů. Zde je nezbytný zcela individuální přístup, který je založený na topografické situaci s ohledem na bydliště žadatele o kácení a polohu stromu, na fenologických, botanických a meteorologických znalostech posuzovatele, ale také na alergologických a někdy i dalších informacích o konkrétním žadateli o kácení dřevin v blízkosti jeho bydliště.

Příspěvek se konkrétně zabývá uvolňováním a šířením pylu různých dřevin s ohledem na komunální problematiku.

### ARTEMISIA A AMBRÓZIA – KTO JE KTO: POHLED ALERGOLOGA PO 40 ROKOCH PRAXE

Hrubíško M., Májovská L.

*Onkologický ústav sv. Alžbety, Bratislava*

Nemalá část polinotikov zažívá najhoršie obdobie až na vrchole leta, alebo pri jeho prechode do jesene. Obdobie pelenia rôznych vetrom opel'ovaných druhov astrovitých bylín je pomerne dlhé, od VII. až do začiatku XI. mesiaca.

V prezentácii predstavujeme polinózne druhy z čeľade astrovitých, s vysvetlením, prečo práve druhy ako *Artemisia* a *Ambrosia* sú tak častou príčinou respiračnej alergie – ich peľ totiž dokonale naplnia podmienky pre peľový alergén: 1) rastliny produkujú obrovské množstvo peľu prenášaného vetrom, 2) ich peľ je ľahký, nelepivý, dobre a dlho sa vznáša, 3) peľové zrná obsahujú látky schopné senzibilizácie a 4) rastlina je hojná (v prezentácii približujeme lokality výskytu).

Okrem najčastejších zdrojov alergizujúceho peľu astrovitých treba ešte spomenúť rody *Solidago*, *Iva*, *Aster* a *Helianthus*. Príbuzné týchto rastlín sú na jar kvitnúce rody *Taraxacum*, *Matricaria*, *Leucanthemum* a ďalšie, ktoré sú ale opel'ované hmyzom, a tak väčšie problémy nerobia. *Artemisia* je rod cca 500 druhov bylín a kríkov rastúcich predovšetkým na severnej pologuli; v strednej a východnej Európe sú najrozšírenejšie *A. vulgaris*, *A. campestris*, *A. absinthium*, *A. pontica*, *A. annua*, *A. maritima*, *A. scoparia* – všetky sú producentom vzduchom prenášaného peľu, z nich polinózne najvýznamnejšia je jednoznačne *A. vulgaris*. Uvedené druhy sú pionierske rastliny rýchlo kolonizujúce zanedbané plochy. Prevalencia senzibilizácie v Európe je 10 – 15 %, z klinického

hľadiska je ale podstatné, že silné prejavy alergie vyvoláva artemisia iba počas dní s najvyššou koncentráciou peľu v ovzduší

Rod *Ambrosia* tvorí asi 40 druhov, sú rozšírené pôvodne (takmer) výlučne v tropických a subtropických oblastiach Severnej Ameriky – predovšetkým na juhozápade USA a severozápade Mexika, v Európe je pôvodná iba *A. maritima* v prímorských oblastiach Stredozemia. Mnohé druhy sa v priebehu 19. – 20. storočia introdukovali do Európy, rýchlo sa v nej naturalizovali a stali sa invázne – v 1. rade *A. artemisiifolia*.

Klimatická zmena spôsobuje ďalšie masívne šírenie ambrózie v Európe z južnejších oblastí smerom na sever. Jedna rastlina *A. artemisiifolia* vyprodukuje za sezónu cca 1 miliardu peľových zŕn schopných prenosu až na vzdialenosť 500 km. Prevalencia senzibilizácie v Európe je od 3,5 % (Taliansko) po 54 % (Maďarsko). Na vyvolanie ťažkostí stačí 5 – 50 peľových zŕn v kubickom metri vzduchu. Klimatická zmena ovplyvňuje kvitnutie astrovitých polinózných bylín inak, ako je tomu so sezonalitou kvitnutia drevín a tráv. Väčšine astrovitých bylín začínajú kvety vyzrievať až po prvej vlne horúčav a po ochladení, čo paradoxne ostatné roky spôsobuje oproti nedávnej minulosti posun sezóny o 7 – 10 dní neskôr!

Toto platí najmä pre palinu. V prezentácii predstavujeme hlavné a vedľajšie alergénne molekuly paliny a ambrózie (Art v 1-6, Amb a 1-9), ich skříženú reaktivitu a význam pre alergénovú imunoterapiu. Hlavné alergény paliny (Art v 1) a ambrózie (Amb a 1) sú nepríbuzné proteíny, ale ich peľ obsahuje aj pan-alergény ako profylín či nsLTP zodpovedné za výraznú X-reaktivitu. V praxi sa často stretáme so súčasnou pozitívou extraktových testov na palinu aj ambróziu a musíme riešiť otázku, či ide o skříženú reaktivitu, alebo o kosenzibilizáciu.

Autor prezentácie vyzdvihuje význam komponentovej diagnostiky alergénov pre riešenie tejto klinickej otázky. Výsledkom môže potom byť alergénová imunoterapia ušitá na mieru každému pacientovi.

## PROČ NEFUNGUJE AIT U KOŽNÍCH ATOPICKÝCH ONEMOCNĚNÍ?

Krčmová I.<sup>1</sup>, Čelakovská J.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ústav klinické imunologie a alergologie, Fakultní nemocnice, LF UK, Hradec Králové

<sup>2</sup> Klinika nemocí kožních a pohlavních, Fakultní nemocnice, LF UK, Hradec Králové

Atopická dermatitida je definována jako multifaktoriální neinfekční zánětlivé onemocnění, pro které je typické střídání bezpříznakové fáze s opakujícím se vzplanutím nemoci. Choroba je způsobena komplexní interakcí imunitní dysregulace, mutací epidermálních genů a faktorů narušujících epidermis se vznikem svědivých zánětlivých kožních lézí.

Těžká atopická dermatitida, kde je ke zvládnutí choroby zapotřebí léčby celkové, postihuje cca 1/3 pacientů. Dle Evropských doporučených postupů je třeba celková léčba v případech, kdy je ekzém navzdory léčbě a prevenci perzistující. Další charakteristikou indikace

je nedostatečná reakce na dosavadní léčbu, tedy závažná atopická dermatitida, když lokální léčba, případně v kombinaci s fototerapií, nevede k dostatečnému efektu nebo tato léčba není tolerovaná. Nástup biologik a JAK inhibitorů je označován za revoluční. Lze však přiznat, že se nejedná o léčbu měnící přirozený průběh choroby, tak jako očekáváme v imunomodulačním vlivu AIT. V literatuře byl v rámci některých studií s AIT (kromě efektu na alergickou rinitidu a alergické astma) sledován vliv imunoterapie taktéž na průběh atopické dermatitidy.

Kvalitní studie, randomizované, placebem kontrolované, u kterých by byl sledován efekt AIT přímo na atopický ekzém či jeho progresi, jsou ojedinělé. Literárně je uváděn přehled 12 randomizovaných studií s celkovým počtem účastníků 733 osob. Intervence zahrnovaly AIT u dětí a dospělých alergických na roztoče (10 studií), travní pyl nebo jiné inhalační alergeny (dvě studie). Byly podávány subkutánně (šest studií), sublingválně (čtyři studie), perorálně.

Mezi dvěma srovnatelnými studiemi (184 účastníků) nebylo potvrzeno, že by AIT zlepšila SCORAD, část C nebo poruchy spánku více než placebo. Jedna nezaslepená studie (60 účastníků) zjistila, že AIT snížila svědění ve srovnání s nulovou léčbou a snížila celkové symptomy účastníků ( $P < 0,01$ ). Uvedené tři studie nebylo možné sloučit pro vysokou heterogenitu souboru. Nicméně výsledky dotazníků „Globální hodnocení aktivity onemocnění na konci léčby hodnocené lékařem“ (sedm studií, 286 účastníků) a „Závažnost ekzému hodnocená lékařem“ (šest studií, 435 účastníků) doložily, že AIT byla účinná, ačkoli kvalita důkazů pro tyto dva výsledky byla ohodnocená jako nízká. Zůstává otázkou, zda na AIT v kontextu atopické dermatitidy rezignovat, či zda podnět znovu neotevřít zejména u dominujících roztočových vazeb v kontinuálním podávání AIT, popřípadě v kombinaci s biologickou léčbou.

## PROFESNÍ ALERGENY U BRONCHIÁLNÍHO ASTMATU A ALERGICKÉ RINITIDY, SOUČASNÁ SITUACE A TRENDY V ČESKÉ REPUBLICE

Boušová K.

Klinika pracovního lékařství, Fakultní nemocnice Hradec Králové a LF UK v Hradci Králové

Asthma bronchiale (AB) a alergickou rinitidu (AR) lze za určitých podmínek definovaných v nařízení vlády č. 290/1995 Sb. v platném znění uznat za nemoc z povolání. Ještě na přelomu tisíciletí platilo, že příčinou 5 % nově zjištěného alergického astmatu je některý alergen, resp. spouštěč v pracovním prostředí. V posledních 15 letech však zaznamenáváme výrazný pokles jednak šetřených podezření na nemoc povolání, jednak uznaných případů profesního astmatu a rinitidy.

Důvodem je nejen úbytek těch odvětví ekonomické činnosti, v nichž se významné alergeny vyskytují typicky (zemědělské a potravinářské výroby, textilní výroby aj.), ale také nárůst výrobních činností s výskytem obtížně definovatelných a testovatelných chemických látek,

kteře ztěžují možnosti diagnostiky. Jako nejčastější alergeny bývaly v minulosti zjišťovány mouka („pekařské astma“), zemědělské alergeny rostlinného i živočišného původu a textilní prach.

V novém tisíciletí se v souladu s celoevropským trendem dostaly i v České republice do popředí chemické látky, a to především diizokyanáty, dále ropné produkty, lepidla, tmely a jiné. Až dalším v pořadí, avšak stále relativně významným alergenem zůstává mouka.

V České republice bývalo v 90. letech minulého století uznáváno ročně 70–100 případů nových onemocnění profesionálním AB a AR, v letech 2010–2019 to bylo 45–80 případů a v letech 2020–2023 již pouze 20–40 případů ročně.

Profesionalitu AB a AR v ČR posuzují a potvrzují tzv. střediska pro uznávání nemocí z povolání, což jsou zpravidla kliniky/oddělení/centra pracovního lékařství v krajských nemocnicích. K vyšetření odesílají pacienty přednostně praktičtí lékaři, dále alergologové, pneumologové či otorinolaryngologové, a to s již potvrzenou diagnózou astmatu či rinitidy. V rámci vyšetření na pracovním lékařství je detailně odebrána pracovní anamnéza, zhodnocen celkový zdravotní stav, podle možností provedeno testování s podezřívajícími alergeny – látkami z pracoviště, je vyhodnocena příčinná souvislost vzniku onemocnění s pracovním prostředím, vyžádáno závazné vyjádření hygienika práce a poté eventuálně uznána nemoc z povolání.

Za profesní lze astma či rinitidu uznat pouze tehdy, je-li jako primární nebo převažující příčina stanovena noxa z pracovního prostředí; v minulosti zjištěné astma, u něhož došlo ke zhoršení vlivem práce, nelze uznat za nemoc z povolání.

## SENZIBILIZACE NA PLÍSNĚ

Pešák S.<sup>1</sup>, Löscherová J.<sup>2</sup>, Thon V.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> UKIA LF MU a FNUSA, Brno

<sup>2</sup> LK FNUSA, Brno

<sup>3</sup> RECETOX MU a AKIMED, Brno

Slovem plísně bývají obecně označovány houby, které vytvářejí jemné vláknité povlaky na různých organických materiálech, z kterých jako heterotrofní organismy čerpají uhlík. Jejich hyfy a spory lze pozorovat pouze mikroskopem. Proto jsou označovány jako houby mikroskopické neboli mikromycety. Alergeny hub jsou obsaženy jak v hyfách, tak ve sporách, kde se vyskytují v několikanásobně větším množství. Na vrcholu sezony převyšují množství pylových zrn, a jsou tak nejpočetnějšími organickými částicemi v ovzduší.

Spory hub většinou dosahují velikosti 3–8 µm. Vzhledem ke svému aerobiologickým vlastnostem jsou schopny transportu na velké vzdálenosti, s dlouhou perzistencí v ovzduší. U vnímavých osob exponovaných houbám může po různě dlouhé době senzibilizace dojít k projevům alergických onemocnění – nejčastěji rýmy a astmatu. Senzibilizace houbovými alergeny nalézáme přibližně u 20–30 % atopiků, až u 80 % astmatiků a klinické projevy přecitlivělosti se manifestují u 3–10 % světové populace.

S respiračními alergickými projevy je asociováno před 80 druhů hub a v současné době bylo popsáno již přes 110 jejich jednotlivých alergenů. Příspěvek podává ucelený pohled na problematiku přecitlivělosti na plísně, včetně možností diagnostiky, léčby a pokroků ve výzkumu patogeneze.

## ASPEKTY ALERGICKEJ RINITIDY – POHLED Z HĚADISKA KOMORBIDIT (POPULAČNÁ ŠTÚDIA)

Janota S.<sup>1</sup>, Lukán N.<sup>2</sup>, Salátová Kozlovská I.<sup>3</sup>, Hrubiško M.<sup>4</sup>, Korytářová J.<sup>5</sup>, Gürtler E.<sup>6</sup>, Klinovský V.<sup>7</sup>, Ciesar M.<sup>8</sup>, Faktor M.<sup>8</sup>

<sup>1</sup> V. interná klinika LF UK a UN Bratislava

<sup>2</sup> Ústav imunologie a alergologie LF SZU

<sup>3</sup> Centrum imunologie a alergologie, s. r. o.

<sup>4</sup> OKIA Onkologický ústav svätej Alžbety, s. r. o., Bratislava

<sup>5</sup> FZaSP TU Trnava a AKIA NAW Piešťany

<sup>6</sup> OKI UN Bratislava

<sup>7</sup> GASTROENTERO, s. r. o.

<sup>8</sup> Dôvera, zdravotná poisťovňa, a. s.

### Cieľ práce

Zistujeme, že na našich spolupracujúcich pracoviskách musíme často prehodnotiť diagnózu alergickej nádchy (AR), keď príčinou ťažkosti sú iné stavy, hlavne laryngofaryngový reflux a nealergická sinusitída, ktoré môžu byť samotnou príčinou ťažkosti, ale aj komorbidity.

### Materiál a metódy

Analyzovali sme údaje našich pracovísk a populačnú štúdiu sme vykonali z údajov Zdravotnej poisťovne Dôvera, a. s., za roky 2019 – 2023. Do štúdie boli zaradení chorí, ktorí si vyzdvihli lieky predpísané na diagnózu J30.1 – 4 v rokoch 2021 – 2023 ročne opakovane. Sledovali sme výskyt diagnóz K20, K21, K30, K31, J32, J31.1, J31.2, J37.0, J37.1, J38.7, J39.9 a vyzdvihnutie liekov skupín A02BC01-A02BC05, A03FA07, A03FA03 a A02BA03. Tieto lieky sme nezaráтали u chorých liečených R93DA04 a tabletami H02AB02-07.

V celej sledovanej dobe mala poisťovňa Dôvera celkom 1 384 011 poistencov. Chorých dlhodobu liečených na alergickú nádchu bolo 66 526 a na alergickú nádchu a aj astmu 15 113. Vytvorili sme kontrolné skupiny podľa veku a pohlavia.

### Výsledky

Chorí s AR bez astmy majú GERD v 12,0 % oproti 5,3 % u kontrol, liečbu ako GERD v 29,2 % oproti 17,6 %. Chorí s AR a astmou majú GERD v 20,8 % oproti kontrolám 6,8 %, liečbu ako GERD v 46,4 % oproti 23,8 %.

Chronickú sinusitídu u chorých s AR, bez astmy v 6,9 % oproti 2,4 % a s astmou v 8,9% oproti 2,3%.

Diagnózu J39,9 v 7,8 % oproti 1,0 %. Sledované choroby dýchacích ciest chorí s AR bez astmy v 20,1 % oproti 6,0 %, s astmou 23,0 % oproti 5,5 %.

### Závery

Výsledky populačnej štúdie preukázali vysoký výskyt rôznych chorôb u chorých s diagnózou AR oproti ľuďom

bez AR. Skúsenosti našich pracovísk dokazujú, že často sú to (niekedy nespoznané) komorbidity, ale aj chybná diagnóza AR u chorých s nealergickou sínusitídou

a hlavne laryngofaryngovým refluxom. Upozorňujeme na tieto diagnózy a potrebu spolupráce s ORL a gastroenterologom.

## Vrozené poruchy imunity

### PRIMÁRNÍ ATOPICKÁ ONEMOCNĚNÍ

Šedivá A.

Ústav imunologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

Cílem přednášky je přinést informace o nové kategorii *vrozených poruch imunity*, která se nazývá *primární atopická onemocnění* a potencionálně rozšiřuje klasifikaci vrozených poruch imunity.

Alergické stavy všeobecně bývají považovány za komplexní onemocnění s genetickou predispozicí, která není nijak blíže specifikována a je považována za polygenní genetickou vnímavost rozvoji alergického onemocnění.

V poslední době ale narůstají poznatky o přesně definovaných alergických onemocněních na podkladě monogenní dědičnosti. Přímo prototypem takových onemocnění je Hyper IgE syndrom, první monogenní imunitní dysregulace s dominancí alergických příznaků. I když byl syndrom popsán na základě klinických příznaků již v 70. letech 20. století, jeho genová podstata byla objevena v roce 2007 a překvapivě v té době spojena s mutacemi v signální molekule STAT3. Od té doby došlo k odhalení mutací v řadě dalších genů a popisu dalších jednotek, které v současné době formují výše zmíněnou kategorii.

I tato kategorie se dále dělí do skupin onemocnění řazených podle jejich podstaty. První podskupina se rovnou odvíjí od molekuly STAT3 a zahrnuje další poruchy ve **STAT signální dráze** či s ní související, jako je STAT5, STAT6 a další, ústící hlavně v poruchu cytokinové signalizace. Další skupiny jsou charakterizovány **poruchou tolerance**, např. FOXP3 mutace vedoucí k onemocnění IPEX, **imunitními dysregulacemi** spojenými s poruchou TCR signalizace a poruchami cytoskeletonu, kam patří například Wiskottův–Aldrichův syndrom, **metaboličnými poruchami** s projevy atopie, jako jsou mutace v PGM3 (fosfoglucomutase 3); dále se sem řadí hraniční stavy, jako jsou **poruchy kožní bariéry** spojené s imunitní dysregulací, například Nethertonův syndrom s mutacemi ve SPINK5 či **poruchy signalizace žírných buněk**, jako je mastocytóza na podkladě mutací v KIT (tyrozin proteinkináza KIT). Další skupiny onemocnění s překrývajícími se alergickými projevy tvoří součást dysregulačních nebo autinflatorních syndromů.

Uvedená přehledná přednáška přináší úvod do problematiky, s poukázáním na již diagnostikované pacienty, kteří se skrývají v široké alergické populaci.

### MONOGENNĚ PODMÍNĚNÉ VARIANTY BĚŽNÉHO VARIABILNÍHO IMUNODEFICITU (CVID)

Litzman J.

Ústav klinické imunologie a alergologie LF MU a FN u sv. Anny v Brně

Běžný variabilní imunodeficit (CVID) je přes svou relativní častotou stále ne zcela jednoznačně definovaným onemocněním. Diagnóza je stanovena splněním diagnostických kritérií, kterých je ale používáno několik.

Již brzy po popisu této choroby bylo zřejmé, že ačkoliv onemocnění nemá klasickou mendeliánskou dědičnost, hrají genetické vlivy významnou roli. Byl to nejen výskyt více případů CVID u pokrevních příbuzných, ale především velmi častý výskyt jiných imunopatologických stavů, zejména selektivního deficitu IgA u příbuzných. Vazba uvedených chorob vedla ke hledání společných genů zodpovědných za obě choroby. Zpočátku se jednalo o prokázané vazby na HLA antigeny, případně další nejasně popsané geny v oblasti HLA genů (IGAD1).

Prvním skutečně dobře definovaným genem, jehož mutace způsobuje CVID, se stal ICOS (2003). Od té doby se počet genů, jejichž mutace mohou způsobit onemocnění, které může odpovídat diagnóze CVID, stále rozšiřuje. Jsou uváděny desítky genů zodpovědných za monogenní formu CVID.

V současné době se uvádí, že monogenní příčinu je možné nalézt u 10–30 % pacientů s CVID. Geny asociované s CVID lze třídit z různých hledisek. Nejdůležitější skupinou jsou geny, které jsou přímo s CVID asociovány. Přesto i u nich můžeme nalézt velkou variabilitu klinických příznaků, včetně asymptomatického nosičství u pokrevních příbuzných klinicky jasně postižených osob.

Nejznámějším příkladem je CTLA-4. Geny zde zařazené se nejčastěji podílejí na vývoji B-lymfocytů a interakci T-B lymfocytů. Další skupinou jsou geny, které ovlivňují spíše závažnost manifestace CVID: nejznámějším je gen TNFRSF13B (TACI). Poslední skupinou genů jsou ty, které mohou vést k fenokopii CVID, běžně ale způsobují jiné vrozené poruchy imunity (BTK).

Genetické testování se v současné době při diagnostice CVID nepovažuje za nutné. Má ale velký význam při podezřeních, kdy specifická léčba může přímo ovlivnit zdravotní stav pacienta (mutace LRBA, CTLA4, PIK3CD).

Lze předpokládat pokračování v objevování nových genů asociovaných s CVID, je ale otázkou, jaké ze zastoupení pacientů, u nichž nebude možno monogenní příčinu prokázat.



**KAM SE PODĚLY B-LYMFOCYTY?**Záveská D.<sup>1,2</sup>, Kožená K.<sup>3</sup>, Grombiříková H.<sup>3</sup>, Šedivá A.<sup>4</sup><sup>1</sup> *Dětská klinika FN Hradec Králové*<sup>2</sup> *ÚKIA FN Hradec Králové*<sup>3</sup> *Genetická laboratoř, Centrum kardiovaskulární a transplantační chirurgie, Brno*<sup>4</sup> *Ústav imunologie FN Motol*

Běžný variabilní imunodeficit (CVID) je pojem zastřešující heterogenní skupinu onemocnění, vrozených poruch imunity, s převahou poruchy tvorby protilátek. U většiny CVID zatím neznáme jejich molekulární podstatu, ta je známa pouze u 20–30 % pacientů v různých kohortách.

Klinické projevy zahrnují převážně bakteriální infekce, autoimunitně/dysregulační komplikace, popř. nádory. Manifestovat se mohou kdykoli v průběhu života, asi u čtvrtiny pacientů v dětském věku. Tito nemocní mívají závažnější průběh onemocnění. Infekční komplikace se redukuje zavedením substituční léčby imunoglobuliny, neinfekční komplikace imunopresivní léčbou, ideálně cílenou podle genetické podstaty onemocnění.

Kazuistika prezentuje nyní 9letou pacientku vyšetřovanou pro recidivující mezotitidy, sinusitidy a bronchitidy, bronchopneumonie. Laboratorně byly zjištěny snížené hladiny imunoglobulinů ve třídách IgG a IgM a současně nízké hladiny specifických protilátek, v buněčné imunitě pak absence B-lymfocytů (při standardní detekci pomocí molekuly CD19). Genetickým vyšetřením NGS byla detekována heterozygotní velká delece genů CD 19 a LAT. Na druhé alele genu CD 19 byla zjištěna patogenní frameshiftová varianta c.1118dup; p.(Thr374Hisfs\*37). Obě varianty vedou k nulové expresi genu CD19 a způsobují hypogamaglobulinemii B-lymfocytů. B-lymfocyty jsou však v krvi přítomny a lze je detekovat například pomocí CD 20.

U pacientky došlo po zahájení substituční terapie imunoglobuliny k významnému snížení nemocnosti.

**FENOKÓPIE, VRODENÉ PORUCHY IMUNITY A PRIMÁRNĚ IMUNODEFICIENCIE**

Jeseňák M.

*Ústav klinické imunologie a lékařské genetiky, Jesseniova lékařská fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Univerzitná nemocnica Martin*

**Vrodené poruchy imunity (VPI)** predstavujú funkčnú a/alebo štrukturálnu chybu v jednej alebo viacerých častiach imunitného systému, pričom jej dôsledkom môže byť zníženie, absencia alebo dysregulovaná jedna alebo viaceré časti imunitného systému; daná porucha môže byť mierna (dokonca aj klinicky nemá/asymptomatická), alebo naopak závažná a vysokoriziková.

V súčasnosti do skupiny vrozených porúch imunity patrí takmer 500 rôznych genetických porúch, avšak u viacerých z nich (nezriedka klinicky častých a významných) nebola do dnešného dňa spoľahlivo objasnená genetická podstata. Práve z toho hľadiska časť autorov dnes pre

tieto poruchy zvažuje použitie označenia **primárne imunodeficiencie**, ktoré môže vyjadrovať práve fakt, že napriek evidentnej vrodenej povahe tá nebola do dnešného dňa odhalená. Medzi takéto ochorenia patrí napr. bežná variabilná imunodeficiencia (pozn.: pri náleze genetickej príčiny sa dané ochorenie označuje ako CVID-like ochorenie alebo monogénová forma CVID-u), tranzitná hypogamaglobulinémia detského veku, selektívna deficiencia IgA, idiopatická CD4 lymfopénia či Goodov syndróm.

Do istej miery k nim možno pridať aj nedávno vytvorenú novú 10. kategóriu v klasifikácii – **fenokópie vrodenných porúch imunity**. Ide o novú špecifickú kategóriu VPI s raritným výskytom; boli opísané a dobre definované v posledných dvoch desaťročiach a ich klinický a laboratórny obraz je podobný, ev. identický ako pri klasických VPI. Tieto poruchy však nie sú dedičné mendelistickým spôsobom a vznikajú na podklade získanej príčiny – buď vo forme somatického mozaicizmu (tieto sú považované za variantu klasických VPI – napr. autoimunitný lymfoproliferatívny syndróm alebo kryopyrinopatie asociované so somatickým mozaicizmom či nedávno opísaný VEXAS syndróm), alebo na základe prítomných autoprotilátok (napr. proti cytokínom – IFN- $\gamma$ , GM-CSF, IL-6 či iným molekulám – napr. C1-INH).

Liečba je podobná ako pri klasických formách VPI, ktoré daná fenokópia „napodobňuje“ s ev. odstránením vyvolávajúcej príčiny – napr. pri získanom angioedéme. Akokoľvek, diagnostika týchto stavov a ochorení je veľmi komplikovaná a vyšetrenia sú dostupné len na ojedinelých pracoviskách, ktoré sa danou poruchou zaoberajú.

**SCREENING SCID (ATHYMIA, ATYPICKÝ SYNDROM DIGEORGE)**Klopperk A.<sup>1</sup>, Obermannová B.<sup>2</sup>, Bloomfield M.<sup>1</sup>, Kreins A.<sup>3,4</sup>, Golwala Z.<sup>3,4</sup>, Worth A.<sup>4</sup>, Davies G.<sup>3,4</sup>, Froňková E.<sup>5</sup>, Bily T.<sup>6</sup>, Freiberger T.<sup>6</sup>, Šedivá A.<sup>1</sup><sup>1</sup> *Ústav imunologie 2. LF UK a FN Motol, Praha, Česká republika*<sup>2</sup> *Pediatrická klinika, Fakultní nemocnice Brno, Česká republika*<sup>3</sup> *Infection, Immunity and Inflammation Research & Teaching Department, Great Ormond Street Institute of Child Health, University College London; United Kingdom*<sup>4</sup> *Department of Immunology and Gene Therapy, Great Ormond Street Hospital for Children NHS Foundation Trust; London, United Kingdom*<sup>5</sup> *Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha, Česká republika*<sup>6</sup> *Centrum kardiovaskulární a transplantační chirurgie Brno, Česká republika*

V této přednášce se budu věnovat výsledkům novorozeňského screeningu SCID se zaměřením na těžké vrozené poruchy vývoje T-lymfocytů, zejména pak na demonstrační kazuistice pacienta s vrozenou athymií na podkladě atypického kompletního DiGeorgeova syndromu.

Přednáška bude obsahovat teoretické minimum vrozených poruch vývoje thymu, klinickou a laboratorní

manifestaci pacienta, terapeutický přístup, popis procesu transplantace thymu a následně časovou linii post-transplantačního vývoje. Kazuistiku zasadím do kontextu ostatních pacientů s těžkou vrozenou poruchou funkce thymu. Diskutovat budeme post-transplantační komplikace a možnosti jejich léčby.

### SCREENING SCID (T-LYMFOPENIE, PORUCHY IMUNITY NEZACHYCENÉ SCREENINGEM)

Hlaváčková E.

*Ústav klinické imunologie a alergologie, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně a LF Masarykovy univerzity, Brno*

#### Cíl

Novorozenecký laboratorní screening těžké kombinované imunodeficiency (NBS SCID) vede k záchytu SCID diagnóz a odhaluje pacienty s T- a B-lymfocytopenií v novorozeneckém věku, kteří nenaplní SCID kritéria; NBS SCID je založen na stanovení cirkulárních episomálních DNA fragmentů vznikajících v průběhu přeskupování genů pro receptory T- a B-lymfocytů, T-receptorových excisních kroužků (TREC) a kappa rekombinačních excisních kroužků (KREC).

#### Metodika

Počet kopií TREC/KREC v suché kapce krve byl stanoven metodou polymerázové řetězové reakce a normalizován dle počtu kopií referenčního genu *RPP30* na počet buněk. Za pozitivní byl určen nález méně než 100 kopií TREC/KREC na 100 000 buněk. Pozitivní pacienti byli indikováni k stanovení imunofenotypových znaků T-, B- a NK-lymfocytů průtokovou cytometrií. U pacientů bez imunofenotypových známek SCID s nízkými TREC se vstupně cytogeneticky vylučovala metodou multiplex ligation-dependent probe amplification – MLPA nebo fluorescenční *in situ* hybridizací FISH diagnóza DiGeorge syndromu (DGS). Při vyloučení DGS se vyšetření rozšířilo o molekulárně genetické vyšetření vrozených poruch imunity pomocí sekvenování nové generace. Vylučovány byly zároveň sekundární příčiny poklesu počtu neonatálních TREC/KREC kopií.

#### Výsledky

Pacienti s neonatálními nízkými TREC s vyloučenou SCID diagnózou mohou trpět kombinovanou vrozenou poruchou imunity – deficiencí *DOCK8*, Nijmegen break-age syndromem, ataxií teleangiectazií, cartilage hair hypoplazií, Wiscottovým–Aldrichovým syndromem; mikrodelečními syndromy – DiGeorgovým syndromem; RASopatií – syndromem Noonanové a chromozomálními aberacemi nad rámec vrozených poruch imunity: trisomií 2, trisomií 18.

Izolovaně zachycené nízké počty KREC s prokázanou B lymfocytopenií jsou indikovány k vyloučení kongenitálních hypo/agamaglobulinemií.

K sekundárně sníženým TREC/KREC vede imunopresivní terapie matky, neonatální leukemie, kardiální a gastrointestinální vrozené vady, chylothorax novorozence a maternální HIV infekce.

Přechodně snížené TREC jsou u dětí předčasně narozených.

#### Závěr

Novorozenecký laboratorní screening SCID vede k záchytu pacientů s těžkou kombinovanou imunodeficiencí. Uspadňuje diagnózu části pacientů s kombinovanou a protilátkovou imunodeficiencí.

NBS SCID obecně neodhaluje pacienty s imunodysregulačními a autoinflamatorními syndromy, pacienty s poruchou komplementu, fagocytózy, nespecifické imunity a fenokopie PID.

Pacienti zachycení screeningem vyžadují vždy došetření a sledování.

### SCREENING KREC – VÝHODY A ÚSKALIA

Čižnár P., Hulínková I., Nabová B.

*Detská klinika LFUK a NÚDCH Bratislava*

V poslednom desaťročí začala zavádzať novorozenecký skrining ťažkej kombinovanej imunodeficiency postupne väčšina štátov sveta, využívajúc parameter TREC. Novšie sa pridávajú štáty, vrátane Slovenska, ktoré zaviedlo pravidelný skrining od 1. 1. 2024, využívajú okrem parametru TREC aj parameter KREC.

Tento test identifikuje B lymfopéniu pomocou analýzy excíznych krúžkov vznikajúcich vystrihnutím kapareťazca v priebehu procesu rekombinácie, rovnakou metódou kvantitatívnej PCR zo suchej kvapky krvi ako TREC. V priebehu obdobia 6 mesiacov pilotnej štúdie a 6 mesiacov štandardného skriningu sa analyzovalo viac ako 20 000 vzoriek. Pozitívne testované deti boli následne predvolané na vyšetrenia do imunologických centier za účelom konfirmačných testov pomocou prietokovej cytometrie a meraním koncentrácie imunoglobulínov.

Autor hodnotí výhody a potenciálne nevýhody pridania KREC testu ku skriningovej analýze na základe publikovaných prác a vlastných skúseností.

Test KREC potvrdzuje vysokú senzitivitu, avšak detekciou sekundárnych a často tranzitórnych porúch je jeho špecificita nízka. Navyše existujú argumenty, ktoré poukazujú na dedičné agamaglobulinemie (napr. XLA) ako choroby s nízkou mortalitou. Z tohto pohľadu test znamená zvýšené náklady na testovanie a vystavenie dieťaťa a rodičov zbytočnému stresu. Ochota znášať takúto záťaž je podmienená spoločenskými a kultúrnymi zvyklosťami, preto nie všetky krajiny uvedený test zaviedli. Aktuálne ale pribúdajú medicínske dôkazy o význame testovania KREC ako o teste deficitu B-lymfocytov, teda nielen ako o deficite protilátok. Tieto bunky plnia ďalšie významné funkcie, ktoré sa nedajú nahradiť jednoduchou substitúciou imunoglobulínmi.

Ukazuje sa, že dedičná B-lymfopénia nie je zďaleka benigné ochorenie a včasná identifikácia môže priniesť benefit v zmysle včasnej diagnostiky. Súčasne skrining KREC ukazuje na potrebu prehodnotenia terapeutických postupov, vrátane využitia transplantácie krvotvorných buniek u vybraných pacientov.

## Sesterská sekce

### EXPOZICE V BĚŽNÉ ALERGOLOGICKÉ AMBULANCI

Pospíšilová T.<sup>1</sup>, Bělohlávková S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> IMMUNO-FLOW, s. r. o., Praha

<sup>2</sup> AlergoCentrum Dr. Bělohlávkové, s. r. o., Praha

Potravinové expoziční testy, tedy podání postupně stoupajících dávek potravin pod dohledem a sledování výskytu příznaků v souvislosti s její konzumací, by měly být nedílnou součástí diagnostického algoritmu potravinové alergie.

Dostupnost tohoto vyšetření není v některých regionech ideální. Pracoviště Immuno-flow, s. r. o., se zabývá diagnostikou potravinové alergie více než 15 let a provádění expozičních testů patří mezi běžně používané metody.

Expoziční testy využíváme zejména u kojenců a malých dětí k potvrzení nebo k vyloučení diagnózy potravinové alergie, případně k ověření již navozené tolerance. U dětí s perzistující alergií na bílkoviny kravského mléka nebo vejce provádíme expoziční testy s tzv. tepelně upraveným mlékem nebo vejcem (pečení za určitých podmínek), a pokud takto upravené potraviny tolerují, zavádíme je do běžného jídelníčku. U starších pacientů mohou expoziční testy sloužit k odhadu tzv. individuální prahové dávky, tedy množství, které spouští alergickou reakci. Tato konkrétní informace je pak jedním z faktorů ovlivňujících přísnost doporučované diety.

K provedení expozičních testů s jednotlivými potravinami využíváme protokoly vycházející z literárních údajů i našich zkušeností. Obvykle se jedná o expoziční testy otevřené (zejména mléko u menších dětí, vejce, ořechy), ale v indikovaných případech i o testy dvojité zaslepené s potravinou maskovanou za pomoci placeba.

Expoziční testy provádíme na běžné alergologické ambulanci v rámci rutinního provozu. Ambulance splňuje doporučené personální i přístrojové vybavení.

Expoziční testy provádíme – je-li pro to důvod – i u pacientů, kde riziko reakce na danou potravinu je reálně očekávatelné. Respektujeme však kontraindikace, zejména anamnézu anafylaxe na danou potravinu.

Jakkoli je nutné mít k realizaci potravinových expozičních testů značný respekt, v průběhu našich téměř 15letých zkušeností jsme nezaznamenali žádnou reakci vyžadující asistenci lékařů intenzivistů či observaci na lůžku. K provedení expozičních testů v lůžkovém zařízení odesíláme pacienty zcela výjimečně (v řádu jednotek za několik let); jedná se zejména o pacienty s anamnézou tzv. FPIES (Food Protein – Induced Enterocolitis Syndrome), tj. potravinovým antigenem indukovanou enterokolitidou.

Součástí sdělení je podrobná analýza více než 350 expozičních testů provedených u jednoho lékaře.

### SESTRA A LIEKOVÁ ALERGIA

Pavlinská D.<sup>1</sup>, Smiešková A.<sup>2</sup>, Valkárová G.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Analyticko-diagnostické laboratórium a ambulancie, s. r. o., Prešov

<sup>2</sup> AdLa, s. r. o., Prešov

V predloženej prezentačnej práci definujeme tému liekovej alergie z pohľadu imunoalergologickej sestry na ambulancii. Práca sa zameriava na liekovú alergiu, jej delenie, na nežiadúce prejavy liekov, definuje typy testovania pri liekovej alergii, testovanie pacientov, definuje úlohy sestry, spoluprácu s pacientom, lekárom.

Cieľom práce je poukázať na postavenie a dôležitosť sestry u pacientov s liekovou alergiou na imunoalergologickej ambulancii.

**Kľúčové slová:** lieky, reakcia, testovanie, sledovanie

### ROLE SESTRY V DIAGNOSTICE ALERGIE NA ATB

Kačorová J., Kozelská R., Byrtusová M.

Oddělení alergologie a klinické imunologie, FN Ostrava

Alergie na penicilin a další betalaktamová antibiotika je nejčastěji hlášenou alergií na léky. Většina pacientů si přináší anamnestický údaj o alergii na antibiotika již z dětství. Často se jedná pouze o podezření, nicméně i tento údaj je ve zdravotnické dokumentaci již veden jako alergie. Nemalá část pacientů si sama stanoví diagnózu alergie na léky na základě vyrážky či žaludečních potíží, které dá do souvislosti s užívaným lékem. Na podkladě alergologického vyšetření má potvrzenou alergii na antibiotika jen velmi malé procento pacientů.

Na Oddělení alergologie a klinické imunologie ve Fakultní nemocnici Ostrava provádíme v rámci diagnostiky lékových alergií i testování antibiotik. Samotný diagnostický test realizují certifikované sestry s dostatečnými zkušenostmi v rozpoznání časných a pozdních lékových reakcí. Testují se pouze pacienti, u kterých neprobíhá akutní horečnaté onemocnění. Netestujeme těhotné a kojící pacientky.

Testování probíhá ve třech krocích: 1. **kožní prick testy**, 2. **intradermální testy**, 3. **expoziční testy**. Dodržuje se standard pro testování antibiotik vypracovaný dle doporučení Pracovní skupiny pro lékové alergie ČSAKI. Lékové alergie nevyšetřujeme na našem oddělení pomocí patch testů.

**Prick testy** se provádí látkou s přesně danou koncentrací antibiotika, které nařadí nemocniční lékárna. Postup je stejný jako u běžných prick testů v alergologii. Vyžaduje znalost sestry o správné technice a odečtení prick testů. Lze provést více testů najednou u téhož pacienta. Počet testů určuje vždy lékař na základě diagnostické potřeby a bezpečnosti pacienta.

**Intradermální testy** se provádějí výlučně přípravkem k parenterálnímu použití, ředěným za sterilních podmínek nemocniční lékárnou. Na vnitřní straně předloktí se aplikuje 0,2–0,3 ml testované látky pomocí inzulinové stříkačky intradermálně tak, aby se vytvořil pupen velikosti 3 mm. Okraje pupenu se označí hned po jeho vytvoření. U odečtu měříme zvětšení pupenu. U intradermálních testů je vyšší riziko celkové reakce než u prick testů. Při realizaci více testů u téhož pacienta je nutné zohlednit celkovou kumulativní dávku antibiotika, kterou při intradermálním aplikaci podáme.

Nejprůkaznějším vyšetřením lékové alergie je **lékový provokační test**. U antibiotik probíhá téměř vždy perorální formou podání již konkrétního antibiotika. Postupuje se od minimální dávky v desetinách miligramů až po celkovou kumulativní dávku léku. Test se zahajuje na ambulanci alergologie po úvodním vyšetření lékařem a kontrolní spirometrii. Pacient je po celou dobu pod dohledem sestry, má zajištěný periferní žilní vstup a jsou dostupné pomůcky pro kardiopulmonální resuscitaci. V rámci nemocnice musí být možnost hospitalizace pacienta. Vzhledem k tomu, že naše oddělení již nedisponuje lůžkovou částí, pokračuje pacient v užívání antibiotika doma, po dobu předepsanou lékařem, obvykle 3–5 dnů. Pacient je poučen o přesném dávkování léku a dále o postupu při výskytu časně nebo pozdní reakce na antibiotika. Je vybaven léky první pomoci a informován, kam se má neprodleně dostavit v případě příznaků alergie. O možných příznacích alergie je podrobně poučen.

Neověřený anamnestický údaj o alergii na antibiotika představuje zátěž jak pro pacienta, tak pro zdravotnický systém. U pacienta vede vyloučení možnosti léčby penicilinem či dalšími betalaktamovými antibiotiky k užívání širokospektrálních antibiotik, které často nejsou dostatečně účinné, vedou k rezistenci a z ekonomického hlediska jsou ve většině případů dražší. Nejčastějším důvodem k odeslání na testování alergie na antibiotika u našich pacientů je právě nedostatečná účinnost širokospektrálních antibiotik.

## MANAŽMENT VEDĚAJŠÍCH ÚČINKOV SLIT

Valkárová G.<sup>1</sup>, Hadbová S.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ambulancia ADLA, s. r. o., Prešov

<sup>2</sup> Ambulancia KIA, Komárno

Cieľom vyzvanej prednášky je definovať sublingválnu imunoterapiu (SLIT), upozorniť na očakávané vedľajšie účinky SLIT, ich delenie na veľmi časté, časté a menej časté. Informovať o správnom liečebnom postupe a starostlivosti pri ich prejavocho, ktoré môžu nastať počas užívania SLIT.

Záverom je zdôraznená nutnosť edukácie a informovanosti pacienta – rodiča pacienta, ako takéto nežiadúce udalosti pri užívaní SLIT zvládať a zároveň využiť tento účinný spôsob liečby alergie našich pacientov.

**KLúčové slová:** sublingválna imunoterapia, vedľajšie účinky, nežiadúca udalosť, liečebný postup, kazuistika, edukácia.

## DEFICIT ALFA-1 ANTITRYPSINU

Benešová H., Marková H.

*Alergologie a imunologie, s. r. o., Šumperk*

Deficit Alfa-1 antitrypsinu je časté geneticky podmínené onemocnění, které může postihnout různé orgány. U dospělých je to nejčastěji postižení plic, u dětí jater.

A1AT je protein akutní fáze, jehož normální hladina je dle metody v rozmezí 1–2 g/litr. Je produkován játry a transportován krevním řečištěm do plic. Jeho hlavní úlohou je ochrana plic proti neutrofilní elastáze leukocytů. Pokud A1AT chybí, plíce jsou poškozovány, vzniká emfyzém, projevující se ponámahovou dušností, kašlem a expektorací.

Klinický vývoj záleží nejen na genotypu. Zejména kouření a vlivy zevního prostředí se podílejí na rozvoji onemocnění. Pokud se defektní A1AT hromadí v játrech, vzniká jaterní postižení (hepatitida, fibróza, cirhóza); projevuje se únavou, svěděním, žloutenkou, někdy se manifestuje už u novorozenců. Poškození jater nekoreluje ani s postižením plic, ani s hladinou A1AT a je kontraindikací k zavedení augmentační léčby.

Vyšetřením v první linii je odběr krve na hladinu A1AT (cca 200 Kč). Vyšetření je indikováno u CHOPN či emfyzému nekuřáků mladších 65 let, emfyzému v dolních plicních lalocích, bronchiektázií nezjištěné etiologie, u jaterního onemocnění s nejasnou příčinou a pacientů s pozitivní rodinnou anamnézou.

V případech hodnoty pod 0,5 g/litr je vhodné pacienta odeslat do centra k dalšímu přešetření. Genetické vyšetření je vhodné i v rodině pacienta. Léčba CHOPN na podkladě deficitu A1AT začíná režimovými opatřeními, podáváním bronchodilatancí, ev. augmentační léčbou. Tato léčba spočívá v intravenózní aplikaci lidského A1AT, většinou v týdenních intervalech. Dávka je stanovena v centru, aplikace však mohou být prováděny i mimo ně.

Deficit A1AT je zatím nevléčitelný, ale včasnou diagnostikou a léčbou lze onemocnění zpomalit, zlepšit kvalitu života a prodloužit délku dožití nemocného.

## JAK ZOOTECHNIK K DEFICITU ALFA1-ANTITRYPSINU PŘIŠEL

Marková H., Benešová H.

*Alergologie a imunologie, s. r. o., Šumperk*

Pacienta, 52letého zootechnika, k nám odeslali v roce 1996 pro podezření na alergickou rýmu, vyvolanou alergenem z pracovního prostředí. V té době byl příležitostně léčen na plicní ambulanci pro recidivující bronchitidy a později počínající CHOPN. Protože byl kuřák (asi 3 cigarety denně) a alergie nebyla prokázána, byla považována diagnóza za jasnou.

Absolvoval u nás imunomodulační léčbu kvůli opakovaným infekcím, v plicní ambulanci byly symptomaticky léčeny exacerbace bronchitidy. Postupně přešel do naší péče. Když jsme zjistili, že dva pacientovi bratři zemřeli na CHOPN s emfyzémem, provedli jsme

vyšetření hladiny alfa1-antitrypsinu (dále A1AT). Byla zachycena velmi nízká hladina A1AT, která kolísala mezi 0,1 a 0,16 g/l. Samotná diagnóza však pro pacienta přínos neznamenala a stav se zhoršoval i přes dostupnou léčbu.

Od roku 2006 se podařilo pacienta zařadit do péče nově vzniklého centra v Thomayerově nemocnici a od roku 2007 je aplikována augmentační léčba, 10 g léku *i. v.* každé dva týdny. Zpočátku na aplikaci A1AT dojížděl jen do Prahy, po dohodě aplikace probíhala střídavě u nás a v centru, nyní jezdí do centra jedenkrát za tři měsíce.

Aplikace snáší velmi dobře. Zdravotní stav se od proděláním nemoci COVID-19 v listopadu 2021 zhoršil: pacient prodělal EVR s aplikací 5 chlopní do pravého dolního laloku a je na domácí oxygenoterapii. Ve svých 80 letech je schopen běžné aktivity, na rozdíl od bratrů, kteří zemřeli kolem padesátého roku věku, pravděpodobně na následky této poruchy.

### ŘASINKY ANEB BEZ ČEHO SE PLÍCE NEOBEJDOU

Fuchsová J.

*Dětské oddělení FN Bulovka, Praha*

Primární ciliární dyskineza (PCD) je vzácné onemocnění řasinek, které se projevuje komplikacemi v důsledku nedostatečné samočisticí schopnosti dýchacích cest, a to již od raného dětského věku.

Řasinkový aparát respiračního epitelu je vedle kašlacího reflexu nejdůležitější součástí odstraňování hlenu z horních i dolních dýchacích cest (DC). Klinický obraz bývá poměrně typický, v popředí jsou opakované bakteriální záněty DC, jako chronické rýmy, otitidy, sinusitidy, bronchitidy, bronchopneumonie, pneumonie, později i bronchiektázie.

Léčba je celoživotní, musí být rychlá a razantní, což předpokládá včasnou diagnózu. Uvedená kazuistika prezentuje 7letého pacienta s obtížemi a příznaky téměř od narození. Současně upozorňuje na důležitost včasné diagnózy tohoto onemocnění. Pacient s podezřením na onemocnění PCD by měl být co nejdříve vyšetřen na specializovaném pracovišti.

### VÍTKŮV PŘÍBĚH – OD EXACERBACE ASTMATU PO NEUROINFEKCI

Paukertová M., Paukert J.

*JP ALPED MEDICA, s. r. o.*

Chlapec Vítek s nově diagnostikovaným astmatem přichází týden po 1. vyšetření na urgentní kontrolu pro zhoršení stavu. Je proveden rentgen plic s nálezem bronchopneumonie. Při odchodu z ordinace nastává prekolapsový stav s poklesem saturace a nutností oxygenoterapie, proto je RZS převezen k hospitalizaci. Zde je mu

diagnostikován COVID-19, dále je zjištěn rozvoj otitis media a pro meningismus jsou provedena další vyšetření s diagnózou neurogenní meningitida. Během jednoho měsíce u chlapce proběhlo 1. alergologické vyšetření, opakovaná hospitalizace, 3 kontroly v ambulanci.

U pacientů s astmatem je třeba pomýšlet i na další možné příčiny zhoršení jejich zdravotního stavu, či na další diagnózy či komorbidity.

Je otázkou, zda u Vítky šlo vstupně o exacerbaci astmatu, příznaky onemocnění COVID-19, či postupný rozvoj bronchopneumonie, či meningitidy. Co je příčina, co důsledek či komplikace, nebo komorbidity? Neuroinfekce jako komplikace covidového onemocnění je možná, doposud zřejmě klinicky nezaznamenaná.

### SPIROMETRIE – FRESH NEWS Z DELFSKÉ VĚŠTÍRNÝ

Brožová L.

*Alergologie a imunologie, s. r. o., Šumperk*

Jedním z důležitých diagnostických nástrojů v našich ambulancích je vyšetření funkce plic. To klade na sestru nároky při přípravě a obsluze techniky, ale také při seznamování pacienta s vyšetřením i při samotném provádění měření.

Za těch více než 30 let, co tato vyšetření provádíme, jsme získali mnohé zkušenosti. V našem portfoliu se nacházejí kromě základní spirometrie také bronchomotorické testy. Vyšetření doplňujeme měřením ústních tlaků, orientačním hodnocením mechaniky dýchání a v poslední době impulzní oscilometrií.

Vysvětlení „CO? PROČ? JAK?“ by mělo být pro každého pacienta „šité na míru“, abychom si ho získali pro optimální spolupráci. Nejsme-li schopni pacienta dostatečně zapojit, anebo naopak ho odradíme nebo vystresujeme příliš agresivním či necitlivým přístupem, může to mít negativní vliv na kvalitu vyšetření.

Základem je dobrá znalost principů vyšetření a doporučených postupů. Vypracování vlastních přesných standardů pro každou vyšetřovací metodu, jejich důsledné dodržování a kontrola by měly být samozřejmostí na každém pracovišti. Tyto dokumenty nemohou být samoučelným mrtvým papírem, je nutno se k nim opakovaně vracet a postupy revidovat a inovovat. Je také nutno dbát na pravidelné doškolení každého člena týmu. Dobrá sestra by měla být odolná vůči stresu a nepodlehout tlaku na zvyšování rychlosti na úkor kvality.

Úkolem sestry není jen vyšetření precizně provést a odevzdat naměřené hodnoty, ale velmi důležitý je její komentář hodnotící průběh vyšetření a spolupráci pacienta. Takový výsledek pak může být pilířem kvalitní diagnózy a sledování vývoje nemoci. Může vést k indikaci dalších vyšetření či k přehodnocení volby inhalačního systému. I z tohoto pohledu je role sestry nezastupitelná. A dobrý lékař dbá na další vzdělávání i té nejlepší sestry.

## Novinky v nádorové imunologii a imunoterapii

### CHEMOTERAPIE PODPORUJE VZNIK TERCIÁRNÍCH LYMFODINNÍCH STRUKTUR, KTERÉ KORELUJÍ S TCF1+CD8+ T-BUŇKAMI CITLIVÝMI NA ICI U METASTATICKÉHO OVARIÁLNÍHO KARCINOMU

Láníčková T.<sup>1,2</sup>, Hensler M.<sup>1</sup>, Kašíková L.<sup>1</sup>, Vošahlíková Š.<sup>1</sup>, Angelidou A.<sup>1</sup>, Pasulka J.<sup>1</sup>, Griebler H.<sup>1</sup>, Droženová J.<sup>3</sup>, Mojžišová K.<sup>1</sup>, Vankerckhoven A.<sup>1</sup>, Laco J.<sup>4</sup>, Ryška A.<sup>4</sup>, Dunder P.<sup>5</sup>, Kocián R.<sup>6</sup>, Cibula D.<sup>6</sup>, Brtnický T.<sup>7</sup>, Škapa P.<sup>8</sup>, Jacob F.<sup>9</sup>, Kovář M.<sup>10</sup>, Práznovec I.<sup>11</sup>, McNeish Iain A.<sup>12</sup>, Halaška Michal J.<sup>13</sup>, Rob L.<sup>13</sup>, Coosemans An<sup>14</sup>, Orsulic S.<sup>15,16</sup>, Galluzzi L.<sup>17,18,19</sup>, Špišek R.<sup>1,2</sup>, Fučíková J.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Sotio Biotech, Praha, ČR

<sup>2</sup> Ústav imunologie, 2. LF UK a Fakultní nemocnice v Motole, Praha, ČR

<sup>3</sup> Ústav patologie, 3. LF UK a Fakultní nemocnice Královské Vinohrady, Praha, ČR

<sup>4</sup> Fingerlandův ústav patologie, LF v Hradci Králové (UK) a Fakultní nemocnice Hradec Králové, ČR

<sup>5</sup> Ústav patologie, 1. LF UK a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, ČR

<sup>6</sup> Onkogynekologické centrum Gynekologicko-porodnické kliniky 1. LF UK a Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, ČR

<sup>7</sup> Gynekologicko-porodnická klinika 1. LF UK a Fakultní nemocnice Bulovka, Praha, ČR

<sup>8</sup> Ústav patologie a molekulární medicíny, 2. LF UK a Fakultní nemocnice Motol, Praha, ČR

<sup>9</sup> Ovarian Cancer Research, Department of Biomedicine, University Hospital Basel and University of Basel, Switzerland

<sup>10</sup> Laboratoř nádorové imunologie, Mikrobiologický ústav AV ČR, Praha

<sup>11</sup> Porodnická a gynekologická klinika LF v Hradci Králové (UK) a Fakultní nemocnice Hradec Králové, ČR

<sup>12</sup> Ovarian Cancer Action Research Centre, Department of Surgery and Cancer, Imperial College London, UK

<sup>13</sup> III. chirurgická klinika 1. LF UK a Fakultní nemocnice Motol, Praha, ČR

<sup>14</sup> Laboratory of Tumor Immunology and Immunotherapy, Department of Oncology, Leuven Cancer Institute, KU Leuven, Belgium

<sup>15</sup> Department of Obstetrics and Gynecology, David Geffen School of Medicine, University of California, Los Angeles, USA

<sup>16</sup> Department of Veterans Affairs, Greater Los Angeles Healthcare System, Los Angeles, CA, USA

<sup>17</sup> Department of Radiation Oncology, Weill Cornell Medical College, New York, USA

<sup>18</sup> Sandra and Edward Meyer Cancer Center, New York, USA

<sup>19</sup> Caryl and Israel Englander Institute for Precision Medicine, New York, USA

Ovariální karcinom (OC) je ve vyspělých zemích druhým nejčastějším gynekologickým nádorovým onemocněním a dlouhodobě zaujímá první místo v mortalitě žen s gynekologickými nádory. Standardní léčba pacientek s OC zahrnuje chirurgickou cytoredukci a chemoterapii (obvykle kombinaci platiny a taxanových derivátů).

Chemoterapie nejenže vyvolává cytotoxickou aktivitu proti maligním buňkám, ale má také imunomodulační účinky na nádorové mikroprostředí. Imunoterapie inhibitory imunitních kontrolních bodů (ICI) u OC v monoterapii vykazuje ve srovnání s jinými solidními nádory pouze omezený terapeutický přínos.

Jednou z možných účinných strategií léčby high-grade serózního karcinomu ovaria (HGSOC) se jeví kombinace ICI se standardní cytotoxickou chemoterapií. Naše studie ukazuje, že neoadjuvantní chemoterapie (NACT) s paklitaxelem a karboplatinou u pacientek s pokročilým HGSOC zvyšuje imunogenicitu maligních buněk. To je spojeno s rozvojem protinádorové imunity a tvorbou a zráním terciárních lymfoidních struktur (TLS). Zvýšené množství zralých TLS koreluje s vyšším počtem CD8+ T-lymfocytů, které se preferenčně diferencují do klinicky relevantního progenitorového TCF1+PD1+ fenotypu ve srovnání s terminálně vyčerpanými TIM3+PD1+CD8+ T-buňkami.

Podobné výsledky pozorujeme v experimentech na myším modelu metastatického HGSOC s vysokou (ale nikoli nízkou) mutační náloží (TMB), kdy kombinace chemoterapie s ICI (anti-PD1) terapií přináší významné zlepšení přežití. Závěry naší studie zdůrazňují důležitost racionálního plánování klinických studií testujících kombinaci chemoterapie a ICI u pacientek s HGSOC.

### DEREGULACE INTERAKCÍ V MIKROPROSTŘEDÍ CHRONICKÉ LYMFATICKÉ LEUKEMIE A JEJICH TERAPEUTICKÉ CÍLENÍ

Mráz M.

CEITEC Masarykova univerzita, Brno, Czech Republic  
Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno a LF MU

Signalizace z B-buněčného receptoru (BCR) a interakce mezi B- a T-lymfocyty hrají důležitou roli při vzniku a progresi chronické lymfocytární leukemie (CLL). Buňky CLL využívají tyto již existující dráhy řídicí klonální proliferaci normálních B-buněk k podpoře neoplastického růstu.

Rozdíly v BCR signalizaci a interakcích mezi B-T-buňkami přispívají k proměnlivé prognóze CLL, a kromě podpory maligních B buněk mohou T-lymfocyty do určité míry limitovat růst CLL. Působivý klinický efekt inhibitorů cílících na BCR-asociované kinázy BTK

a PI3K (ibrutinib, acalabrutinib, zanubrutinib, idelalisib) u pacientů s CLL, podskupiny případů difuzního velkobuněčného B-lymfomu a dalších B-lymfomů demonstruje závislost maligních buněk na těchto kinázách zapojených do interakcí v mikroprostředí.

V přednášce shrneme mechanismy (de)regulace BCR signalizace a interakcí CLL-T buněk u CLL. Budeme diskutovat mechanismy účinku klinicky využívaných BCR inhibitory a způsob, jakým se maligní B-buňky stávají rezistentními, nebo se adaptují negenetickými mechanismy na inhibici kinázy BTK.

*Podpořeno: Ministerstvem zdravotnictví ČR (grant NU22-03-00117, NU23-08-00448 a NW24-03-00369); Národním ústavem pro výzkum rakoviny (Program EXCELES, ID: LX22NPO5102) – Financováno Evropskou unií-Next Generation EU). Podpořeno institucionální podporou: MH CZ-DRO (FNBr, 65269705) a MUNI/A/1558/2023.*

*kontakt: marek.mraz@email.cz; ceitec.cz/mrazlab*

## DENDRITICKÉ BUŇKY V LÉČBĚ SOLIDNÍCH NÁDORŮ

Smrž D. et al.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Ústav imunologie, 2. LF UK a FN Motol, Praha

<sup>2</sup> Laboratoř imunoterapie, Mikrobiologický ústav AV ČR, Praha

### Cíl práce

Dendritické buňky (DC) jsou profesionální antigen prezentující imunitní buňky, které hrají významnou roli v protinádorové adaptivní imunitě. *Ex vivo* připravené DC jsou využívány jako buněčné protinádorové vakcíny. Technologie přípravy DC však významně ovlivňuje jejich terapeutickou účinnost. Námí nedávno zavedený způsob přípravy DC s využitím antimikrobiálního peptidu LL-37 prokázal protinádorovou aktivitu *in vitro*. Terapeutickou účinnost LL-37 připravených DC jsme proto testovali *in vivo* na myším modelu nádoru prostaty („cold tumor“, PCa model) a kolorektálního karcinomu („hot tumor“, CC model).

### Materiál a metody

DC byly připraveny z kostní dřeně femuru TRAMP myši (PCa model) a BALB/c myši (CC model). K přípravě DC bylo použito GM-CSF a IL-4 v kombinaci s LL-37 a lyzáty nádorových buněk karcinomu prostaty, TRAMP, nebo kolorektálního karcinomu, CT26. Připravené DC byly aplikovány současně (TRAMP, n=10), nebo týden po inokulaci (CT26, n=9) myších nádorových buněk. Druhá a třetí aplikace DC byla provedena v týdenním intervalu. DC terapie byla současně kombinována s PD-1 inhibitorem, který byl aplikován s DC. Monitorována byla velikost nádoru a přežití myši.

### Výsledky

U PCa modelu DC zpomalily růst nádoru (> 70 %). Využití LL-37 při přípravě DC významně zvýšilo procento

přežití myši (0 vs. 30 %). Kombinovaná terapie DC a PD-1 inhibitory měla však opačný účinek: bez ohledu na implementaci LL-37 došlo k významnému zhoršení terapeutické účinnosti.

U CC modelu byl růst nádoru zpomalen pouze pomocí DC s LL-37 (37 %) či LL-37 s agonistou signální dráhy STING (cGAMP) (51 %). Zvýšené procento přežití myši bylo ale pozorováno pouze u léčby DC připravených pomocí LL-37 s cGAMP (0 vs. 33 %). DC terapie kombinovaná s PD-1 inhibitorem zvýšila procento přežití myši (0 vs. 10–45 %).

### Závěry

Nové technologie *ex vivo* přípravy DC mohou značně zvýšit jejich protinádorovou terapeutickou účinnost. Kombinovaná léčba DC s PD-1 však může v závislosti na typu nádoru terapeutickou účinnost DC buď posílit, nebo naopak oslabit.

## NEOAJUVANTNÍ IMUNOTERAPIE U KARCINOMU PLIC: KLINICKÉ VÝZVY A PŘÍLEŽITOSTI

Šťastný M.<sup>1</sup>, Casas Mendez F.<sup>2</sup>, Vachtenheim J.<sup>3</sup>, Čapková L.<sup>4</sup>, Bílek O.<sup>5</sup>, Fučíková J.<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Medicínské oddělení Bristol-Myers Squibb CR

<sup>2</sup> Pneumologická klinika 2. LF UK a FN Motol

<sup>3</sup> III. chirurgická klinika 1. LF UK a FN Motol

<sup>4</sup> Ústav patologie a molekulární medicíny, 2. LF UK a FN Motol

<sup>5</sup> Klinika komplexní onkologické péče LF a MOÚ Brno

<sup>6</sup> Ústav imunologie, 2. LF UK a FN Motol / SOTIO

Moderní imunoterapie využívající blokádu tzv. kontrolních bodů imunitní reakce (checkpoint inhibitory) vstoupila výrazným způsobem do léčby metastatického melanomu v roce 2010 (anti-CTLA-4), resp. 2014 (anti-PD1). Od té doby jsou tyto přístupy schváleny v léčbě více než 20 typů nádorů, ať už v monoterapii, či v kombinaci s dalšími modalitami (chemoterapií, TKI, inhibitory VEGF či jinými checkpoint inhibitory).

Prognóza NSCLC pacientů v metastatickém stadiu je obecně velmi špatná, ale i přežití pacientů odoperovaných v časných stádiích choroby není povzbudivé. K relapsu choroby či úmrtí (podle stadia choroby v okamžiku operace) dojde v průběhu 5 let u 35–60 % pacientů. V posledních letech ale vstupuje moderní imunoterapie i do léčby operabilních pacientů v tzv. neoadjuvantním podání (před operací). Tento přístup směřuje k eradikaci mikrometastáz, k prodloužení přežití bez progresu či relapse choroby a v ideálním případě také k prodloužené době přežití či dokonce vyléčení u části pacientů.

Neoadjuvantní podávání imunoterapie má řadu výhod a také některé nevýhody. Tyto aspekty léčby ukážeme v avizované přednášce, kde se budou diskutovat i další zajímavé otázky:

Je možné predikovat na začátku léčby, kdo bude z neoadjuvance profitovat?

Dokážeme korelovat hodnocení odpovědi na léčbu pomocí CT/PET-CT s odpovědí vyhodnocenou patologií?

Jak důležitá je role patologů při hodnocení odpovědi na imunoterapii?

Je tato odpověď v korelaci s dlouhodobým přežitím bez relapsu a můžeme některé surogátní endpointy využít v klinické praxi?

Máme data k možným biomarkerům odpovědi?

Řada těchto otázek bude v rámci přednášky nastolena, diskutována, ale určitě ne vyřešena. Z důvodu vysoké komplexity imunitního systému bude zřejmě velmi obtížné najít jednoduchý univerzální biomarker, který bude využitelný napříč imunoterapiemi, a navíc u různých typů nádorů. Ukazuje se, že odpověď pacienta na imunoterapii může ovlivňovat nejen velikost nádoru a stav imunitního systému pacienta, ale např. i BMI pacienta, skladba stravy, stres či cirkadiánní rytmy a doba podání imunoterapie v průběhu dne.

## CHIRURGIE V ÉŘE NEOADJUVANTNÍ CHEMOIMUNOTERAPIE U RESEKABILNÍHO KARCINOMU PLIC

Vachtenheim J., Lischke R.

*III. chirurgická klinika I. LF UK a FN Motol*

Rakovina plic zůstává celosvětově jednou z nejčastějších příčin úmrtí na maligní onemocnění, přičemž chirurgická léčba je hlavní léčebnou modalitou pro pacienty s resektabilním nemalobuněčným karcinomem plic (NSCLC).

Nedávné zavedení neoadjuvantní chemo-imunoterapie do klinické praxe v roce 2023 představilo novou dimenzi léčebné strategie pro pacienty s primárně resektabilním NSCLC a prokázalo zlepšené onkologické výsledky v randomizovaných klinických studiích. Nicméně podrobnější a robustnější real-world data o vlivu neoadjuvantní chemo-imunoterapie na hrudní chirurgii (tedy plánování, komplexita samotné operace, perioperační a pooperační výsledky) v současné době chybí. Tato data budou v přednášce prezentována na vlastním souboru pacientů léčených neoadjuvantní chemo-imunoterapií a následnou operací ve FN Motol.

## Spojené cesty alergologa a dermatologa

### ATOPICKÝ EKZÉM, PORUCHA KOŽNEJ BARIÉRY, IMUNOLÓGIA EKZÉMU

Buchvald, D.

*Detská dermatovenerologická klinika LFUK a NÚDCH, Bratislava*

Atopický ekzém patří mezi nejčastější neinfekčné zápalové dermatózy: v našich zemepisných šírkach postihuje 15–20 % detí a 3–5 % dospelých. Výrazne negatívne ovplyvňuje kvalitu života pacientov a kladie vysoké nároky na zdravotnú starostlivosť.

Genetická predispozícia, poruchy epidermálnej bariérovej funkcie a odchýlky v regulačných mechanizmoch vrodenej aj získanej imunity vytvárajú predpoklady pre uplatnenie spúšťajúcich faktorov prostredia na vývoj klinických prejavov choroby. Hoci sa naše vedomosti o patofyziológii atopickej dermatitídy v ostatnom čase významne rozšírili, mnoho aspektov ostáva stále nejasných.

V prednáške sú zhrnuté aktuálne výsledky experimentálnych aj klinických štúdií poskytujúce komplexný pohľad na najdôležitejšie mechanizmy vývoja klinického obrazu atopickej dermatitídy.

### DOPORUČENÉ POSTUPY LÉČBY ATOPICKÉHO EKZÉMU

Machovcová A.

*Dermatovenerologické oddělení FN v Motole, Praha  
Klinika pracovního lékařství UK I. LF Praha*

Atopická dermatitida je chronické, intenzivně svědící onemocnění dětí i dospělých, jež vyžaduje intenzivní lokální a často i celkovou léčbu.

Výběr léčebné metody závisí na závažnosti onemocnění a přidružených chorobách. Základem léčby je vždy lokální protizánětlivá léčba a pravidelná aplikace emoliencií. Při nedostatečném efektu lokální léčby je třeba použít léčbu systémovou. K té jsou k dispozici imunosupresivní léčba, biologická léčba a cílená léčba JAK inhibitory.

V přednášce budou prezentovány aktuální doporučené postupy k systémové léčbě atopické dermatitidy.



## IMUNOLOGICKÉ ASPEKTY AUTOIMUNITNÍCH PUCHÝŘNATÝCH DERMATÓZ (AIBD)

Salavec M.

*Klinika nemocí kožních a pohlavních FN HK a LF  
v Hradci Králové (Univerzita Karlova)*

V úvodu prezentace je představena základní klasifikace AIBD.

V patogenezi AIBD se uplatňuje autoprotilátková aktivita. Autoprotilátky zjišťované u autoimunitních puchýřnatých dermatóz podstatně přispěly k identifikaci a ke specifikaci strukturálních proteinů desmozomů a hemidesmozomů. Desmozomy (skupina onemocnění pemphigu) a hemidesmozomy (skupina onemocnění pemphigoïdu) hrají klíčovou roli v adhezi buňka–buňka a buňka–matrix v oblasti epidermis a tzv. dermo-epidermální junkční zóně (DEJ).

K desmozomům patří adhezivní molekuly – tzv. desmogleiny a desmocolliny. Tyto typy transmembránových molekul jsou kalcium-dependentní typy adhezivních molekul (tzv. kadheriny). Uvnitř buněk se kadheriny váží na proteiny desmozomálních plaků. Řada proteinů desmozomálních plaků byla popsána vedle kadherinů jako cílové struktury autoprotilátek (plakoglobin, periplakin, envoplakin, desmoplakin I/II) – patogenetický význam těchto protilátek proti intracelulárně lokalizovaným proteinům ale zůstává nejasný.

Proces destrukce struktur vazbou autoprotilátek na příslušné specifické antigeny v epidermis je nazýván akantolýzou. Rozdílný klinický obraz pemphigus vulgaris a foliaceus je dán rozdílnou expresí desmogleinu-1 a 3 v rohovější epidermis a sliznici. U skupiny onemocnění pemphigoïdu jsou autoantigeny lokalizovány v zóně bazální membrány oddělující struktury epidermis od dermis.

V další části se prezentace zaměřuje na vlastní onemocnění skupiny pemphigu a pemphigoïdu (**lokalizace subepidermálně**) s charakteristikou imunologických aspektů onemocnění skupiny pemphigu a skupiny pemphigoïdu a s představením možných imunoterapeutických zásahů.

Konečně se prezentace věnuje i AIBD spojovaných s IgA imunitní odpovědí. Mezi tyto klinické jednotky patří lineární IgA bulózní dermatóza a onemocnění *dermatitis herpetiformis*. Popsány jsou charakteristiky antigenů i klinické obrazy těchto jednotek včetně doporučené terapie.

## FOTODERMATÓZY, FOTOPROTEKCE

Ettler K.

*Klinika nemocí kožních a pohlavních FN a LF v Hradci Králové (Univerzita Karlova)*

Fotodermatózy jsou choroby kůže způsobené expozicí slunečnímu, ale i umělému UV a viditelnému záření. Zařazují se sem choroby geneticky podmíněné (např.

s defektem reparace DNA), metabolické (např. porfyrie), imunologicky zprostředkované fotodermatózy (dříve nazývané idiopatické) a také reakce způsobené exogenním fotosenzibilizátorem. Fotosenzibilizátor může vyvolat fototoxickou reakci (častěji) nebo fotoalergickou (lokální kontaktní nebo i celkovou, většinou polékovou reakci). Společnou podmínkou všech fotodermatóz je vazba na oslnění a výskyt v heliotropních lokalitách.

Fotoalergické reakce vznikají na podkladě přecitlivělosti opožděného typu, kdy se chemická látka po ozáření a vzniku fotoproduktu naváže na rozpustnou bílkovinu a dá vzniknout antigenu/alergenu vedoucímu k senzibilizaci a výskytu svědivých ložisek, klinicky neodlišitelných od kontaktního ekzému, která částečně přesahují i do míst chráněných před sluncem.

Látky uplatňující se jako kontaktní fotoalergeny lze rozdělit do několika skupin (antiseptika, voňavky, léky, organické filtry). Paradoxně nejvýznamnější skupinou látek vyvolávajících fotoalergickou reakci jsou chemické absorbéry v opalovacích krémech, proto se u dětí doporučuje v ochraně před slunečním zářením užití spíše fyzikálních filtrů.

Hlavním diagnostickým postupem k potvrzení fotoalergické reakce jsou ozáření epikutánní testy. Léčba akutní fotoalergické dermatitidy je podobná jako léčba fototoxické, tzn. eliminace záření a fotosenzibilizátoru, a poté klidnění kožní reakce. Je však nutné mít na paměti, že senzibilizace na danou látku je již trvalá a do budoucna to znamená se látce vyhnout (v kombinaci s UV ozářením).

Nejdůležitějším opatřením je však fotoprotekce, tzn. zavedení komplexu preventivních i profylaktických opatření. Znamená to upravit chování (pobyt ve stínu), krýt se oděvem a na nechráněná místa aplikovat fotoprotektivní přípravky (sunscreeny), jejichž účinnost je popisována zkratkou SPF (sun protecting factor).

Podle obsahu filtru se přípravky dělí na anorganické (fyzikální) a organické (chemické) sunscreeny. Systémová fotoprotekce je zatím spíše v počátcích a používá nejvíce látky s antioxidačním efektem.

## CHRONICKÁ SPONTÁNNÍ URTIKARIE V OBORU AKI – CO MŮŽEME DNES A CO BUDEME MOCI V BUDOUCNU

Jílek D.

*Oddělení klinické imunologie a alergologie, Krajská zdravotní, a. s. – Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o. z.*

V přehledné přednášce budou zopakována současná diagnostická kritéria pro chronickou spontánní urtikarii (CSU) a chronické urtikarie indukované (CIndU) a budou uvedeny doporučené postupy pro jejich diferenciální diagnostiku a léčbu (EAACI, resp. Allergy, 2022; 30: 734–766).

Těžiskem terapie těžkých případů CSU je v současnosti biologická léčba anti-IgE protilátkou omalizumab.

### **Co můžeme dnes?**

Léčba omalizumabem byla řadu let v ČR dostupná na vybraných dermatologických pracovištích (centrová léčba). Vzhledem k mezioborovému charakteru CSU došlo v r. 2022 k dohodě s Českou dermatologickou společností ČLS JEP (ČDS) o rozšíření možnosti podávat centrovou léčbu CSU také na pracovištích našeho oboru alergologie a klinická imunologie (AKI). Bylo vydáno společné doporučení ČDS a ČSAKI pro léčbu CU, viz *Alergie* 2022; 24 (Suppl. 2): 3–16. Speciální smlouvu pro centrovou léčbu CSU mají v současnosti v ČR ojedinělá pracoviště a je záhodno jejich počet rozšiřovat.

### **Co budeme moci v budoucnu?**

Inovativní úsilí řady společností se soustřeďuje do několika oblastí, charakterizovaných perspektivními molekulárními cíli, které hrají roli v patogenezi CSU a ve kterých probíhají klinické studie s perspektivními biologiky pro léčbu CSU s velmi slibnými výsledky. Jedná se o:

1. Brutonovu tyrosinkinázu (BTK) – rilzabrutinib a remibrutinib,
2. IL-4 a IL-13 – dupilumab,
3. thymický stromální lymfopoetin (TLSP) – tezepelumab,
4. mastocytární receptor c-Kit – barzolvolimab a briquilimab.

## Funkční diagnostické testy v respiračních chorobách

### SPIROMETRIE – NOVÁ TECHNICKÁ A INTERPRETAČNÍ STRATEGIE DLE ERS/ATS (2019, 2021)

Kociánová J.

*Plicní ambulance, Alevolus, s. r. o., Ostrava-Poruba*

Spirometrie jako nejfrekventovanější funkční test je užívána v pneumologii, interně, alergologii, pediatrii, pracovním lékařství, sportovní medicíně a v dalších oborech. Je také součástí komplikovanějších funkčních testů.

Správné provedení a hodnocení je základem dalších diagnostických a terapeutických souvislostí. České doporučené postupy pro funkční diagnostiku budou nadále reflektovat postupy mezinárodní.

Zlepšení přístrojového vybavení, výsledky nových studií a zlepšení kontroly kvality vedly k nutnosti aktualizovat technické normy ERS/ATS z roku 2005.

První z nových dokumentů pracovních skupin ERS i ATS ke standardizaci spirometrie je z roku 2019. Kromě analýzy publikovaných dat je v tomto doporučení zohledněn i průzkum provedený mezi pacienty, zjišťující jejich zkušenost s provedením spirometrie. Je zde aktualizován výčet kontraindikací a činností, které by pacient neměl před spirometrií provádět.

Pro spirometrii je vyžadováno splnění normy Mezinárodní organizace pro normalizaci (ISO) 26782. Aktualizovány jsou postupy jistění kvality a také školení a dohled nad způsobilostí vyšetřujících. Byl doporučen průběh manévru spirometrie, znovu definován konec usilovného výdechu, aktualizována kritéria přijatelnosti a opakovatelnosti a vytvořen nový systém klasifikace pro hodnocení kvality spirometrie. Zmíněny jsou např. také aktualizované časy vysazení bronchodilatačních léků před testy.

Druhým důležitým dokumentem ERS/ATS je Interpretativní strategie rutinních funkčních testů z roku 2021. Hlavní změnou je požadavek na patofyziologické hodnocení výsledku, nikoli určení diagnózy. Dotýká se několika oblastí. Vymezuje vztah hodnot měřených ve vztahu k zdravé populaci. Doporučuje a vysvětluje hodnocení pomocí limitů normálu. Více se věnuje bronchodilatační odpovědi a doporučuje přesnější a reálně více odpovídající hodnocení BD testů. Zmiňuje též přesnější hodnocení vývoje plicních funkcí v čase. Tíže postižení plicní funkce je posuzována podle směrodatných odchylek. Pozornost je věnována klasifikaci postižení plicní funkce a budoucnosti interpretace výsledků.

Sdělení je zaměřeno na hlavní body obou dokumentů s cílem zlepšit přesnost a kvalitu spirometrických měření. Pro interpretaci doporučuje odpovídající náležitě hodnoty, limity normálu, posouzení tíže poruchy a interpretaci.

**Klíčová slova:** spirometrie, spirometr, plicní funkce, technický standard, interpretační strategie

#### LITERATURA

1. Standardization of Spirometry 2019 Update, American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine Volume 200 Number

8 | October 15 2019, <https://doi.org/10.1164/rccm.201908-1590ST>

2. ERS/ATS technical standard on interpretative strategies for routine lung function tests, European Respiratory Journal 2021, doi:10.1183/13993003.011499-21

### IMPULZNÍ OSCILOMETRIE A JEJÍ VYUŽITÍ V RESPIRAČNÍ MEDICÍNĚ

Kacrová S.

*Plicní ambulance, Uherské Hradiště*

Oscilační metody se v medicíně prvně objevily v roce 1956, kdy je prof. Dubois použil pro měření mechanických vlastností plic a hrudníku. V průběhu let pak docházelo k mnoha úpravám metody nucených oscilací (FOT), ať už se týkaly konfigurace, typu oscilace či použité frekvence...

V roce 1981 byla německými autory popsána impulzní oscilační technika (IOS), která na rozdíl od klasické FOT nepoužívá směs elektricky generovaných a v určitý čas aplikovaných frekvencí, ale pravouhly elektrický impulz, který obsahuje všechny frekvence.

Tato metodika a první zkušenosti byly poprvé diskutovány na setkání patofyziologické sekce Německé společnosti pro pneumologii v r. 1992. U nás první zkušenosti s metodikou popsal v r. 2000 doc. Čáp.

Základní hodnocené parametry jsou R5 = celkový odpor dýchacích cest, R20 = odpor v centrálních dýchacích cestách, delta (rozdíl) R5-20 = odpor v periferních dýchacích cestách a X5, který odráží retrakční sílu plic a odpor na periférii dýchacích cest. A pak odvozené parametry – rezonanční frekvence Fres a reaktanční plocha Ax, které mají význam především pro hodnocení bronchomotorických testů.

Nespornou výhodou impulzní oscilometrie je využití klidového dýchání při vyšetření, takže nejsou nutné usilovné dechové manévry při vyšetření. To umožňuje vyšetřit i ty pacienty, kteří nejsou schopni podstoupit vyšetření konvenčními metodami. Týká se to zejména malých dětí, geriatrických pacientů, pacientů s výraznějším dechovým omezením, těžce nemocných pacientů či pacientů s neuromuskulárním postižením, pacientů neschopných spolupráce.

Výhodou je také rozlišení postižení periferních a centrálních dýchacích cest, zachycení časných stadií onemocnění, u CHOPN stanovení rizika exacerbace, sledování ventilovaných pacientů či pacientů na přetlakové terapii. Impulzní oscilometrie má také využití při bronchomotorických testech: při měření bronchiální hyperreakivity dochází k pozitivitě při použití nižší kumulativní dávky.

Impulzní oscilometrie nenahrazuje spirometrii, ale doplňuje mozaiku celkového obrazu funkce plic, je tedy součástí komplexního funkčního vyšetření plic.

**BRONCHOPROVOKAČNÍ TEST – KUDY DÁL?**

Brož P., Černý K., Brožová L.

*Alergologie a imunologie, s. r. o., Šumperk***Cíl**

Předkládáme své zkušenosti s bronchokonstrikčními testy.

**Materiál**

Spirometr s moduly na měření ústních tlaků, odporů, bronchoprovokační jednotkou a od roku 2023 i impulzním oscilometrem. Oxymetr.

Stanovit diagnózu astmatu je snadné. Ovšem jen tehdy, pokud je pacient schopný podat plnohodnotnou anamnézu a pokud je schopen dobré spolupráce při vyšetření. A nejlépe tehdy, vyšetřujeme-li ho v době, kdy symptomy astmatu jsou nápadné.

Pokud se však dostaneme do situace, kdy něco z toho nemáme k dispozici, čas tlačí a pacientovo parere je mimořádně chudé, může být diagnóza svízelná. Neměli bychom dopustit, aby kvalitní diagnóza byla nahrazována terapií, a to ani dnes, kdy je léčba astmatu považována za bezpečnou. Pomineme-li ohrožení zbytečnou medikací a neúčelné zvýšení nákladů na léčbu, znamená takový postup pro pacienta doživotní stigmatizaci diagnózou astmatu, navíc často považovaného za torpidní a refrakterní na léčbu. Naopak bagatelizace problému může vést k poškození pacienta.

Vždy byla snaha najít vyšetřovací metodu, která by vedla ke stanovení diagnózy i v případech pochyb, event. k ověření efektu léčby. Tím může být **bronchoprovokační test**. Během více než 30 let jsme jej prováděli s histaminem, metacholinem i zátěží na ergometru nebo volným během.

Základním výstupem metacholinového testu je průkaz poklesu FEV1 o více než 20 %. Hodnotíme dávku, kdy k tomuto poklesu dojde (PD 20). Je důležité zaznamenat a mít v patrnosti i další skutečnosti: toto vyšetření nás může informovat o pacientově percepce (o tom, čemu se říká dušnost), o charakteru jeho reakce (kašle, auskultačním nálezu, změnách saturace kyslíkem). Je vhodné zaznamenat a hodnotit i pacientovu odpověď na následnou bronchodilataci.

Při testu zátěží během nebo na ergometru je základním parametrem pokles FEV1 v 6. a 10. minutě po skončení námahy. Důležitým údajem je ale i neschopnost pacienta vyvinout dostatečnou aktivitu vzhledem k dekonkci. Pokles saturace nebo chronotropní inkompetence může upozornit na kardiální problémy, dosud přehlížené.

Kvalitní a dobře hodnocená spirometrická křivka je *conditio sine qua non*. Je nutno odlišit artefakt, na kterém se mohou podílet například laryngospasmus, nedostatečné úsilí, únava pacienta nebo artefakty způsobené hlubokým dýcháním, například dynamická hyperinflace.

Trvalou snahou je volit takový postup, který povede k nejlepším výsledkům při nejmenší zátěži pacienta. Jako nadějně se jeví využití impulzní oscilometrie, která využívá klidové dýchání. Díky vysoké citlivosti by mohla umožňovat vyšetření menšími dávkami metacholinu.

Považujeme za nutné upozorňovat na problémy a nové otázky, které před nás toto vyšetření klade. Zdůrazňujeme

ze zkušeností nutnost, aby pracoviště, které se těmito testy zabývá, dbalo krom jiného na přesně zpracovaný vlastní manuál standardizující postup. Těž zdůrazňujeme nutnost dbát na pravidelné doškolení lékařů a sester, kteří se na provádění těchto testů podílejí.

**K ČEMU JSOU ÚSTNÍ TLAKY?**

Černý K., Brož P., Brožová L.

*Alergologie a imunologie, s. r. o., Šumperk***Cíl**

Předkládáme své zkušenosti s vyšetřováním mechaniky dýchání a s měřením ústních a nosních tlaků.

**Materiál a metody**

Spirometr s moduly na měření ústních tlaků. Pro měření nosních tlaků Micro RPM. K hodnocení rozvíjení hrudníků postačuje krejčovský metr.

V diferenciální diagnostice dušnosti se opakovaně dostáváme do situace, kdy anamnéza, fyzikální vyšetření plic, spirometrie či laboratorní vyšetření neobjasní dostatečně příčinu pacientovy dušnosti.

Jednou z možných příčin tohoto problému může být porucha mechaniky dýchání. Pro orientaci stačí zhodnotit posturu a chůzi pacienta, stav svalů včetně palpáce citlivých bodů, charakter dýchání včetně pohybu břišní stěny.

Obyčejným metrem zhodnotíme rozvíjení hrudníku ve třech základních rovinách, tedy v polovině hrudní kosti (mesosternale), ve výši mečíku hrudní kosti (xyphosternale) a v polovině vzdálenosti pupek–mečík. Rozdíl obvodu v maximálním nádechu a výdechu by měl být alespoň 2,5 cm.

Kvantitativní informaci o zdatnosti svalů zapojených do dýchání přináší vyšetření ústních a nosních tlaků. Námí používaný měřicí systém pracuje se záklopkou, která se uzavírá buď při klidovém dýchání, nebo v usilovném nádechu či výdechu.

Základními usilovnými parametry jsou MIP (maximální inspirační tlak) a MEP (maximální expirační tlak). Hodnotíme jednak absolutní hodnotu těchto parametrů, jednak schopnost pacienta měření opakovat a tlak udržet, což poukazuje na unavitelnost svalů.

Parametry získané měřením při usilovných manévrech odrážejí problémy respiračních chorob. Pokles MIP koreluje se zhoršením zdatnosti svalové pumpy pacienta – a tím s prognózou dalšího vývoje onemocnění, MEP souvisí např. s kvalitou kašle a schopností expektorace.

Jednodušší a levnější variantou MIP je stanovení nosního inspiračního tlaku (SNIFF). Jedná se o metodu ekonomicky výhodnější, navíc podstatně jednodušší a pro mnohé pacienty snáze proveditelnou.

V klidovém dýchání se zjišťuje náhodným krátkým uzavřením záklopkou parametr P 0,1. Tato hodnota přináší důležité informace například v předpovědi selhání ventilace při neuromuskulárních onemocněních. Dále zjišťujeme podíl trvání inspirační fáze k trvání celého dechového cyklu (informuje nás o možnosti zotavení respiračních svalů).

Toto vyšetření by mělo být základní součástí vyšetření astmatika, protože na uvedených údajích může být

správně indikována a nastavena fyzioterapie, která pak pacientovi přinese benefit. Vyšetření může též upozornit na nutnost změny inhalačního systému. Měli bychom na toto vyšetření myslet i při snaze včasné detekovat nežádoucí účinky léčiv, například systémových kortikoidů, myorelaxancií nebo opiátů.

Toto vyšetření klade velké nároky na provádějící sestru. Musí být znalá principů a cílů vyšetření, dbát na pravidelnou údržbu systému, ale očekává se od ní i vytvoření optimálních podmínek pro vyšetření: je například zapotřebí upozornit pacienta na vyprázdnění močového měchýře před vyšetřením, na uvolnění oděvu a správnou polohu pacienta. Sestra by měla být schopna pacienta empaticky instruovat a motivovat. Ve výsledku vyšetření se neobejdeme bez jejího vlastního hodnocení průběhu testu, tedy např. zhodnotí ochotu pacienta dostatečně spolupracovat.

### AKTUÁLNÍ MOŽNOSTI A ZKUŠENOSTI S RHINOMANOMETRIÍ

Herknerová M<sup>1</sup>, Čáp P<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> *Anacarde, s. r. o., ordinace alergologie a klinické imunologie, Mníšek pod Brdy*

<sup>2</sup> *Centrum alergologie a klinické imunologie, Nemocnice Na Homolce, Praha*

### Cíl

Představit aktuální možnosti a zkušenosti s vyšetřením nosní průchodnosti pomocí rhinomanometrie, zhodnotit přínos a limitace metody.

### Materiál a metody

Rhinomanometrie je neinvazivní funkční dynamická vyšetřovací metoda. Ve sdělení bude prezentována především aktivní přední rhinomanometrie, která porovnává rozdíly hodnot mezi tlakem v přední části nosní dutiny a tlakem v nosohltanu při inspiriu a expiriu během spontánního dýchání.

### Výsledky

Prezentujeme krátké kazuistiky pacientů a křivky vyšetření aktivní přední rhinomanometrií v čase. Shrňme, jaké postavení má vyšetření aktivní přední rhinomanometrií ve vyšetřovacím algoritmu a zhodnotíme i přínos této metody v klinických studiích.

### Závěry

Objektivizace stupně nosní obstrukce a určení příčiny je zásadní pro optimální terapeutický postup. Rhinomanometrie může dát při dobrém technickém provedení a dobré spolupráci pacienta přídatnou užitečnou informaci v rámci diagnostiky i monitorace léčby.

## Mladí alergologové a imunologové

### POSTVAKCINAČNÍ GRANULOMY U DĚTÍ JAKO PROJEV SENZIBILIZACE NA HLINÍK

Jedličková E.  
ÚIA FN Plzeň

Tvorba subkutánních granulomů po aplikaci vakcín obsahujících hliník postihuje cca 1 % dětí, přesto se jedná o často přehlíženou diagnózu. Příčinnou souvislost s přecitlivělostí IV. typu na hliník dokládá pozitivita epikutánních testů s aluminium chloridem. Ke klinickým projevům patří hmatné noduly v místě aplikace vakcíny, na kůži nad noduly pak ekzém, svědění a zvýšený růst chlupů.

### ODPOVĚĎ NOSNÍ SLIZNIČNÍ IMUNITY NA INFEKCI ČERNÝM KAŠLEM

Kratochvílová A.<sup>1</sup>, Niederlová V.<sup>1</sup>, Michálik J.<sup>1</sup>, Knoblochová Š.<sup>2</sup>, Brázdilová L.<sup>2</sup>, Šebo P.<sup>2</sup>, Štěpánek O.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Ústav molekulární genetiky AV ČR, Laboratoř adaptivní imunity*

<sup>2</sup> *Mikrobiologický ústav AV ČR, Laboratoř molekulární biologie bakteriálních patogenů*

V posledních měsících rostl v České republice výskyt černého kašle. Původcem tohoto vysoce nakažlivého respiračního onemocnění je bakterie *Bordetella pertussis*.

Podobně jako jiné respirační patogeny, *Bordetella pertussis* využívá pro vstup do hostitele sliznici horních cest dýchacích (HCD). Zde dochází jednak k iniciaci onemocnění, ale také k pomnožení bakterie a jejímu případnému sestupu do dolních cest dýchacích, kde může způsobit závažné onemocnění.

Adaptivní imunitní systém HCD může hrát důležitou roli v protekci proti černému kašli, a zabránit tak závažnému průběhu i transmisi bakterie na jiné osoby. Dosavadní znalosti o místně specifické imunitě v nosní tkáni během různých infekcí jsou však velmi omezené.

V naší studii jsme pomocí single-cell RNA sekvenování analyzovali B- a T-lymfocyty získané ze stěrů sliznice nosní u 30 pacientů po černém kašli a 30 zdravých dobrovolníků, kteří černý kašel nikdy neprodělali. Ze získaných dat vyplývá zejména důležitá role imunoglobulin A produkujících B-lymfocytů, Th1 a Th17 polarizovaných pomocných CD4<sup>+</sup> T-lymfocytů.

Zaznamenali jsme však i potenciální protektivní roli u Th1/Th17 polarizovaných CD4<sup>+</sup> T-lymfocytů. Naopak nejasná je role CD8<sup>+</sup> cytotoxických T-lymfocytů, které po infekci vykazují neobvyklý fenotyp. Získaná data budou dále ověřena pomocí průtokové cytometrie, zejména přítomnost relevantních B- a T-lymfocytárních populací.

## CHARAKTERIZACE T-LYMFOCYTŮ U PEDIATRICKÝCH PACIENTŮ S DIABETES MELLITUS 1. TYPU POMOCÍ SEKVENOVÁNÍ RNA NA ÚROVNI JEDNOTLIVÝCH BUNĚK

Niederlová V.<sup>1</sup>, Neuwirth A.<sup>1</sup>, Neuman V.<sup>2</sup>, Michálik J.<sup>1</sup>, Šumník Z.<sup>2</sup>, Štěpánek O.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Laboratory of Adaptive Immunity, Institute of Molecular Genetics of the Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic*

<sup>2</sup> *Department of Paediatrics, Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic*

### Úvod

Diabetes mellitus 1. typu (T1DM) je chronické autoimunitní onemocnění, které se vyznačuje destrukcí  $\beta$ -buněk pankreatu autoreaktivními T-lymfocyty. Přestože T-lymfocyty hrají klíčovou roli v patogenezi T1DM, změny v periferním imunitním systému pacientů s T1DM jsou nejednoznačné.

Tato studie si klade za cíl identifikovat specifické charakteristiky T-lymfocytů u pediatrických pacientů s T1DM pomocí pokročilých technik sekvenování RNA na úrovni jednotlivých buněk (scRNAseq) a profilování imunorepertoárů.

### Metody

V této longitudinální observační studii jsme analyzovali více než 200 000 periferních krevních T-lymfocytů od 30 dětí s diagnózou T1DM, a to jak při diagnóze, tak po roce sledování. Výsledky byly porovnány se zdravými kontrolami odpovídajícími věkem a pohlavím. Pomocí iterativního nesupervidovaného clustering jsme detailně popsali transkriptom napříč 16 hlavními typy T-lymfocytů, a charakterizovali jsme 79 buněčných stavů.

### Výsledky

Analýza diferenciální genové exprese odhalila, že populace jak  $CD8^+$ , tak  $CD4^+$  T-lymfocytů u pacientů s T1DM vykazovaly při diagnóze více naivní fenotyp, který se po roce vyvinul do zralějšího stavu. Kromě toho jsme u pacientů pozorovali nezvratné znaky dysfunkce imunitní regulace. Zaprvé, regulační T-lymfocyty pacientů vykazovaly dysfunkční transkripční fenotyp, charakterizovaný sníženou expresí klíčových efektorových molekul, jako jsou FOXP3, IL2RA a TNFRSF9, a zvýšenou expresí GZMK, LAG3 a CD226. Zadruhé, zaznamenali jsme sníženou frekvenci Tr3-56 regulačních buněk, což je nedávno identifikovaná skupina buněk s významnými imunoregulačními funkcemi.

### Závěr

Naše výsledky zdůrazňují klíčovou funkci regulačních T-lymfocytů v patogenezi T1DM. Předmětem dalšího studia bude hypotéza, že dysfunkce regulačních lymfocytů populace je způsobena blokadí jejich vývoje, který je naznačen naivním fenotypem buněk imunitního systému pacientů v čase diagnózy.

## VLIV CYTOKINŮ A SOLUBILNÍCH PROTEINŮ NA IMUNITNÍ PROFIL PACIENTŮ S AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKEMIÍ

Ptáček A., Vaníková Š., Musil J.

*Oddělení imunomonitoringu a průtokové cytometrie, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha*

Akutní myeloidní leukemie (AML) je nejčastějším akutním leukemickým onemocněním dospělé populace. V AML dochází k hromadění nediferencovaných buněk myeloidní linie, tzv. myeloblastů, v kostní dřeni a k expanzi těchto buněk do periferní krve.

Imunitní systém chrání tělo před rozvojem maligních onemocnění eliminací transformovaných buněk. Tato funkce imunitního systému je však u AML zásadně ovlivněna leukemickým mikroprostředím a jeho imunitním kontextem. V mikroprostředí AML dochází k vzájemnému ovlivňování mezi leukemickými a imunitními buňkami, které je zprostředkované jak přímými mezibuněčnými interakcemi, tak prostřednictvím produkce cytokinů a dalších solubilních proteinů. Proto je cílem tohoto projektu detailní popis mikroprostředí AML z pohledu imunofenotypu imunitních a leukemických buněk a z pohledu hladin cytokinů a dalších solubilních proteinů.

Pro dosažení tohoto cíle projekt kombinuje detailní imunofenotypování imunitních a leukemických buněk pomocí panelu pro průtokovou cytometrii s 36 fluorescenčními parametry s měřením hladin cytokinů a solubilních proteinů v plazmě pomocí multiplexových LEGENDPlex panelů. Analyzovány jsou vzorky periferní krve pacientů při diagnóze a po dosažení remise a vzorky periferní krve zdravých dárců.

V získaných předběžných výsledcích jsme pozorovali možnou roli solubilních cytokinových receptorů v regulaci cytokinového mikroprostředí působením na základní prozánětlivé cytokiny, jako jsou TNF- $\alpha$  a IL-6. Dále jsme pozorovali zvýšené hladiny solubilního proteinu galectin-9 spolu se zvýšenou expresí jeho receptoru Tim3 na leukemických a imunitních buňkách pacientů. Tato osa může hrát důležitou roli v inhibici efektorových imunitních buněk a podpoře regulačních T-lymfocytů a leukemických buněk. U pacientů byla dále pozorována snížená exprese aktivačních receptorů NKG2D a DNAM-1 na imunitních buňkách, značící jejich sníženou schopnost eliminovat leukemické buňky.

Provedli jsme detailní analýzu imunitního profilu pacientů s AML. Pozorovali jsme, že solubilní cytokinové receptory mohou hrát důležitou roli v regulaci cytokinového mikroprostředí AML, stejně jako osa galectin-9 – Tim3. Dále jsme u pacientů pozorovali změny exprese aktivačních receptorů odrážející snížené schopnosti imunitních buněk eliminovat buňky AML.

## BIOLOGICKÁ LIEČBA CHRONICKEJ SPONTÁNEJ URTIKÁRIE – SKÚSENOSTI CENTRA

Petrovičová O.<sup>1,4</sup>, Nemilová Š.<sup>5</sup>, Bobčáková A.<sup>2,4</sup>, Jeseník M.<sup>1,3,4</sup>

<sup>1</sup> *Klinika detí a dorastu*

<sup>2</sup> *Klinika pneumológie a ftizeológie*

<sup>3</sup> *Oddelenie klinickej imunológie a alergológie*

<sup>4</sup> *Centrum pre ťažké a refraktérne alergické ochorenia,*

<sup>5</sup> *Ambulancia dermatologickej alergológie Dermatovenerologickej kliniky,*

*Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Univerzitná nemocnica Martin, SR*

### Cieľ práce

Anti – IgE monoklonová protilátka omalizumab (OMA) je druhou líniou v liečbe CSU (po základných a štvornásobných dávkach nesesatívnych antihistaminík) u jedincov starších ako 12 rokov. Cieľom práce bolo analyzovať súbor detských aj dospelých jedincov s refraktérnou CSU na liečbu omalizumabom.

### Materiál a metódy

Súbor tvorilo 145 jedincov (124 dospelých a 21 detí). Jedinci podstúpili komplexné vyšetrenie (anamnestické, fyzikálne, laboratórne), rovnako bolo u každého hodnotené týždenné urtikariálne skóre UAS7. Jednotlivé parametre boli štatisticky vyhodnotené a porovnané v jednotlivých skupinách.

### Výsledky

Z klinického fenotypu mala najväčšie zastúpenie urtikária s angioedémom u 91 (62,76 %) jedincov. Zaznamenali sme signifikantne vyšší výskyt chronickej indukovateľnej urtikárie u detí ako u dospelých. Z pridružených komorbidít sa najčastejšie vyskytovali alergické ochorenia, gastritída a gastroezofageálny reflux a autoimunitné ochorenia. U dospelých v porovnaní s deťmi bol signifikantne vyšší percentuálny počet eozinofilov aj počet eozinofilov v absolútnom počte.

Z hľadiska liečby štvornásobnú dávku nesesatívnych druhogeneračných antihistaminík malo viac detí ako dospelých. Omalizumab bol indikovaný u všetkých jedincov pre refraktérnosť na konvenčnú liečbu. Vek začatia liečby bol od 6 do 83 rokov, v celom súbore v priemere 42,94±18,26 rokov. U 4 detí bola liečba OMA začatá vo veku menej ako 12 rokov (*off-label* indikácia vzhľadom na vek). U 12 jedincov z celého súboru bola liečba OMA začatá vo veku nad 65 rokov. V tehotenstve a počas dojčenia bol OMA podávaný 1 pacientke. Počet 6-mesačných cyklov OMA a relapsov bol v priemere u dospelých vyšší v porovnaní s deťmi. U dospelých bolo UAS7 pred liečbou signifikantne vyššie ako u detí. Väčšina jedincov v súbore boli rýchli responderi. V korelačných analýzach sme zaznamenali signifikantný lineárny vzťah medzi výškou CRP a počtom cyklov omalizumabu.

### Záver

Naša práca s analýzou súboru 145 jedincov s CSU na liečbu omalizumabom je jediná na Slovensku a priniesla užitočné poznatky pre klinickú prax. Naše výsledky sa vo veľkej miere zhodujú s výsledkami zahraničných štúdií a kazuistických sérií.

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

Hulínková I.<sup>1</sup>, Medová V.<sup>2</sup>, Šoltýsová A.<sup>2</sup>, Dobšínska V.<sup>3</sup>, Čižnár P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Detská klinika Lekárskej fakulty Univerzity Komenského a Národného ústavu detských chorôb v Bratislave*

<sup>2</sup> *Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislave*

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

### Cieľ práce

TREC (T-cell receptor excision circles) predstavujú senzitivný 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 10<sup>6</sup> 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 10<sup>6</sup> 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). V skupine predčasne narodených novorodencov (n = 104) malo 3,8 % detí 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.

## CIELENÁ LIEČBA ŤAŽKÉHO ATOPICKÉHO EKZÉMU U DETÍ

Repko M., Deďová J., Neuschlová I., Rennerová Z.  
*Klinika detskej pneumológie a ftizeológie LF SZU a NÚDCH*

Atopická dermatitída je multifaktoriálne chronické zápalové ochorenie kože. Prejavuje sa ložiskami ekzému s charakteristickou lokalizáciou a svrbením a výrazne ovplyvňuje kvalitu života. Celosvetovo postihuje 10–20 % detí so stúpajúcou prevalenciou. Ochorenie je spojené s imunitnou dysreguláciou, T2 imunitnou reakciou a zvýšenou tvorbou cytokínov, najmä IL-4 a IL-13. Tie vedú k zvýšenej migrácii zápalových buniek (eozinofilov, mastocytov, bazofilov, B-lymfocytov) do postihnutých miest, čo je spojené s porušením kožnej bariéry, lokálnymi prejavmi ekzému a pruritom.

Liečba atopického ekzému je založená na pravidelnej lokálnej terapii emolienami a režimových opatreniach. Základom liečby pri akútnych prejavoch sú topické kortikoidy. Pri stredne ťažkej a ťažkej atopickej dermatitíde sú indikované imunosupresíva alebo biologická liečba zasahujúca rôznu úroveň zápalového procesu. K imunosupresívam, ktoré je možné použiť na liečbu ťažkej atopickej dermatitídy u detí, patrí cyklosporín A, metotrexát a azathioprin. Ich používanie musí byť pravidelne kontrolované a je limitované vážnymi nežiaducimi účinkami, ako sú nefrotoxicita, myelotoxicita či hypertenzia.

Ďalšou možnosťou je biologická liečba účinkujúca proti IL-4 a IL-13 a inhibícia Janusových kináz. Dupilumab je humanizovaná IgG4 protilátka proti alfa-reťazcu receptora pre IL-4 (IL-4R). Svojím účinkom inhibuje IL-4 a IL-13 rovnako ako T2 zápalovú odpoveď. Na Slovenku je indikovaný na liečbu atopickej dermatitídy od 12 rokov, podľa Európskej liekovej agentúry už od 6 mesiacov veku.

Ďalšou dostupnou cieľenou liečbou stredne ťažkého a ťažkého ekzému pre pacientov od 2 rokov je baricitinib, inhibítor Janusovej kinázy 1 a 2 a od 12 rokov upadacitinib, ktorý je selektívnym inhibítorom Janusovej kinázy 1.

Na Klinike detskej pneumológie a ftizeológie máme v liečbe dupilumabom pre ťažký atopický ekzém 6 pacientov vo veku od 3–17 rokov. Títo pacienti boli opakovane liečení systémovými kortikoidmi a následne niektorí aj cyklosporínom s nedostatočnou odpoveďou na liečbu alebo výskytom nežiaducich účinkov. Vzhľadom k tomu bola indikovaná liečba dupilumabom. Z liečby pacienti profitujú a zatiaľ nebol zaznamenaný výskyt nežiaducich účinkov.

V súčasnosti máme aj na Slovensku dostupné moderné možnosti liečby ťažkého atopického ekzému u detí, ktoré dokážu výrazne zlepšiť klinické prejavy, ako aj kvalitu života pacienta. Je preto potrebné na tieto možnosti myslieť a pri splnení indikačných kritérií liečbu ťažkého ekzému u detí zbytočne neodkladať.

## VYBRANÉ KLINICKÉ A LABORATÓRNE ASPEKTY BIOLOGICKEJ LIEČBY V MANAŽMENTE SYNDRÓMOV PERIODICKÝCH HORÚČOK

Šlenker B., Bobčáková A., Jurková Malicherová E., Kapustová D., Kapustová L., Jeseník M.

*Centrum pre periodické horúčky, Klinika detí a dorastu JLF UK a UN v Martine, Klinika pneumológie a ftizeológie UNM*

## Úvod

Hereditárne syndrómy periodických horúčok radíme ku vrodeným poruchám imunity, konkrétnejšie do skupiny autoinflamačných ochorení. Ide o skupinu porúch nešpecifickej imunity, u ktorých dochádza k narušeniu regulácie zápalu vplyvom viacerých, geneticky podmienených, mechanizmov, ktorých dôsledkom je nadmerná a nekontrolovaná aktivácia zápalovej reakcie. To sa prejavuje rekurentnými epizódami vzplanutia zápalu s pomerne pestrým klinickým obrazom, v ktorom dominujú najmä horúčky, ale aj ďalšie symptómy (napr. artralgie, myalgie, abdominalgie, kožný raš). Zápal však v tele perzistuje aj mimo týchto akútnych atakov, čo pri nesprávnej či nedostatočnej liečbe môže spôsobiť rôzne dlhodobé komplikácie – z nich najväčšou je rozvoj orgánovej amyloidózy (najmä obličiek).

Ku **syndrómom periodických horúčok** radíme – **FMF** (familiárnu stredomorskú horúčku), **TRAPS** (TNF receptor asociovaný periodický syndróm), **HIDS** (hyper IgD syndróm) / **MKD** (deficit mevalonátkinázy) a **CAPS** (*Cryopyrin-Associated Periodic Syndromes*) – kam patria **FCAS** (familiárny chladový autoinflamačný syndróm), **MWS** (Muckleov-Wellsov syndróm), **NOMID** (multi-systémová zápalová choroba novorodencov) / **CINCA** (chronický infantilný neurologický, kožný a kĺbny syndróm).

V minulosti sa v terapii týchto ochorení využívali nesteroidné antiflogistiká či kortikoidy, dnes sa využíva najmä kolchicín, ale u závažnejšie prebiehajúcich má význam biologická liečba, ktorá predstavuje aktuálne najúčinnější spôsob ich terapie. Veľký význam má terapeutická blokáda IL-1 $\beta$ , ktorý hrá dôležitú rolu v patofyziológii väčšiny z týchto syndrémov. Indikáciu na liečbu týchto ochorení má kanakinumab, ľudská monoklonálna protilátka proti interleukínu-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ).

V našom centre pre periodické horúčky je kanakinumabom aktuálne liečených 34 pacientov (z toho 31 dospelých a 3 detskí pacienti), 18 pacientov ženského a 16 pacientov mužského pohlavia. Konkrétne ide o 23 pacientov s FMF, 5 pacientov s TRAPS, 2 pacientov s HIDS a 3 pacientov s FCAS. U všetkých pacientov má liečba veľmi dobrý efekt, s úpravou klinických prejavov aj laboratórnych parametrov a je veľmi dobre tolerovaná.

## Záver

Syndrómy periodických horúčok sú raritnou skupinou autoinflamačných ochorení spôsobených dysreguláciou zápalovej reakcie. Biologická liečba predstavuje moderný, bezpečný a účinný spôsob ich liečby. Má vplyv na redukciu klinických prejavov, normalizáciu laboratórnych parametrov, s významným zlepšením kvality života pacientov a minimálnym množstvom nežiaducich účinkov. Okrem toho je veľmi prínosné aj minimalizovanie rizika rozvoja dlhodobých komplikácií týchto ochorení, ktoré boli v minulosti s nimi spájané, pre ich nesprávnu či nedostatočne účinnú liečbu.



## Mastocytární onemocnění

### PATOLOGIE ŽÍRNÝCH BUNĚK – NÁDOR, NEBO NEVÝZNAMNÁ DEGRANULACE?

Kučera P.

*Oddělení alergologie a klinické imunologie, Ústav imunologie a klinické biochemie, FNKV a 3. LF UK Praha*

#### Cíl

Onemocnění žírných buněk jsou velmi heterogenní, diagnostika obtížná a nové poznatky o nemoci a terapii stále přibývají. Sdělení přináší přehled současných znalostí.

Žírné buňky (mastocyty, MC) jsou původem myeloidní, tkáňově lokalizované buňky s imunomodulačními a efektorovými funkcemi. Za normálních okolností mají výraznou roli v protinfekční obraně, u nádorových, cévních a kardiálních onemocnění. Široká plejáda stavů, kdy změna morfologie a funkce mastocytů je primární nebo sekundární, má velmi pestrou symptomatologii.

Klasifikace onemocnění žírných buněk není jednotná; převažuje dělení na onemocnění primární, klonální (atypická morfologie MC, aktivační mutace KIT, CD25 exprese, elevace bazální tryptázy, která při podezření na hyper-alfa tryptazemii musí být adjustována na počet kopií genu – malá kritéria pro systémovou mastocytózu) a densní infiltráty MC – velké kritérium. Neklonální, sekundární onemocnění MC nemá přítomnou atypickou morfologii a fenotyp MC ani aktivační mutace a k degranulaci mastocytů dochází řadou aktivačních mechanismů. U části pacientů není mechanismus aktivace MC rozeznán.

Kromě anamnézy typických příznaků aktivace a degranulace žírných buněk (lze využít standardizované dotazníky), jsou měřeny mediátory MC, mutace KIT a multiplikace TPSAB1 genu. Řada příznaků aktivace MC (MCAS) přivádí pacienty do oboru alergologie a klinické imunologie, součástí diagnostického přístupu je též hledání B a C-symptomů. Některé prediktivní modely (REMA, NIH skóre aktivity) umožní lépe vybírat kandidáty pro vyšetření hematologem včetně vyšetření kostní dřevě. Kromě prevence aktivace žírných buněk, terapie příznaků aktivace MC využívá antimediatorová léčiva, stabilizátory MC, imunosupresi; preklinickými a prvními klinickými studiemi prochází látky způsobící depleci mastocytů, antagonisté aktivačních cest a agonisté inhi-  
bičních cest žírných buněk (MC silencing).

### NEMASTOCYTÁRNÍ TRYPTAZEMIE

Fuchs M.

*IMMUNO-FLOW, s. r. o., Praha*

Odhadem kolem 90 % nálezů vyšší bazální sérové tryptázy (bST), za kterou se považuje koncentrace vyšší než 11,4 µg/ml (dle některých zdrojů dokonce 8 µg/ml) má hereditární-alfa-tryptazemii (HαT).

Vyšší bST se přitom zjišťuje u více než 5 % populace západní Evropy i Spojených států. Za HαT je zodpovědný

vyšší počet kopií genu TPSAB1 kódující α-tryptázu, s dominantním typem dědičnosti. Zralá tryptáza z mastocytů je tetramer (2 β-tryptázy a 2 α-tryptázy); tryptáza detekovaná v séru u HαT je ve skutečnosti pro-tryptáza (α-tryptáza). Pro tuto pro-tryptázu nebyla zatím přesvědčivě potvrzena biologická funkce ve zdraví, ale ani v nemoci, proto je přinejmenším velmi obtížné spojovat HαT se specifickou symptomatologií.

Na druhé straně bylo prokázáno, že se u „symptomatických“ HαT nachází o něco vyšší počet mastocytů v kostní dřevě i ve sliznici trávicího traktu. HαT se nepochybně podílí na závažnosti a snad i vyšší frekvenci jak anafylaxe idiopatické, tak anafylaxe po bodnutí blanokřídlým hmyzem a zdá se, že i anafylaxe po konzumaci potravin.

HαT také zhoršuje průběh klonálních onemocnění mastocytů, včetně nepoměrně vzácnější systémové mastocytózy (SM). Na objasnění naopak čeká úloha HαT např. u syndromu dráždivého tračníku (IBS) a některých dalších onemocnění spojovaných s aktivací mastocytů.

Přínos včasného odběru (akutní sérová tryptáza, aST) pro diagnostiku systémové reakce nejasné etiologie je většinou lékařů dobře znám, přesto praktická realizace není zdaleka dostatečná. Doufejme, že v indikovaných případech, zejména u všech anafylaxi, nečeká stejný osud vyšetřování koncentrace bazální sérové tryptázy (bST).

### GENETICKÉ VYŠETŘENÍ U MASTOCYTÁRNÍCH ONEMOCNĚNÍ

Kalinová M.<sup>1,2</sup>, Žemličková M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Centrální laboratoře FNKV, Laboratoř genomické medicíny*

<sup>2</sup> *Ústav patologie 3. LF UK a FNKV*

Mastocytární onemocnění je skupina vzácných poruch spojených s abnormální funkcí mastocytů. Tyto poruchy zahrnují mastocytózu, která je charakterizovaná klonální proliferací mastocytů a syndrom aktivovaných mastocytů (MCAS), kdy dochází k nadměrné aktivaci mastocytů a uvolňování biologicky aktivních látek. Obě tyto poruchy mají 2–3× zvýšený výskyt hereditární α-tryptasemie, vyznačující se zvýšeným počtem kopií genu TPSAB1 a zvýšenou hodnotou sérové tryptázy. Mastocyty jsou odvozeny z pluripotentních progenitorových buněk kostní dřevě.

Poruchy mastocytů jsou často spojeny se specifickými genovými změnami. V rámci genetického testování můžeme vyšetřovat germinální a/nebo somatické mutace. V případě podezření na hereditární postižení či při klasifikaci MCAS probíhá analýza počtu kopií genu TPSAB1. Při testování somatických mutací je vždy nutné znát zastoupení mastocytů ve vyšetřovaném vzorku. Nejčastěji detekovaná somatická změna, a to jak u systémové mastocytózy, tak u klonálního MCAS, je mutace v genu KIT p.(D816V).

S rozvojem metodik založených na NGS byly detekovány mutace v dalších genech spojených s mastocytárním

onemocněním (TET2, ASXL1, CBL, RUNX1). Mezi genetické změny, detekované u systémové mastocytózy, je fúzní gen *FIP1L1::PDGFRA*.

V Centrálních laboratořích jsme zavedli screeningovou NGS metodu, která umožňuje analýzu změn v 74 genech spojených s hematologickými onemocněními. Dále jsme zavedli pomocí kvantitativního mutačně specifického PCR detekci mutace v genu *KIT* p.(D816V). Výsledky jsme porovnávali s metodou digitálního PCR. K detekci fúzí, exprese a variant využíváme RNA NGS.

Laboratoř vyšetřuje převážně pacienty se suspekci na systémovou mastocytózu. V případě identifikace mutace p.(D816V) genu *KIT* pacienty monitorujeme v průběhu terapie, a to jak ve vzorku mononukleárních buněk periferní krve a/nebo kostní dřeně, tak ve vzorku volné cirkulující DNA, případně v tkáních. Citlivost systému kvantitativní detekce mutace p.(D816V) genu *KIT* je  $1 \times 10^{-5}$ .

Genetické testování pacientů s mastocytárními onemocněními má obrovský význam v rámci komplexní diagnostiky. Diagnostický proces je důležitý pro správné zařazení onemocnění a následnou terapii (u systémové mastocytózy je možné využít cílenou terapii pomocí tyrosinkinázových inhibitorů).

*Tato práce vznikla za podpory Univerzity Karlovy (Projekt Cooperatio Medicínská diagnostika).*

## STANOVENÍ TRYPTÁZY – KDY A PROČ?

Zikeš M.<sup>1,2,3</sup>, Kučera P.<sup>1,2,3</sup>, Kozák T.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Oddělení alergologie a klinické imunologie FNKV, Praha

<sup>2</sup> Laboratoř klinické imunologie CL FNKV, Praha

<sup>3</sup> Ústav imunologie a klinické biochemie 3. LF UK, Praha

<sup>4</sup> Hematologická klinika 3. LF UK a FNKV, Praha

### Úvod

Tryptáza slouží jako ukazatel degranulace mastocytů u anafylaxe a syndromu aktivace mastocytů. Stanovení *post mortem* se provádí k potvrzení anafylaktické příčiny smrti. Zvýšení bazální sérové tryptázy se vyskytuje

u hereditární tryptazemie, mastocytóz, jiných myeloproliferací, chronického onemocnění ledvin a dalších stavů.

### Cíl práce

Podat přehled indikací, podmínek a interpretací stanovení hladiny sérové tryptázy.

### Materiál a metody

Byli identifikováni pacienti s elevací tryptázy a dostupnými informacemi v období 2005–2023. Měření tryptázy probíhalo fluorescenční enzymoimunoanalýzou (ImmunoCAP Phadia 250), podle výrobce byly považovány za zvýšené hodnoty  $> 11,4 \mu\text{g/l}$ .

### Výsledky

Nejčastěji bylo indikováno stanovení bazální tryptázy. Její zvýšená koncentrace se vyskytovala především u mastocytóz systémových i kožních, u alergie na jed blanokřídlého hmyzu charakteru anafylaxe v anamnéze, dále u různých urtikarií a angioedémů, v nižších počtech i u jiných myeloproliferativních poruch (např. myelodysplastického syndromu, hypereozinofilního syndromu, leukémií, myelomu, lymfomu aj.), u anafylaxi v anamnéze z jiných příčin, u dyspepsií a projevů typu flush v rámci syndromu aktivace mastocytů, u vzácného případu mastocytární kolitidy a u dalších diagnóz. Onemocnění ledvin bylo zaznamenáno v jednotkách případů, nebylo zkoumáno primárně. Stanovení tryptázy lékaři indikovali i v průběhu akutních stavů a *post mortem* k potvrzení anafylaxe. Často indikovali vyšetření tryptázy alergologové a hematologové.

### Závěry

Zvýšenou bazální tryptázu lze podle literatury nalézt u 4–6 % běžné populace. Nejčastější příčinou je hereditární  $\alpha$ -tryptazemie, autozomálně dominantní porucha, u které se diskutuje o možných klinických projevech a asociacích. K její diagnostice je zapotřebí genetické vyšetření, které však není rutinně prováděno. Standardně se měří pouze celková hladina tryptázy bez rozlišení izoformy  $\alpha$  a  $\beta$ , což může znesnadňovat diferenciální diagnostiku. Spektrum poruch s elevací bazální tryptázy je velmi široké. Stanovení tryptázy během akutních stavů a *post mortem* slouží jako ukazatel anafylaxe. Referenční rozmezí metody jsou stále diskutována, mezní hodnoty se liší dle indikace.

## Imunologicky podmíněné poruchy plodnosti

### ÚTOK IMUNITY V PORODNICTVÍ

Lešťan M.<sup>1</sup>, Černá K.<sup>2</sup>, Ulčová-Gallová Z.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Imuno-alergologické centrum, Prešov

<sup>2</sup> Ambulance alergologie a klinické imunologie, GENNET, s. r. o.

<sup>3</sup> NEXTCLINICS a NEXTLAB, GENETIKA, Plzeň

### Cíl

Autoři této přednášky budou analyzovat příčiny lidské plodnosti s ohledem na neuro-endokrinně-imunitní systém. Přednáška bude rozdělena na prekoncepční období,

implantaci a časnou graviditu, těhotenství, průběh porodu a šestinedělí.

### Materiál a metody

Logický sled fyziologických i patologických pochodů od implantace po porod bude obohacen nejen kompilátními znalostmi, ale i vlastními zkušenostmi v oboru reprodukční imunologie, gynekologie a porodnictví.

### Výsledky

Obě klinická, erudovaná pracoviště představí své výsledky v reprodukční imunologii jednou kazuistikou.

**Závěr**

Chceme ukázat na naše diagnostické i léčebné postupy u snížené plodnosti podmíněné právě imunologicky.

### PERSONALIZOVANÁ LÉČBA TECHNIKAMI ASISTOVANÉ REPRODUKCE: ÚLOHA IMUNOLOGICKÝCH VYŠETŘENÍ

Adamcová K.<sup>1,2</sup>, Luxová Š.<sup>3</sup>, Šestinová A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centrum asistované reprodukce GENNET, spol. s r. o.

<sup>2</sup> Klinika gynekologie, porodnictví a neonatologie I. LF UK a VFN v Praze

<sup>3</sup> Imunologická laboratoř GENNET, spol. s r. o.

Úspěšnost asistované reprodukce stále více souvisí s metodou kryokonzervace embryí a jejich následným přenosem do dělohy. Nejdůležitějšími faktory jsou správná příprava endometria, zajištění receptivity a synchronizace děložní sliznice s vývojem embrya. V roli hlavních regulátorů zůstávají estradiol a progesteron. Ve skupině žen s opakovaným implantačním selháním či opakovanými těhotenskými ztrátami však dostává prostor i využití dalších moderních metod. Ty umožňují personalizovanou péči o tento typ pacientů.

Ke zvýšení úspěšnosti léčby poruch reprodukce mohou přispět i imunologická vyšetření. Kromě odhalení a následné léčby onemocnění, jako jsou např. antifosfolipidový syndrom nebo celiakie, se stále častěji věnuje pozornost buněčné imunitě. Pro úspěšnou implantaci embrya a jeho následný vývoj je důležité správné nastavení imunitního systému dělohy. Zde se mohou uplatnit vyšetření fenotypizace lymfocytárních populací, především uterinních NK-buněk nebo stanovení poměru Th1/Th2 subpopulací.

### PORUCHY PLODNOSTI U ADOLESCENTŮ S VARIKOKÉLOU

Drlik M.

Urologická klinika I. LF UK a VFN, Praha

Varikokéla je definována jako patologické rozšíření plexus pampiniformis. Postihuje 15 % adolescentů a až ve 20 % případů vede k poruše funkce varlat.

V dospělé populaci je považována za nejčastější léčitelnou příčinu mužské neplodnosti, ale již v adolescenci mohou varikokélu provázet porucha růstu jednoho či obou varlat, porucha spermiogeneze a vzácně i hormonální změny. Vzhledem ke skutečnosti, že v tomto věku ještě nelze hovořit o neplodnosti, současný výzkum se zaměřuje na stanovení vhodných prognostických faktorů, které by pomohly identifikovat jedince ohrožené budoucí neplodností.

Indikace k léčbě jsou však v odborné veřejnosti stále předmětem diskuse.

Přehledové sdělení se zaměřuje na současné obecně přijímané indikace k léčbě a způsob léčby varikokély v adolescentním věku.

### PORUCHY PLODNOSTI U ADOLESCENTŮ S VARIKOKÉLOU

Krátká Z.<sup>1</sup>, Drlik M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Imunologická laboratoř, Gennet s. r. o., Praha

<sup>2</sup> Urologická klinika I. LF UK a VFN, Praha

**Úvod**

Varikokéla je definována jako patologické rozšíření plexus pampiniformis, postihuje 15 % adolescentů a až ve 20 % případů vede k poruše funkce varlat. V dospělé populaci je považována za nejčastější léčitelnou příčinu mužské neplodnosti, ale již v adolescenci mohou varikokélu provázet porucha růstu varlat, porucha spermiogeneze a vzácně i hormonální změny. Současný výzkum se zaměřuje na stanovení vhodných vyšetření, která by pomohla identifikovat jedince ohrožené budoucí neplodností, včetně vyšetření prováděných v imunologické laboratoři.

**Cíl**

Cílem studie bylo nastavení vhodných diagnostických postupů pro indikaci mladých pacientů s varikokélou k léčbě.

**Metody**

Probíhající studie zahrnuje chlapce ve věku 15–17,9 roku ve stadiu puberty označovaném Tanner 5, bez dalšího onemocnění potenciálně postihujícího funkci varlat. Kontrolní skupinu tvořilo 37 dobrovolníků bez varikokély. Při vstupním vyšetření jsme hodnotili objem varlat a kvalitu spermií ve 2 odběrech spermatu odebraného v odstupu 4 týdnů. U všech pacientů jsme v ejakulátu hodnotili parametry stanovované mikroskopicky spermioqramem (celkový počet spermií, pohyblivost, morfologii) a cytometricky (% živých spermií, životnost, % spermií s poškozeným akrozomem a % spermií s fragmentovanou DNA).

**Výsledky**

Toto sdělení je zaměřeno na kontrolní skupinu adolescentů. Pouze 30 ze 37 chlapců mělo alespoň jednu normozoospermii, 7 osob (19,8 %) mělo opakovaně patologický spermioqram. Z hodnot cytometrických vyšetření jsme stanovili normy pro jednotlivé parametry. Překvapivý byl pro nás vyšší výskyt spermií s permeabilizovaným akrozomem (medián 38,6 %, norma u dospělých 30 %). Analýzou dlouhodobých laboratorních dat u dospělých mužů jsme zjistili, že v letech 2016–2023 došlo k nárůstu mediánu tohoto parametru u mužů s dg. neplodnosti z 29,4 % na 48,2 %.

**Závěr**

U zdravých adolescentů jsme stanovili normy pro cytometrická vyšetření kvality ejakulátu, potřebné pro dokončení studie vlivu léčby adolescentů s varikokélou na kvalitu ejakulátu. Současně jsme zjistili dlouhodobý nárůst mediánu % spermií s permeabilizovaným akrozomem u dospělých mužů z neplodných párů, což může být jedna z příčin neschopnosti spontánního početí v populaci.

**IMUNOPATOLOGIE ROZTROUŠENÉ SKLERÓZY MOZKOMÍŠNÍ**

Krejsek J.

*Ústav klinické imunologie a alergologie, LF UK a FN Hradec Králové*

Roztroušená skleróza (RS) je imunopatologické neurodegenerativní onemocnění s vysokou prevalencí v naší populaci. Patří mezi nejlépe prozkoumané imunopatologické nemoci. Díky velkému množství klinických nálezů a informací získaných studiem zvířecích modelů, napodobujících RS, jsou základní charakteristiky poškozujícího zánětu u nemocných s RS popsány natolik, že jsou základem léčebných postupů, které prokázaly v klinických studiích účinnost. Všechny tyto léčebné postupy cílí na různé terče v poškozujícím zánětu u nemocných s RS.

Původní představa, že onemocnění je v začátku charakterizováno vysokou aktivitou poškozujícího zánětu, který postupně vyhasíná s přesmykem k neurodegenerativním procesům, je překonána. Je zřejmé, že oba procesy probíhají současně a jsou vzájemně provázány. Zatímco léčebné zásahy do poškozujícího zánětu jsou dostupné a významně pozitivně zasáhnou do přirozeného vývoje RS většiny nemocných, zůstává ovlivnění neurodegenerativních procesů zatím bez možnosti léčebného ovlivnění. Je zřejmé, že i terapeutické zásahy do neurodegenerativních procesů budou pravděpodobně zprostředkovány léčebnou modulací poškozujícího zánětu s cílem stimulovat neuroprotektivní a neuroreparační procesy v CNS.

Etiopatogeneze RS je komplexní. Genetická predispozice k rozvoji onemocnění je relativně slabá. Je jednoznačně doloženo, že iniciaci a rozvoj poškozujícího zánětu u nemocných s RS ovlivňují faktory vnějšího světa. Z nich nejlépe je popsán vliv virových infekcí, konkrétně infekce virem Epstein–Barrové (EBV). Virem EBV je promořeno více než 90–95 % dospělé populace a tento virus se podílí na celé řadě patologií u nemocných, u kterých selhala imunitní kontrola latentní infekce EBV.

V případech RS jsou důkazy, že EBV infikuje paměťové B-lymfocyty, které byly mimo jiné prokázány v terciálních lymfatických strukturách v mozkové tkáni. Jejich přítomnost pravděpodobně iniciuje a nepochybně udržuje aktivitu poškozujícího zánětu u nemocných s RS. Pravdivost tohoto konceptu je nepřímou doložena vysokou účinností depleční terapie zaměřené na zralé B-lymfocyty.

Na základě poznatků, především klinických, je zřejmé, že k iniciaci onemocnění dochází s velkým časovým předstihem před klinickými projevy onemocnění. I tato skutečnost přináší další nepřímé důkazy o možném zapojení EBV.

**AUTOIMUNITNÍ ENCEFALITIDY**

Libá Z.

*Klinika dětské neurologie 2.LF UK a FN Motol, Praha*

Autoimunitní encefalitidy tvoří skupinu velice vzácných onemocnění centrálního nervového systému (CNS). Jejich podstatou je bezprostřední narušení správné funkce neuronů různými mechanismy. V rámci základních kategorií lze rozlišit protilátkově zprostředkované a buněčně zprostředkované autoimunitní encefalitidy. Triggerem neadekvátní imunologické odpovědi mohou být infekční nebo nádorová onemocnění. Cílové antigenní struktury mohou působit extracelulárně nebo intracelulárně. Některé protilátky proti extracelulárním antigenům mohou pouze narušit synaptická spojení mezi neurony a nevedou k vlastnímu poškození nervové tkáně.

Autoimunitní encefalitidy postihují prakticky všechny věkové kategorie, ale jejich přesná incidence není většinou známa. Vyznačují se pestrými neurologickými projevy, které se mohou dynamicky vyvíjet v čase. Typické jsou neuropsychiatrické příznaky: různé typy epileptických záchvatů zahrnující status epilepticus, poruchy chování, halucinace, poruchy paměti, poruchy spánku, hybné poruchy charakteru dystonií, dyskínéz, vyčerpávající psychomotorické neklidy, automatické komplexní pohyby, mozečková symptomatologie a v neposlední řadě autonomní instabilita s rizikem úmrtí.

Diagnostika autoimunitních encefalitid se opírá o klinický obraz, nález v mozkomíšním moku a na magnetické rezonanci a dalších pomocných vyšetřeních. Svízelné ovšem je, že běžně prováděná laboratorní vyšetření mohou mít normální nálezy a onemocnění lze prokázat až specifickými laboratorními technikami, pokud se na ně pomýšlí. Okruh diagnostických možností se dále postupně rozšiřuje, i když mnohá vyšetření jsou zatím na úrovni vědeckého výzkumu.

Terapie a celková prognóza se liší podle typu autoimunitní encefalitidy a věku pacienta.

Sdělení bude zaměřeno na představení pestré skupiny autoimunitních encefalitid, jejich etiopatogeneze, aktuálních možností jejich průkazu a bude doplněno o některé kazuistické příklady.

**NEUROMYELITIS OPTICA A ONEMOCNĚNÍ JEJÍHO ŠIRŠÍHO SPEKTRA – NOVÉ MOŽNOSTI TERAPIE**

Nytrová P.

*Neurologická klinika 1. LF UK a VFN v Praze*

Neuromyelitis optica (NMO, známá též jako Devicův syndrom) a onemocnění jejího širšího spektra (NMOSD) řadíme do skupiny autoimunitních onemocnění centrálního nervového systému, typicky postihující zrakové nervy, míchu, mozkový kmen a méně často i supratentoriální oblasti mozku.

Původní koncept monofázického syndromu s bilaterálním postižením zrakových nervů a míchy je již v 21. století překonán. K definitivnímu odlišení NMO a roztroušené sklerózy (RS) výrazně přispěl objev

sérových autoprotilátek proti akvaporinu-4 (AQP4-IgG), dříve známých jako NMO-IgG. Tyto protilátky nacházíme přibližně u 80 % pacientů s klinickým obrazem NMO a jsou pro toto onemocnění specifické.

U přibližně 20 % pacientů s klinickým obrazem neuromyelitis optica však AQP4-IgG nenacházíme. Jedná se o heterogenní skupinu pacientů, přičemž část z nich vykazuje pozitivitu jiných autoprotilátek, např. proti myelinovému oligodendrocytárnímu glykoproteinu (MOG-IgG), a tak se vyčlenila nová klinická jednotka – onemocnění asociované s protilátkami proti myelinovému oligodendrocytárnímu glykoproteinu (MOGAD). Proto se rozlišuje AQP4-IgG<sup>poz</sup>NMOSD, která je primární astrocytopatií, a AQP4-IgG<sup>neg</sup>NMOSD, což má zásadní význam pro nastavení dlouhodobé léčby cílící na prevenci relapsů, které jsou podstatou invalidity pacientů.

Právě v této oblasti došlo k významnému pokroku a dostupnosti on-label terapie pro AQP4-IgG<sup>poz</sup>NMOSD, která zahrnuje ekulizumab/ravulizumab (inhibitory C5 složky komplementu), inebilizumab (monoklonální protilátku proti CD19 molekule) a satralizumab (monoklonální protilátku proti receptoru pro interleukin-6).

*Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg.č. NU23-05-00462.*

#### **SLEDOVÁNÍ AKTIVITY IMUNITNÍHO SYSTÉMU U PACIENTŮ S ROZTROUŠENOU SKLERÓZOU POMOCÍ TESTU QUANTIFERON® MONITOR**

Souček O.<sup>1</sup>, Součková I.<sup>1</sup>, Pavelek Z.<sup>2</sup>, Krejsek J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ústav klinické imunologie a alergologie, Fakultní nemocnice Hradec Králové a Lékařská fakulta v Hradci Králové (UK)

<sup>2</sup> Neurologická klinika, Fakultní nemocnice Hradec Králové a Lékařská fakulta v Hradci Králové (UK)

#### **Cíl**

Moderní biologická terapie roztroušené sklerózy (RS) přinesla nadějně léčebné výsledky a významné zlepšení kvality života pacientů s RS. Biologická terapie velmi efektivně cílí na dysregulovaný imunitní systém jako na klíčového činitele v patofyziologii RS, s čímž však vystává naléhavá otázka funkční kapacity tlumené imunity spojená s případným zvýšeným rizikem infekcí a rozvojem sekundárního imunodeficitu.

#### **Materiál a metody**

Záměrem studie bylo provést funkční test QuantiFERON® Monitor založený na detekci interferonu gama (IFN $\gamma$ ) z nespecificky stimulovaných buněk vrozené i adaptivní imunity u pacientů s relabující – remitující formou RS léčených fingolimodem (fRS), pacientů s neléčenou sekundárně progresivní formou RS (pRS) a u kontrolní skupiny osob bez RS. Z aktivované plazmy bylo dále provedeno multiplexové vyšetření panelu cytokinů s následným citlivým stanovením hladin IL-1 $\alpha$ , IL-1ra, IL-6 a VEGF.

#### **Výsledky**

Bylo zjištěno, že obě formy RS jsou oproti kontrolní skupině spojeny s nižší produkcí IFN $\gamma$  po stimulaci, pacienti s fRS však vykazovali vyšší hladiny IL-1 $\alpha$ , IL-1ra i IL-6 v aktivované plazmě než kontrolní soubor i pacienti s pRS. Skupina pacientů s pRS vykazovala statisticky vyšší hladiny IL-1ra, avšak nižší hladiny IL-1 $\alpha$  než kontrolní skupina.

#### **Závěr**

Studie přinesla informaci, že míra aktivace imunitního systému u pacientů s RS není identická s kontrolní skupinou bez ohledu na formu choroby; každá se zkoumaných skupin navíc po aktivaci vykazuje svébytný cytokinový podpis. Výsledky studie nicméně nesvědčí o jednoznačné a hluboké supresi imunitního systému.

## **Interakce imunitního systému s mikroby**

#### **ATOPICKÁ DERMATITIDA V DĚTSKÉM VĚKU – ROLE STŘEVNÍHO A KOŽNÍHO MIKROBIOMU**

Poloučková A.<sup>1,2</sup>, Kopelentová E.<sup>1</sup>, Šedivá A.<sup>1</sup>, Tlaskalová-Hogenová H.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Ústav imunologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Motol, Praha

<sup>2</sup> Allergomedia, s. r. o., Praha

<sup>3</sup> Laboratoř buněčné a molekulární imunologie, Mikrobiologický ústav AV ČR, v. v. i., Praha

Atopická dermatitida (AD) je nejčastější chronické závažné onemocnění v dětském věku s velkou klinickou heterogenitou a multifaktoriální etiopatogenezi vyplývající ze vzájemné interakce poškozené kožní bariéry, imunitní dysregulace, mikrobiální dysbiózy, genetických faktorů a faktorů životního prostředí.

V dětském věku je AD spojena s predispozicí pro rozvoj potravinové alergie (PA), a potravinové alergeny jsou tak možným vyvolávajícím faktorem exacerbací AD. Potravinová alergie nemusí být pouze IgE mediována, ale na exacerbacích AD se může podílet i non IgE mediována alergie, případně oba typy.

Studie ukazují, že složení mikrobiomu je důležitým faktorem ovlivňujícím vývoj obou onemocnění. Předpokládáme, že nejen střevní, ale i kožní mikrobiom hraje významnou roli v imunopatogenezi pacientů s atopickou dermatitidou a potravinovou alergií.

V rámci naší studie jsme analyzovali kohortu 212 dětí s atopickou dermatitidou a potravinovou alergií a 33 zdravých kontrol od 3 měsíců do jednoho roku věku, u kterých jsme následně hodnotili tíži AD, přítomnost senzibilizace a/nebo alergie k potravinovým alergenům stanovením specifických IgE nebo pomocí eliminačně expozičních

testů. Dále jsme analyzovali složení kožního a střevního mikrobiomu, vybrané sérové markery a sledovali jsme imunitní odpověď lymfocytů periferní krve na mikrobiální stimuly.

Prokázali jsme, že dětští pacienti s AD a PA mají specifické změny ve složení kožního a střevního mikrobiomu a hladin některých markerů alergické reakce v séru v závislosti na typu (IgE/non-IgE) alergické reakce na bílkovinu kravského mléka v porovnání se zdravými kontrolami. Zlepšení průběhu atopické dermatitidy je doprovázeno změnou v zastoupení regulačních T-lymfocytů, především těch, které specificky směřují do kůže nebo do střeva.

*Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. NU20-05-00038.*

## FEKÁLNÍ MIKROBIÁLNÍ TERAPIE – VÝZVA PRO IMUNITNÍ SYSTÉM? MECHANISMUS, INDIKACE, ZKUŠENOSTI A PERSPEKTIVY

Vejmelka J., Kohout P.

*Interní klinika 3. LF UK a FTN, Praha*

Fekální mikrobiální terapie představuje nástroj modulace střevní mikrobioty se slibným léčebným potenciálem. Efekt této terapie v prevenci rekurencí závažné klostridiové střevní infekce přesahuje 80 %.

V ostatních indikacích se jedná o experimentální užití.

Fekální mikrobiota zdravého dárce pomůže obnovit rovnováhu ve střevní mikrobiotě pacienta, čímž podpoří střevní bariéru, sníží slizniční zánět a ovlivní vztah mezi vrozenou a adaptivní imunitou s cílem zabránit rozvoji autoimunitní reakce.

Sdělení uvádí zkušenosti získané v rámci klinické studie MISCEAT, která byla určena pacientům se syndromem dráždivého tračníku. Fekální mikrobiální terapie významným způsobem ovlivnila složení střevní mikrobioty pacientů.

Uvádíme rovněž perspektivy, které přináší univerzální dárcovská banka stolice.

## LITERATURA

- van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, Fuentes S, Zoetendal EG, de Vos WM, Visser CE, Kuijper EJ, Bartelsman JF, Tijssen JG, Speelman P, Dijkgraaf MG, Keller JJ. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med*. 2013 Jan 31;368(5):407–15. doi: 10.1056/NEJMoa1205037. Epub 2013 Jan 16. PMID: 23323867.
- Khoruts A, Sadowsky MJ. Understanding the mechanisms of faecal microbiota transplantation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016 Sep;13(9):508–16. doi: 10.1038/nrgastro.2016.98. Epub 2016 Jun 22. PMID: 27329806; PMCID: PMC5909819.
- Hurych J, Vejmelka J, Hlinakova L, Kramna L, Larionov V, Kulich M, Cinek O, Kohout P. Protocol for faecal microbiota transplantation in irritable bowel syndrome: the MISCEAT study – a randomised, double-blind cross-over study using mixed microbiota from healthy donors. *BMJ Open*. 2022 Jun 27;12(6):e056594. doi: 10.1136/bmjopen-2021-056594. PMID: 35760542; PMCID: PMC9237876.
- Yang R, Chen Z, Cai J. Fecal microbiota transplantation: Emerging applications in autoimmune diseases. *J Autoimmun*.

2023 Dec;141:103038. doi: 10.1016/j.jaut.2023.103038. Epub 2023 Apr 26. PMID: 37117118.

- <https://bsrr.cz>

## CO (NE)VÍME O STŘEVNÍM MIKROBIOMU?

Schwarzer M.

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

Zájem o výzkum lidského mikrobiomu během posledních dvou desetiletí exponenciálně vzrostl. Záplava informací o střevním mikrobiomu navozuje dojem, že oni tajemní a neviditelní obyvatelé našich střev jsou loutkáři, kteří tahají za nitky našich životů, našeho zdraví a naší nemoci.

Zvýšení zájmu široké veřejnosti o problematiku mikrobiomu s sebou nese nerealistická očekávání a opakování nepodložených nebo slabě vědecky podložených tvrzení, která se tím stávají všeobecně přijímanou pravdou. Tyto mýty a pověry pak mohou brzdit pokrok vědeckého poznání a podkopávat důvěru veřejnosti ve výzkum jako takový. V čase vymezeném pro přednášku bych se chtěl dotknout některých těchto mikrobiomových mýtů a mylných představ, které postrádají solidní důkazní základ, a v kontextu současné vědecké literatury se je pokusit uvést na pravou míru.

*Poděkování: Grant MŠMT Mluvíme s mikroby – porozumění mikrobiálním interakcím v konceptu One Health (OP JAK – INTER-MICRO reg. č.: CZ.02.01.01/00/22\_008/0004597).*

## KOLONIZACE MIKROBIOTOU PACIENTŮ S ATOPICKOU DERMATITIDOU A POTRAVINOVOU ALERGIÍ OVLIVŇUJE TÍŽI TĚCHTO ONEMOCNĚNÍ V EXPERIMENTÁLNÍM MYŠÍM MODELU

Šrůtková D.<sup>1</sup>, Švábová T.<sup>1</sup>, Jelínková A.<sup>1</sup>, Jirásková Zákostelská Z.<sup>2</sup>, Thon T.<sup>2</sup>, Poloučková A.<sup>3</sup>, Kopelentová E.<sup>3</sup>, Makovický P.<sup>4</sup>, Tlaskalová-Hogenová H.<sup>2</sup>, Šedivá A.<sup>3</sup>, Schwarzer M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Laboratoř gnotobiologie, Mikrobiologický ústav AV ČR, v. v. i., Nový Hrádek*

<sup>2</sup> *Laboratoř buněčné a molekulární imunologie, Mikrobiologický ústav AV ČR, v. v. i., Praha*

<sup>3</sup> *Ústav imunologie, 2. LF UK a Fakultní nemocnice v Motole, Praha*

<sup>4</sup> *Ústav histologie a embryologie, LF Ostravské univerzity, Ostrava*

## Cíl

Atopická dermatitida (AD) je často doprovázena následným rozvojem potravinové alergie (FA) v důsledku epikutánní senzibilizace (EC) potravinovými alergeny. K jejímu rozvoji přispívají faktory prostředí, jako je kožní a střevní mikrobiální dysbióza. Role kožní a střevní mikrobioty izolované od dětí s AD+FA na epikutánní senzibilizaci a rozvoj symptomů potravinové alergie byly sledovány v experimentálním myším modelu.

## Metody

Bezmléčnými myši byly kolonizovány střevní mikrobiotou vybraných kojenčů s projevy AD a zvýšenými IgE protilátkymi proti potravinovým alergenům nebo mikrobiotou zdravých, plně kojených dětí. Stery kožní mikrobioty pacientů z nejvíce zasaženého místa (tvář + krk) a zdravých kontrol byly aplikovány na kůži experimentálních myší. Myši byly senzibilizovány epikutánní aplikací ovalbuminu (OVA) na oholenou a stripovanou kůži pomocí lepicí pásky pro porušení kožní bariéry. Poté byla u myší indukována potravinová alergie pomocí intragastrického podávání OVA každý 2.–3. den po dobu 2 týdnů.

## Výsledky

U myší kolonizovaných mikrobiotou AD-pacientů vedla epikutánní senzibilizace a aplikace OVA k indukci anafylaktické hypotermie (detekována 15 minut po aplikaci). Tyto myši vykazovaly zvýšené hladiny OVA-specifických IgE a IgG1 protilátek v séru. Histologická analýza prokázala významný výskyt žírných buněk v jejunu těchto myší.

Na druhé straně kolonizace střevní a kožní mikrobiotou zdravých dětí vedla u myší pouze k mírným projevům onemocnění. Sekvenční analýza střevního a kožního mikrobiomu byla provedena ve vzorcích stolice a kožních stěrů myší odebraných během experimentu. Zjistili jsme, že diverzita i relativní zastoupení střevního mikrobiomu se v průběhu experimentu mění v závislosti na aplikaci OVA, avšak odlišným způsobem u myší kolonizovaných patientskou mikrobiotou a u myší s mikrobiotou zdravých kontrol.

U zdravých kontrol jsme detekovali zvýšený výskyt bakterií řádu *Actinobacteria* (zahrnující rod *Bifidobacterium*) a *Clostridia* spolu s nezměněnou  $\alpha$ -diverzitou (Shannon entropy). Naopak, u myší kolonizovaných mikrobiotou pacientů došlo po indukci potravní alergie k poklesu bakteriální diverzity, snížení výskytu zástupců řádu *Gammaproteobacteria* a *Actinobacteria* a relativnímu zvýšení počtu bakterií *Clostridia* a *Negativicutes*. Změny v kožním mikrobiomu myší jsou více závislé na původní kolonizaci mikrobiotou daného pacienta nebo zdravé kontroly.

## Závěr

Kolonizace střevní a kožní mikrobiotou pacientů s AD+FA specificky ovlivňuje epikutánní senzibilizaci vůči OVA a indukci projevů potravní alergie, jako je anafylaktická hypotermie a infiltrace žírných buněk do střevní sliznice v myším experimentálním modelu.

*Podpořeno Agenturou pro zdravotnický výzkum ČR (NU20-05-00038); Mluvíme s mikroby – porozumění mikrobiální interakcím v konceptu One Health (CZ.02.01.01/00/22\_008/0004597).*

## INFEKCE VIREM EPSTEINA–BARROVÉ: NEJEN MNOŽSTVÍ, ALE HLAVNĚ VLASTNOSTI INFIKOVANÝCH BUNĚK ROZHODUJÍ

Zachová K.<sup>1</sup>, Městěcký J.<sup>2</sup>, Raška M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ústav imunologie, LF Univerzity Palackého v Olomouci a Fakultní nemocnice Olomouc

<sup>2</sup> Department of Microbiology, University of Alabama at Birmingham, Birmingham, USA

## Úvod

Virus Epstein–Barrové infikuje převážně B- a T-lymfocyty, přičemž incidence v populaci je vyšší než 95 %. I přes vysoké procento infikovaných bezpříznakových jedinců je tato infekce spojována s mnoha závažnými onemocněními infekčního (s infekční mononukleózou), maligního (s nazofaryngeálním karcinomem, Burkittovým lymfomem, Hodgkinovým lymfomem aj.) nebo autoimunitního charakteru (se systémovým lupus erythematoses, IgA nefropatií, roztroušenou sklerózou a zánětlivými onemocněními střev).

Jedním ze zásadních faktorů určujících potenciaální patogenitu viru se zdá být věk infikované osoby a subpopulace infikovaných buněk. Tato studie se zaměřuje právě na specifické EBV+ buněčné populace, které by mohly mít významný vliv na vyvolání nebo progresi zmíněných onemocnění.

## Metody

Kombinací multiparametrické cytometrické fenotypizace a *in situ* hybridizace s využitím fluoroforem značené EBV RNA-specifické DNA sondy byly charakterizovány EBV pozitivní buňky. Jejich izotyp, fenotyp a exprese migračních molekul byly porovnány s buňkami neinfikovanými.

## Výsledky

Naše studie zaměřená na charakterizaci B-lymfocytů v periferní krvi odhalila podstatné rozdíly ve fenotypu i migračním chování PBMC buněk infikovaných virem Epstein–Barrové a buněk neinfikovaných.

Zjistili jsme, že EBV-pozitivní B-buňky jsou převážně IgM+ paměťové B-lymfocyty nebo IgA+ a IgM+ plazmablasty/plazmatické buňky. Navíc, migrační potenciál EBV+ a EBV-populací se významně liší. EBV infikované B-lymfocyty exprimují významně méně  $\alpha$ 4 $\beta$ 1 a  $\alpha$ 4 $\beta$ 7 integrinů, ale více CCR5 a CCR7 chemokinových receptorů, což naznačuje migraci do sekundárních lymfatických orgánů, např. do uzlin nebo sleziny.

Výjimkou je populace EBV+ PB/PC, která má zvýšenou expresi  $\alpha$ 4 $\beta$ 7, CCR9 a CCR10 na rozdíl od neinfikovaných buněk, a pravděpodobně tak migruje do mukózních tkání, jako jsou GALT nebo NALT, což dokazuje i fakt, že se jedná převážně o IgA+ buňky.

## Závěr

Kombinace *in situ* hybridizace s průtokovou cytometrií umožňuje identifikaci buněk infikovaných EBV nejen v periferní krvi. Je možné specifikovat jejich fenotyp, izotyp i jejich migrační potenciál. Změny v expresi různých markerů mezi EBV-infikovanými a zdravými buňkami mohou pomoci odhalit etiologické aspekty různých onemocnění s podezřením na souvislost s infekcí EBV.

*Podpořeno granty: MZ ČR – RVO (FNOL, 00098892), a IGA\_LF\_2024\_013.*