

KAPITOLA 1. IMUNOFLUORESCENČNÍ METODY A TECHNICKÉ PODMÍNKY JEJICH PROVÁDĚNÍ

PRINCIPY METOD	10
Přímá imunofluorescenční metoda	10
Nepřímá imunofluorescenční metoda	11
Modifikovaná nepřímá imunofluorescenční metoda tzv. „sandwich“	12
Další modifikace imunofluorescenčních metod	13
Imunoenzymatické metody	14
PŘÍPRAVA VZORKŮ SÉR, BIOPSIÍ A ANTIGENNÍHO SUBSTRÁTU	17
Vyšetřované sérum, transport a uchování	17
Antigenní substráty — v médiu a suché	18
Antigenní substráty tkáňové	18
Chirurgický odběr bioptických vzorků	20
Podmínky transportu	21
Mikroskopická skla a uzavírací média	21
Kryostatové řezy, fixace a dobarvování	22
ZNAČENÉ PROTILÁTKY	25
Protilátky	25
Monoklonální protilátky	26
Fluorochromy	29
Konjugační postupy	30
Vlastnosti konjugátů a jejich uchovávání	31
FLUORESCENČNÍ MIKROSKOPIE	33
Zdroj světla	35
Budicí (excitační) a zábranné (bariérové) filtry	36
Kondenzory	37
Objektivy a okuláry	38
Fluorescence v dopadajícím světle — epiiluminace	38
HODNOCENÍ VÝSLEDKŮ IMUNOFLUORESCENČNÍ REAKCE A FOTO- GRAFICKÁ DOKUMENTACE	40
LITERATURA	44
APENDIX: VYBAVENÍ LABORATOŘE, POTŘEBY A REAGENCIE	45

KAPITOLA 2. PŘÍKLADY MOŽNOSTÍ VYUŽITÍ IMUNOFLUORESCENČNÍCH METOD K DETEKCI AUTOPROTILÁTEK A AUTOANTIGENŮ

NĚKOLIK POZNÁMEK K CHOROBÁM Z AUTOIMUNITY	49
PŘÍKLADY VÝSKYTU A DETEKCE SYSTÉMŮ AUTOANTIGEN — AUTO- PROTILÁTKA	53
Protilátky proti příčně pruhovaným svalům	56
Protilátky proti hladkým svalům	58
Protilátky proti mitochondriím	58
Protilátky proti parietálním buňkám — mikrozomům	59
Protilátky proti štítné žláze	60
LITERATURA	61

NĚKOLIK POZNÁMEK K CHOROBÁM Z AUTOIMUNITY

Chceme-li v dalších kapitolách čtenáře seznámit s možnostmi využití IF metod k detekci autoprotilátek a autoantigenů, je nezbytné uvést definici autoimunitních chorob. Tato definice je na první pohled snadná. Choroby z autoimunity jsou všechna onemocnění, u nichž lze prokázat poškozující imunologickou reakci k antigenům těla vlastním zprostředkovanou protilátkou, imunokompetentními buňkami nebo kombinací obou. O jak složitý děj se jedná, to si uvědomíme, až když zjistíme, že definice vlastně v sobě zahrnuje nejdůležitější funkci imunitního systému, to je odlišení „vlastního“ od „cizího“. Otázky — 1. proč organismus za normálních okolností nereaguje proti svým vlastním složkám; 2. jak reguluje organismus imunitní reakce — čekají na vyčerpávající odpověď již 88 let.

Poprvé se pokusil v roce 1900 vysvětlit záhadu autotolerance P. Ehrlich (20), když formuloval pojem „**horror autotoxicus**“, tj. existenci zvláštního mechanismu, který nedovolí organismu být stimulován složkami vlastní tkáně. Přestože jeho koncepce přetrvala půl století, nebyla poctěna Nobelovou cenou (uděluje se až od roku 1901). Pak nastala exploze nahromaděných poznatků — 1949 F. M. Burnet a F. Fenner: teorie produkce protilátek (12), 1955 N. K. Jerne: přirozená selekční teorie produkce protilátek (32), 1956 B. Glick, T. S. Chang a R. G. Jaap: B lymfocyty (25), 1959 F. M. Burnet: teorie klonální selekce tvorby protilátek (11) — která

KAPITOLA 3. IMUNOHISTOLOGICKÉ NÁLEZY U DIFÚZNÍCH ONEMOCNĚNÍ POJIVOVÉ TKÁNĚ

SKUPINA DIFÚZNÍCH ONEMOCNĚNÍ POJIVOVÉ TKÁNĚ	65
Revmatoidní faktory	67
Antinukleární faktory	68
Protilátky proti DNK	69
Protilátky proti RNK	71
Protilátky proti nukleoproteinu	72
Protilátky proti ribonukleoproteinu	72
Protilátky proti jadernému antigenu u progresivní polyarthritidy	74
Protilátky proti centromerám	74
SYSTEMOVÝ LUPUS ERYTHEMATOSUS	76
CHRONICKÝ DISKOIDNÍ ERYTHEMATODES	89
SMÍŠENÁ CHOROBA POJIVOVÉ TKÁNĚ	94
SKLERODERMIE	96
DERMATOMYOZITIS, POLYMYOZITIS	100
SJÖGRENŮV SYNDROM	103
LITERATURA	106

SKUPINA DIFÚZNÍCH ONEMOCNĚNÍ POJIVOVÉ TKÁNĚ

Klempererova koncepce „difúzních kolagenních chorob“ nemalou měrou přispěla k rozpracování a pochopení souvislosti mezi tzv. chorobami pojivových tkání (79, 80). Jde o nemoci se značně různorodými klinickými projevy, jejichž společným jmenovatelem jsou patologické změny roztroušené v pojivové tkáni, tzv. fibrinoidní přeměna vaziva. Fibrinoidní zánět se ovšem u některých nemocí této skupiny vyskytuje jen v zanedbatelné míře nebo jen v akutních fázích onemocnění, není specifický jen pro tyto choroby a navíc není přesně morfologicky definován. Dalším integrujícím znakem skupiny systémových chorob pojiva jsou abnormality imunitního systému týkající se nejen humorální, ale také buněčné imunity. Tyto změny jsou závislé na lokalizaci imunopatologického procesu v jednotlivých tkáních a na jejich rozsahu. V oblasti humorální imunity jsou zjišťovány jak kvantitativní změny ve smyslu polyklonálních gamaapatií, tak také tvorba různých autoprotilátek. S výskytem autoprotilátek souvisí i přítomnost imunokomplexů, které jsou ve svých důsled-

KAPITOLA 4. IMUNOHISTOLOGICKÉ NÁLEZY U PUCHÝŘNATÝCH CHOROB

PUCHÝŘNATÉ CHOROBY	115
PUCHÝŘNATÉ CHOROBY SKUPINY PEMPHIGUS	118
Pemphigus vulgaris	119
Pemphigus vegetans	125
Pemphigus foliaceus	126
Pemphigus erythematosus	127
Pemphigus brasiliensis	130
Pemphigus herpetiformis	131
Přechodné formy puchýřnatých chorob	131
Pemphigus familiaris benignus a Morbus Grover	132
PUCHÝŘNATÉ CHOROBY SKUPINY PEMPHIGOID	132
Bulózní pemphigoid	134
Neobvyklé formy bulózního pemphigoidu	138
Jizvící mukokutánní pemphigoid	139
Herpes gestationis	140
Epidermolysis bullosa aquisita	141
PUCHÝŘNATÉ CHOROBY SKUPINY DERMATITIS HERPETIFORMIS	143
Dermatitis herpetiformis Dühring	145
Bulózní lineární IgA dermatitis	150
Juvenilní bulózní dermatitis	150
LITERATURA	152

PUCHÝŘNATÉ CHOROBY

Puchýřnatá onemocnění patří k nejzávažnějším dermatózám. V počátcích dermatologie byla tato onemocnění nazvána pemphigus a zahrnovala všechny choroby s tvorbou puchýřů. Nám je dnes jasné, k jakým zmatkům nutně muselo docházet v diagnostice, protože tato nejednotná skupina zahrnovala choroby různé etiologie, jak benigního, tak i velmi závažného průběhu.

Ze složité historie těchto chorob je třeba vzpomenout významná zjištění, která postupně vedla k odstraňování diagnostických obtíží a nesrovnalostí. Zásadní význam mělo popsání procesu akantolýzy v r. 1943 (37), zavedení cytodagnostiky v r. 1948 a patologicko-anatomické třídění v roce 1953. Uvedená diagnostická kritéria vedla k výraznému zpřesnění nomenklatury. Název pemphigus zůstal vyhrazen pouze pro nejzávažnější choroby, jejichž společným znakem je tvorba akantolytických puchýřů, intraepidermálně lokalizovaných. Nově byl zaveden pojem bu-

KAPITOLA 5. IMUNOHISTOLOGICKÉ NÁLEZY U NĚKTERÝCH DALŠÍCH KOŽNÍCH CHOROB

LICHEN RUBER PLANUS	161
PORPHYRIA CUTANEA TARDA	166
NĚKTERÉ JINÉ DERMATÓZY S IMUNOHISTOLOGICKÝM NÁLEZEM	169
Vaskulitické projevy	169
Lékové exantémy	170
Erythema multiforme	172
Macroglobulinemia cutis	173
Polychondritis	174
Psoriáza	174
LITERATURA	176

LICHEN RUBER PLANUS (LRP) WILSON 1869

Jde o poměrně časté, chronicky zánětlivé, papulózní, silně svědivé onemocnění. Postižení sliznic, zejména v ústech, je velmi časté a ulcerózní léze na gingivě mohou připomínat desquamativní gingivitidu. Postižení obou pohlaví je stejné a dvě třetiny nemocných je ve věku 30—60 let. Etiopatogeneze není dosud jednoznačně vyřešena. Kromě vlivů nervových a psychogenních se zvláště v poslední době dostává do popředí zájmu otázka spojení mezi buňkami zprostředkovanou imunitní reakcí a vznikem lichen ruber (48). Zvýšený výskyt nemoci je uváděn do souvislosti s přítomností antigenů HLA — B 3 a HLA — B 5 (64).

Lichenová morfa je dosti typická. Představuje ji plochá, polygonální papule, hnědavé až fialově červené barvy, zřetelně se lesknoucí. Predilekčními místy lichenových eflorescencí jsou vnitřní plochy zápěstí, přední plochy bérců, zevní plochy kotníků, krajina křížová a pas. Kožní změny jsou asi v 50 % doprovázeny nálezem v dutině ústní ve formě drobných, šedobílých plošek nebo síťováním. Výjimkou není ani nález pouze na bukalní sliznici, na jazyku a dásních bez současného postižení kůže. Vzácnější jsou formy erozivní resp. ulcerózní, které jsou bolestivé a mají malou tendenci k hojení. Onemocnění má většinou chronický průběh, až několik měsíců, pak pozvolna mizí se zanecháním pigmentací. Akutní průběh není častý. Subjektivně je výsev papulí provázen svěděním, někdy dosti intenzívním.