

Obsah

Seznam zkratk	12
Úvod	15
Předmluva	16
1 Stručná fyziologie a patologie imunitního systému (J. Bartůňková)	17
1.1 Složky a funkce imunitního systému	17
1.2 Buněčné složky imunity	18
1.2.1 Buněčná imunita nespecifická	19
1.2.1.1 Fagocytující buňky	19
1.2.1.2 Buňky NK	20
1.2.1.3 Bazofily, žírné buňky a další buňky	20
1.2.2 Buněčná imunita specifická	20
1.2.2.1 Lymfocyty T – pomahači	20
1.2.2.2 Lymfocyty T – supresorově cytotoxické buňky	21
1.2.2.3 Paměťové buňky	21
1.3 Humorální složky imunity	22
1.3.1 Nespecifické složky humorální	22
1.3.1.1 Komplementový systém	22
1.3.1.2 Proteiny akutní fáze	23
1.3.2 Specifické složky humorální	23
1.3.2.1 Protilátky	23
1.3.2.2 Autoprotilátky	25
1.3.2.3 Monoklonální protilátky	25
1.4 Komunikace mezi složkami imunity	25
1.4.1 Cytokiny	25
1.4.2 Adhezivní molekuly	26
1.5 HLA systém	26
1.6 Fyziologická imunitní reakce	27
1.7 Patologické imunitní reakce	28
1.7.1 Atopická reakce – časná přecitlivělost, I. typ	28
1.7.2 Cytotoxická reakce, II. typ	29
1.7.3 Imunokomplexová reakce, III. typ	29
1.7.4 Reakce oddálené přecitlivělosti, IV. typ	30
1.8 Nemoci z poruch imunity	30
1.8.1 Imunodeficeience	30
1.8.1.1 Primární imunodeficeience	31
1.8.1.2 Sekundární imunodeficeience	32
1.8.2 Autoimunitní onemocnění	33
1.8.2.1 Systémové autoimunitní choroby	33
1.8.2.2 Orgánově specifické autoimunitní choroby	35
1.8.3 Alergie	36
2 Metody používané v laboratorní diagnostice imunopatologických stavů (M. Paulík)	39
2.1 Metody užívané k vyšetřování složek humorální imunity	39

2.1.1	Obecné principy reakce antigen–protilátka	39
2.1.1.1	Nativní a rekombinantní antigeny	40
2.1.1.2	Polyklonální a monoklonální protilátky	40
2.1.1.3	Afinita	41
2.1.1.4	Avidita	41
2.1.2	Elektroforéza a imunoэлектроforéza	41
2.1.2.1	Princip metod a jejich úskalí	41
2.1.2.2	Uplatnění	42
2.1.2.3	Přístrojové vybavení a ekonomická rozvaha	43
2.1.2.4	Podmínky odběru materiálu, rychlost vyšetření	43
2.1.3	Radiální imunodifuze	43
2.1.3.1	Princip metody a její úskalí	44
2.1.3.2	Uplatnění	44
2.1.4	Nefelometrie a turbidimetrie	45
2.1.4.1	Princip metod a jejich úskalí	45
2.1.4.2	Přístrojové vybavení, uplatnění a ekonomická rozvaha	46
2.1.5	Aglutinace a hemaglutinace	47
2.1.6	Komplement fixační testy	47
2.1.7	Imunoreakce se značenými protilátkami – RIA, ELISA, EIA	47
2.1.7.1	Principy metod a jejich úskalí	48
2.1.7.2	Uplatnění	50
2.1.7.3	Přístrojové vybavení a ekonomická rozvaha	50
2.1.8	Imunoblotting	52
2.1.8.1	Princip metod a jejich uplatnění	52
2.1.9	Imunofluorescence	52
2.1.9.1	Princip metody a její úskalí	53
2.1.9.2	Přístrojové vybavení a ekonomická rozvaha	55
2.1.9.3	Uplatnění	55
2.1.10	Stanovení protilátek a antigenů průtokovou cytometrií	55
2.2	Metody užívané k vyšetřování složek buněčné imunity	56
2.2.1	Techniky izolace buněk (<i>R. Špíšek</i>)	56
2.2.1.1	Gradientová centrifugace	57
2.2.1.2	Izolace lymfocytů T pomocí rozet	58
2.2.1.3	Imunomagnetická selekce buněk	58
2.2.1.4	Selekce pomocí průtokové cytometrie	60
2.2.2	Průtoková cytometrie (<i>O. Hrušák</i>)	60
2.2.2.1	Princip metody	60
2.2.2.2	Analýza a grafické znázornění	61
2.2.2.3	Odesílání výsledků	63
2.2.2.4	Úskalí metody	63
2.2.2.5	Uplatnění	64
2.2.2.6	Přístrojové vybavení a ekonomická rozvaha	66
2.2.2.7	Podmínky odběru, rychlost vyšetření	66
2.2.2.8	Slide-based cytometrie	66
2.2.3	Proliferace lymfocytů (blastická transformace)	67
2.2.3.1	Princip metody a úskalí	67
2.2.3.2	Uplatnění	68
2.2.3.3	Přístrojové vybavení a ekonomická rozvaha	68

2.2.4	Enzyme-linked ImmunoSpot Assay (ELISPOT) (R. Špišek)	68
2.2.4.1	Princip metody	68
2.2.4.2	Uplatnění	70
2.2.4.3	Přístrojové vybavení a ekonomická rozvaha	70
2.2.5	Cytotoxické testy (R. Špišek).	70
2.2.5.1	Cytotoxický test založený na uvolňování ⁵¹ Cr – princip metody	70
2.2.5.2	Úskalí metody	71
2.2.5.3	Uplatnění	71
2.2.5.4	Podmínky odběru materiálu, rychlost vyšetření	72
2.2.5.5	Přístrojové vybavení a ekonomická rozvaha	72
2.2.6	Fagocytóza (J. Bartůňková).	72
2.2.6.1	Princip metody	72
2.2.6.2	Úskalí metody	72
2.2.6.3	Uplatnění	73
2.2.6.4	Přístrojové vybavení a ekonomická rozvaha	73
2.2.7	Baktericidní test	73
2.2.7.1	Princip metody	73
2.2.7.2	Úskalí metody	74
2.2.7.3	Uplatnění	74
2.2.7.4	Přístrojové vybavení, ekonomická rozvaha	74
2.2.7.5	Podmínky odběru materiálu, rychlost vyšetření	74
2.2.8	Testy oxidačního metabolismu – NBT, INT	74
2.2.8.1	Princip metody	74
2.2.8.2	Úskalí metody a uplatnění	75
2.2.8.3	Přístrojové vybavení, ekonomická rozvaha	75
2.2.9	Chemiluminiscence	75
2.2.9.1	Princip metody	75
2.2.9.2	Úskalí metody	76
2.2.9.3	Uplatnění	76
2.2.9.4	Přístrojové vybavení, ekonomická rozvaha	76
2.2.9.5	Podmínky odběru materiálu, rychlost vyšetření	76
2.2.10	Imunohistochemické metody (K. Smetana).	76
2.2.10.1	Princip metody	77
2.2.10.2	Příprava buněk a tkání	77
2.2.10.3	Vlastní imunohistochemická reakce	77
2.2.10.4	Metoda vícenásobného značení	78
2.2.10.5	Úskalí metody	79
2.2.10.6	Uplatnění	80
2.2.10.7	Přístrojové vybavení a ekonomická rozvaha	80
2.2.10.8	Podmínky odběru materiálu, rychlost vyšetření	81
2.2.11	Lektinově histochemické metody v imunologii	81
2.2.11.1	Princip metody	81
2.2.11.2	Průkaz exprese endogenního lektinu	82
2.2.11.3	Průkaz exprese specifického cukerného motivu metodou lektinové histochemie	82
2.2.11.4	Průkaz vazebné reaktivity exprimovaného lektinu metodou reverzní lektinové histochemie	82

2.2.11.5	Vícenásobné značení na úrovni jedné buňky v lektinové histochemii	83
2.2.11.6	Úskalí metody	83
2.2.11.7	Uplatnění	83
2.2.11.8	Přístrojové vybavení	83
2.2.11.9	Podmínky odběru materiálu, rychlost vyšetření	83
2.2.11.10	Ekonomická rozvaha	83
2.3	Metody molekulární biologie (<i>R. Špíšek</i>)	84
2.3.1	PCR	84
2.3.1.1	Princip metody	84
2.3.2	Reverzně transkriptázová PCR	85
2.3.2.1	Princip metody	85
2.3.2.2	Uplatnění	86
2.3.3	Kvantitativní PCR v reálném čase	86
2.3.3.1	Princip metody	86
2.3.3.2	Analýza produktů PCR, RT-PCR a kvantitativní PCR v reálném čase	86
2.3.3.3	Princip a uplatnění	87
2.3.4	Genomika (<i>R. Špíšek</i>)	88
2.3.5	DNA mikročipy (<i>M. Paulík, R. Špíšek</i>)	88
2.3.5.1	Princip	88
2.3.5.2	Uplatnění	89
2.3.5.3	Přístrojové vybavení a ekonomická rozvaha	89
2.3.6	Proteomika	90
2.3.6.1	Princip	90
2.3.6.2	Uplatnění	90
3	Možnosti vyšetřování složek imunity (<i>A. Šedivá</i>)	93
3.1	Vyšetření parametrů humorální imunity	93
3.1.1	Protilátky	93
3.1.1.1	Metody vyšetření protilátek	93
3.1.1.2	Indikace k vyšetření	94
3.1.1.3	Interpretace patologických výsledků	95
3.1.2	Vyšetření monoklonální komponenty	96
3.1.2.1	Indikace k vyšetření	96
3.1.2.2	Interpretace patologických výsledků	96
3.1.3	Kryoglobuliny	96
3.1.3.1	Metody stanovení	97
3.1.3.2	Indikace k vyšetření	97
3.1.3.3	Interpretace výsledků	97
3.1.4	Vyšetření imunokomplexů	97
3.1.4.1	Metody stanovení	97
3.1.4.2	Indikace k vyšetření	97
3.1.4.3	Interpretace výsledků	98
3.1.5	Proteiny akutní fáze a sedimentace erytrocytů	98
3.1.5.1	Metody stanovení	98
3.1.5.2	Indikace k vyšetření	99
3.1.5.3	Interpretace vyšetření	99

3.1.6	Komplement a jeho složky	100
3.1.6.1	Metody stanovení složek a funkce komplementu	100
3.1.6.2	Porovnání metodických přístupů	101
3.1.6.3	Indikace k vyšetření a interpretace patologických hodnot ..	101
3.1.7	Autoprotilátky (<i>J. Bartůňková</i>)	102
3.1.7.1	Metody stanovení a jejich porovnání	102
3.1.7.2	Indikace k vyšetření	104
3.1.7.3	Výskyt jednotlivých typů autoprotilátek	104
3.1.7.4	Interpretace patologických výsledků	106
3.2	Vyšetření parametrů buněčné imunity (<i>J. Bartůňková</i>)	106
3.2.1	Stanovení povrchových znaků lymfocytů a dalších buněk	106
3.2.1.1	Metody stanovení	106
3.2.1.2	Indikace k vyšetření	107
3.2.1.3	Rozmezí normálních hodnot	107
3.2.1.4	Interpretace patologických výsledků	108
3.2.2	Funkční testy lymfocytů	109
3.2.2.1	Metody stanovení	109
3.2.2.2	Porovnání jednotlivých metodických přístupů	109
3.2.2.3	Indikace k vyšetření	110
3.2.2.4	Rozmezí normálních hodnot	110
3.2.2.5	Interpretace patologických výsledků	110
3.2.3	Cytotoxicita buněk NK a lymfocytů T	111
3.2.3.1	Metody stanovení	111
3.2.3.2	Porovnání jednotlivých metodických přístupů	111
3.2.3.3	Indikace k vyšetření	111
3.2.4	Stanovení cytokinů (<i>R. Špíšek</i>)	111
3.2.4.1	Metody stanovení	111
3.2.4.2	Indikace k vyšetření	112
3.2.5	Fagocytóza (<i>J. Bartůňková</i>)	113
3.2.5.1	Metody stanovení	113
3.2.5.2	Porovnání jednotlivých metodických přístupů	113
3.2.5.3	Indikace k vyšetření	113
3.2.5.4	Rozmezí normálních hodnot	113
3.2.5.5	Interpretace patologických výsledků	113
3.2.6	Chemotaxe	114
3.2.6.1	Metody stanovení	114
3.2.6.2	Indikace k vyšetření	114
3.2.7	Oxidační metabolismus	115
3.2.7.1	Metody stanovení	115
3.2.7.2	Porovnání jednotlivých metodických přístupů	115
3.2.7.3	Indikace k vyšetření	115
3.2.7.4	Rozmezí normálních hodnot a interpretace patologických výsledků	115
3.2.8	Mikrobicidie fagocytů	115
3.2.8.1	Metody stanovení	115
3.2.8.2	Indikace k vyšetření	116
3.2.9	Test aktivace bazofilů (<i>E. Vernerová</i>)	116
3.2.9.1	Metody stanovení	116

3.2.9.2	Porovnání jednotlivých metodických přístupů	116
3.2.9.3	Indikace k vyšetření	117
3.2.9.4	Rozmezí normálních hodnot	117
3.2.9.5	Interpretace patologických výsledků	117
3.2.10	Eozinofilní kationický protein (ECP)	117
3.2.10.1	Metody stanovení	118
3.2.10.2	Indikace k vyšetření a rozmezí normálních hodnot	118
3.2.10.3	Interpretace patologických výsledků	118
3.2.11	Vyšetření apoptózy (<i>R. Špíšek</i>)	118
3.2.11.1	Metody stanovení	119
3.2.11.2	Indikace k vyšetření a interpretace patologických výsledků	119
3.2.12	Typizace HLA (<i>R. Špíšek</i>)	120
3.2.12.1	Metody stanovení	120
3.2.12.2	Nomenklatura	121
3.2.12.3	Materiál	121
3.2.12.4	Indikace k vyšetření	121
4	Vyšetřovací algoritmy při diagnostice imunopatologických stavů	123
4.1	Diagnostika imunodeficiencí (<i>A. Šedivá</i>)	123
4.1.1	Anamnéza	123
4.1.1.1	Anamnéza rodinná	123
4.1.1.2	Anamnéza osobní	123
4.1.2	Klinický obraz	124
4.1.3	Spektrum indikovaných imunologických vyšetření	125
4.1.3.1	Imunoglobuliny	125
4.1.3.2	Komplement	126
4.1.3.3	Počet, zastoupení a funkce lymfocytů	127
4.1.3.4	Počet, zastoupení a funkce fagocytárních buněk	128
4.1.3.5	Genetická vyšetření	128
4.1.3.6	Další vyšetření	128
4.2	Diagnostika autoimunitních onemocnění (<i>J. Bartůňková</i>)	128
4.2.1	Anamnéza	129
4.2.2	Klinický obraz	129
4.2.3	Spektrum indikovaných imunologických vyšetření	129
4.2.3.1	Autoprotilátky	129
4.2.3.2	Imunoglobuliny	134
4.2.3.3	Komplement	134
4.2.3.4	CRP a jiné proteiny akutní fáze	134
4.2.3.5	HLA	134
4.2.3.6	Subpopulace lymfocytů	134
4.2.3.7	Cytokiny	135
4.2.4	Spektrum dalších pomocných vyšetření	135
4.2.4.1	Sedimentace erytrocytů	135
4.2.4.2	Sérologické vyšetření	135
4.2.4.3	Histologické vyšetření	135
4.2.4.4	Hematologické vyšetření	136
4.2.4.5	Biochemické vyšetření	136

4.2.4.6	Zobrazovací a další metody	136
4.2.4.7	Neurologické pomocné vyšetřovací metody	136
4.3	Diagnostika alergických onemocnění (<i>E. Vernerová</i>)	136
4.3.1	Anamnéza	137
4.3.2	Klinický obraz	138
4.3.2.1	Alergická rýma	139
4.3.2.2	Atopický ekzém	139
4.3.2.3	Asthma bronchiale	139
4.3.2.4	Alergie na hmyzí bodnutí	139
4.3.2.5	Potravinová alergie	140
4.3.2.6	Systémová anafylaxe	140
4.3.3	Spektrum indikovaných imunologických vyšetření	140
4.3.3.1	Kožní testy	140
4.3.3.2	Stanovení koncentrace protilátek IgE	141
4.3.3.3	Stanovení koncentrace specifických protilátek IgE	142
4.3.3.4	Srovnání kožních testů a stanovení specifického IgE	142
4.3.3.5	Expoziční testy	142
4.4	Monitorování imunitní odpovědi při aktivní protinádorové imunoterapii (<i>R. Špíšek</i>)	143
4.4.1	In vivo hodnocení antigenně specifické imunity	143
4.4.1.1	Reakce pozdního typu přecitlivělosti (DTH)	143
4.4.2	In vitro fenotypické hodnocení antigenně specifické imunitní reakce	143
4.4.2.1	Analýza používaných variabilních regionů TCR	143
4.4.2.2	Tetramery molekul MHC s peptidy	144
4.4.2.3	Complementarity determining region 3	144
4.4.3	In vitro funkční analýza antigenně specifické imunitní reakce	144
4.4.3.1	Proliferace lymfocytů	144
4.4.3.2	Detekce produkovaných cytokinů	145
4.4.3.3	Detekce intracelulárních cytokinů	145
4.4.3.4	Kvantifikace mRNA pro cytokiny pomocí RT-PCR	146
4.4.3.5	Cytotoxické testy	146
4.4.4	Výběr metody pro imunologické sledování protinádorové imunoterapie	146
5	Systémy jakosti (kvality) v laboratoři (<i>L. Šprongl, M. Paulík</i>)	149
5.1	Standardizace	150
5.2	Certifikace	152
5.3	Akreditace	152
5.4	Kvalita laboratorní práce v imunologických laboratořích (<i>M. Paulík</i>)	153
Doporučená literatura		155
Rejstřík		157
Souhrn		163
Summary		164