

Diagnostyka serologiczna w autoimmunizacyjnych chorobach wątroby i jelit

dr n. wet. Joanna B. Bierła



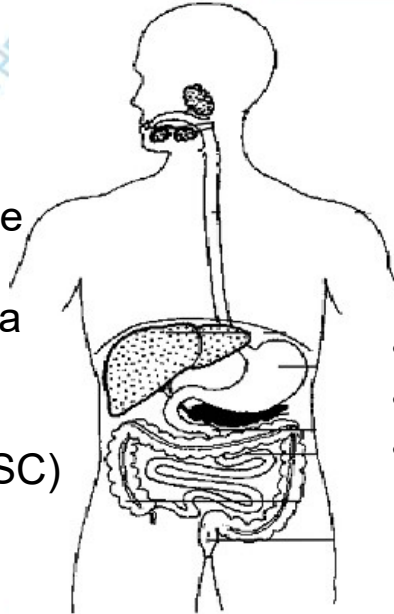
INSTYTUT „POMNIK-CENTRUM ZDROWIA DZIECKA”

Autoimmunizacyjne choroby układu pokarmowego

gruczoły trawienne

przewód pokarmowy

- Autoimmunizacyjne zapalenie wątroby (AIH)
- Pierwotna marskość żółciowa wątroby (PBC)
- Pierwotne stwardniejące zapalenie dróg żółciowych (PSC)
- Cukrzyca typu I



- Celiakia
- Choroba Leśniewskiego – Crohna
- Wrzodziejące zapalenie jelit

autoimmunizacyjne choroby systemowe manifestujące się w układzie pokarmowym

- Toczeń rumieniowaty układowy

Materiał do oceny autoprzeciwić:

- Surowica – krew pobrana na skrzep – ok. 2 ml
- Surowica (**nie krew pełna!**) może być przechowywana:
 - do 5 dni w lodówce +4 do 8 °C
 - > 5 dni - surowicę po odwirowaniu należy niezwłocznie zamrozić w -20-30 °C





Metody oceny autoprzeciwciał w autoimmunizacyjnych chorobach wątroby

Zgodnie z IAHG (*International Autoimmune Hepatitis Group*):

- ✓ Pierwszoplanowa ocena panelu autoprzeciwciał metodą immunofluorescencji pośredniej (IIF)
 - ANA - komórki Hep-2
 - Pozostałe autoprzeciwciała (AMA, SMA, LKM) - tkanki szczura: wątroba, nerki, żołądek
 - Rozcieńczenie surowic – dorośli 1:40, dzieci 1:20
- ✓ Testy potwierdzenia – dla znanych autoantygenów - immunobloty lub ELISA

SPECIAL REPORT

The International Consensus on ANA Patterns (ICAP) in 2021—The 6th Workshop and Current Perspectives

Edward K.L. Chan ^{a,*} Carlos A. von Mühlen,^b Marvin J. Fritzler ^c Jan Damoiseaux ^d Maria Infantino,^e Werner Klotz,^f Minoru Satoh,^g Lucile Musset,^h Ignacio García-De La Torre,ⁱ Orlando Gabriel Carballo,^{j,k} Manfred Herold,^f Wilson de Melo Cruvinel,^l Tsuneyo Mimori,^m Karsten Conrad,ⁿ Luis E.C. Andrade, ^{o,p} and the ICAP Committee

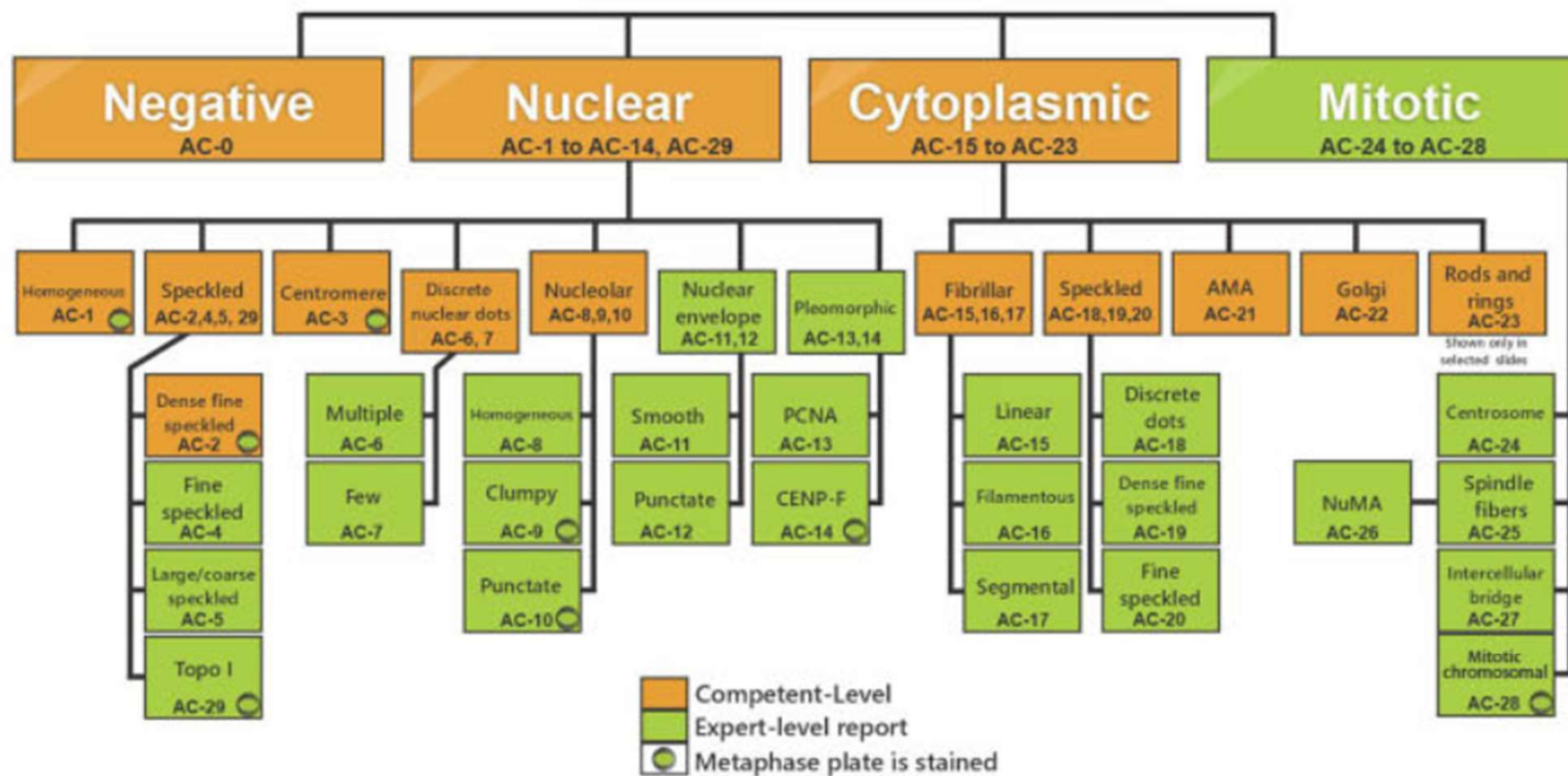
<https://www.anapatterns.org/>



The screenshot shows the homepage of the International Consensus on ANA Patterns (ICAP) website. The top navigation bar is green and contains the following elements: 'Home', 'Nomenclature and classification tree', 'ANA Patterns' (with a dropdown arrow), 'FAQ', a search box labeled 'Choose AC-#' with a dropdown arrow, 'or', another search box labeled 'word search', and a magnifying glass icon. The main content area features the ICAP logo on the left, which includes the text 'ICAP' in large black letters, 'INTERNATIONAL CONSENSUS ON' in smaller black letters, and 'ANA PATTERNS' in white letters on a green rectangular background. To the right of the logo is a globe with two butterflies. A large green banner across the middle of the page displays the website URL 'www.ANApatterns.org' in white text. The background of the page is a collage of colorful, abstract patterns resembling ANA patterns.

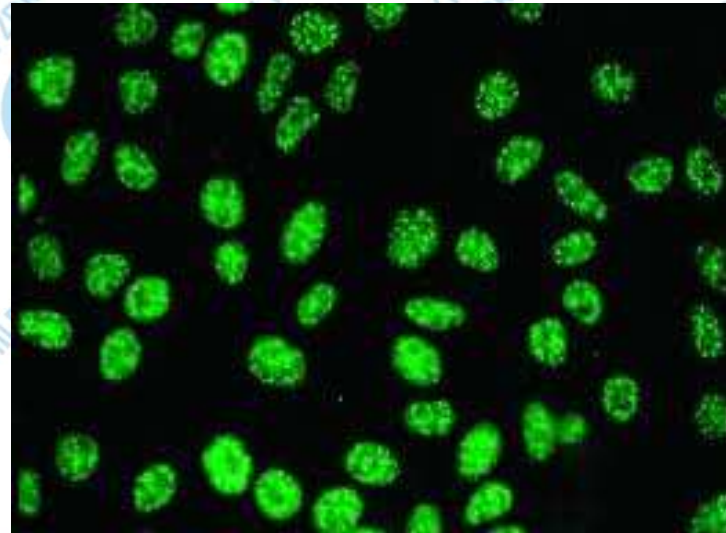
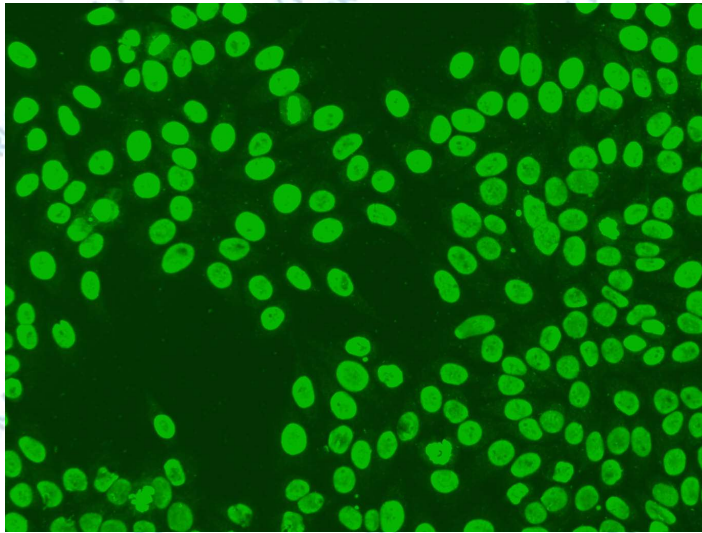
A

HEp-2 cell patterns



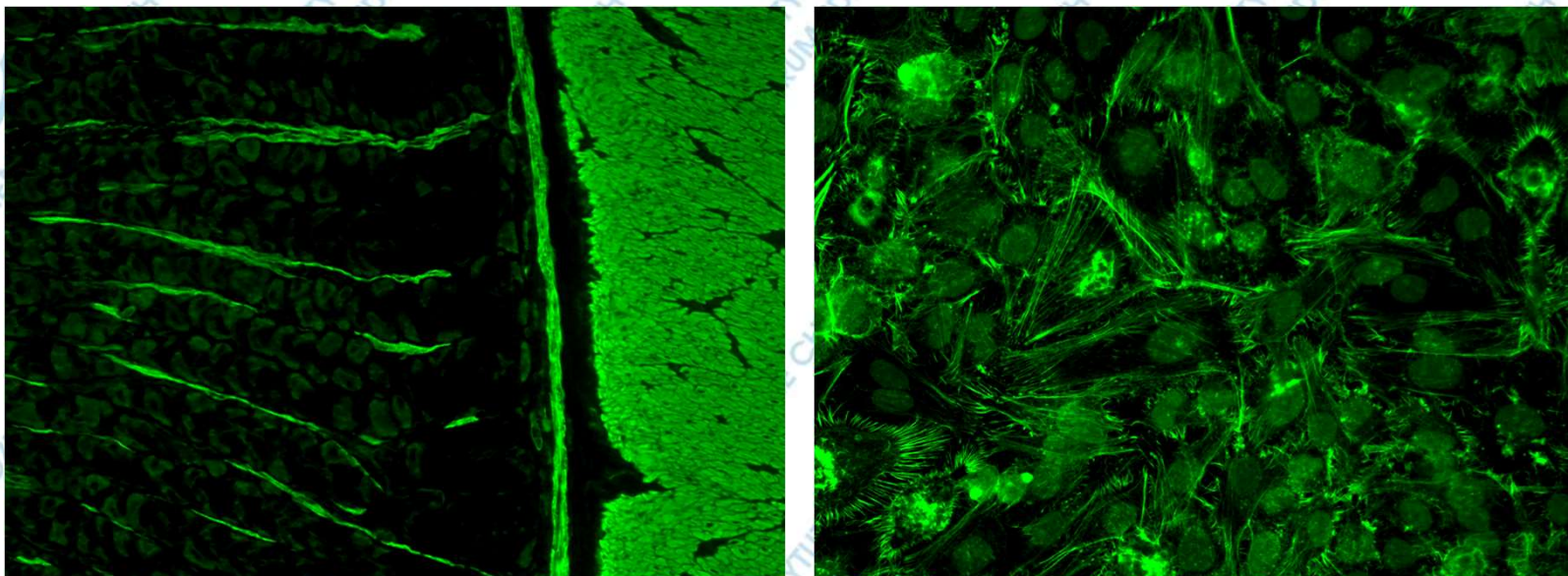
www.anapatterns.org

Badanie ANA –metoda IIF

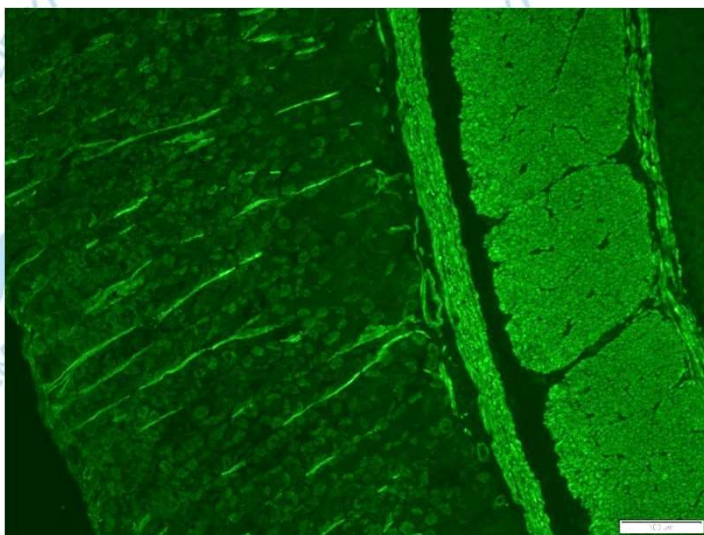


- ✓ autoantygenu w AIH niezidentyfikowany – metoda z wyboru IIF na komórkach Hep-2
- ✓ antygeny docelowe: różne np. dsDNA (~20%), histony rybonukleoproteiny
- ✓ wzór świecenia – homogeny, ziarnisty
- ✓ miana dodatnie – dorośli > 1:40, dzieci >1:20

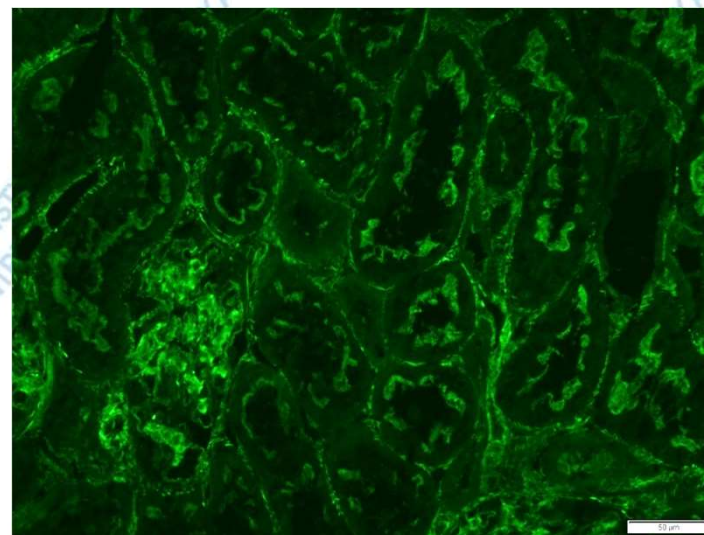
SMA i przeciwciała przeciw F-aktynie



- ✓ Ocena SMA – metoda z wyrobory IIF (substrat – żołądek szczura)
- ✓ Ocena przeciwciał przeciw F-aktynie – komórki Hep-2 (widoczne włókienka)
- ✓ Testy potwierdzenia – testy ELISA, immunoblot
- ✓ Miana dodatnie – $> 1:40$

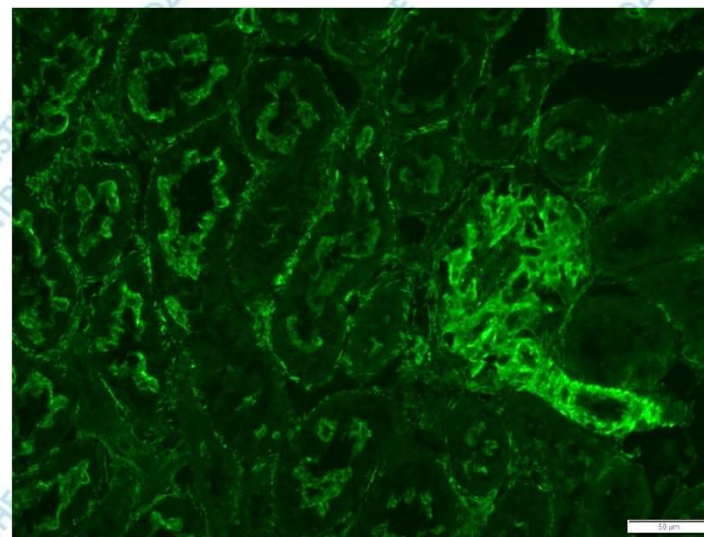


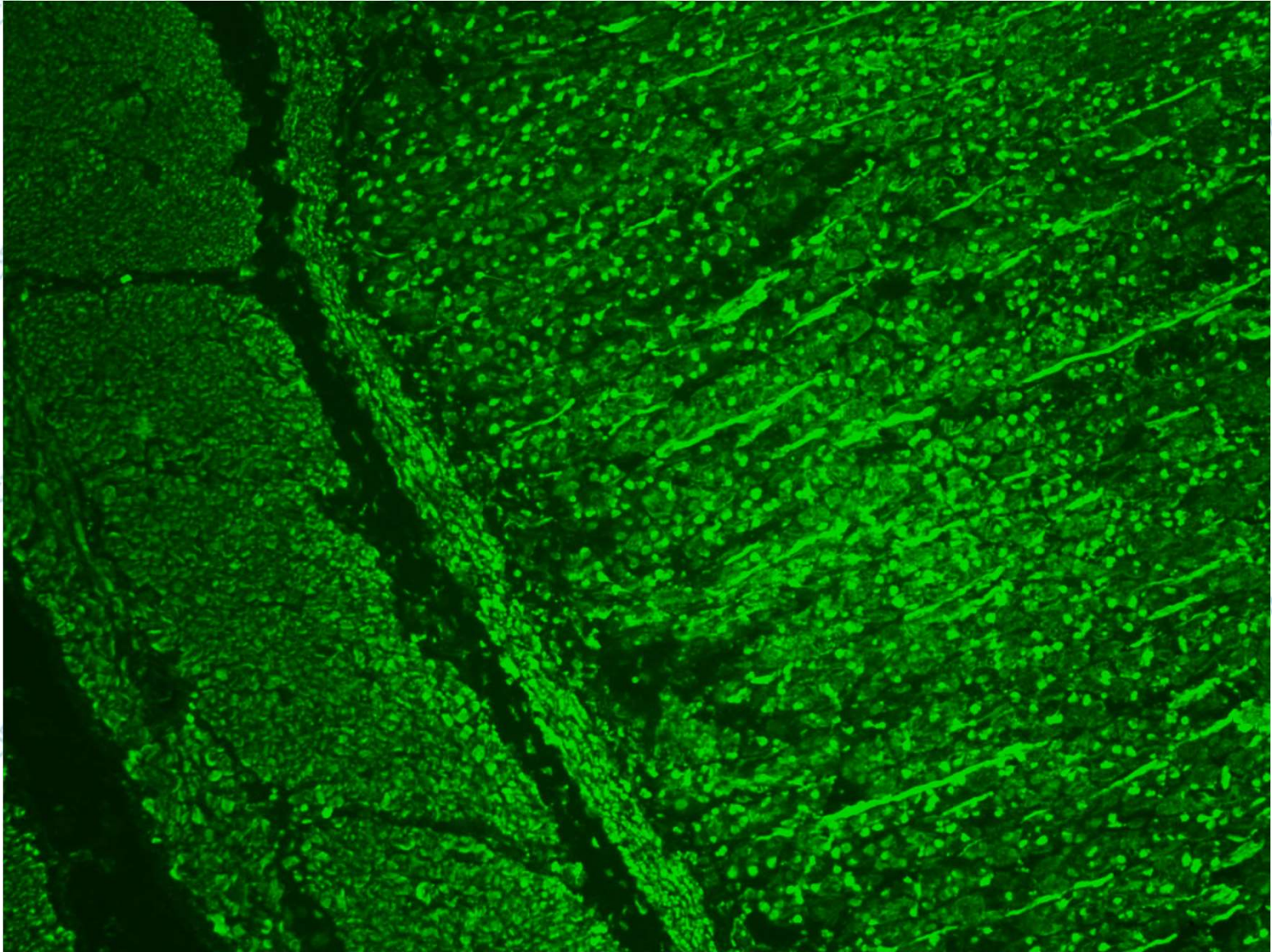
żołądek



nerka

Przykład oznaczenia u pacjenta
pediatrycznego, miano 1:40





Typy autoimmunizacyjnego zapalenia wątroby

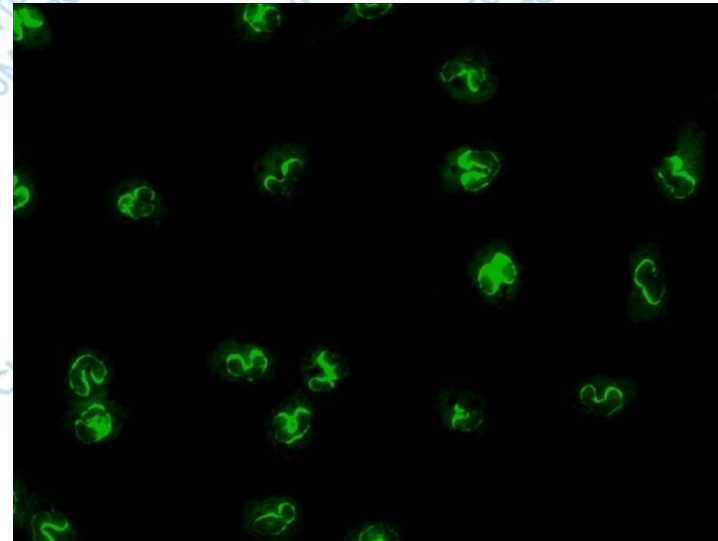
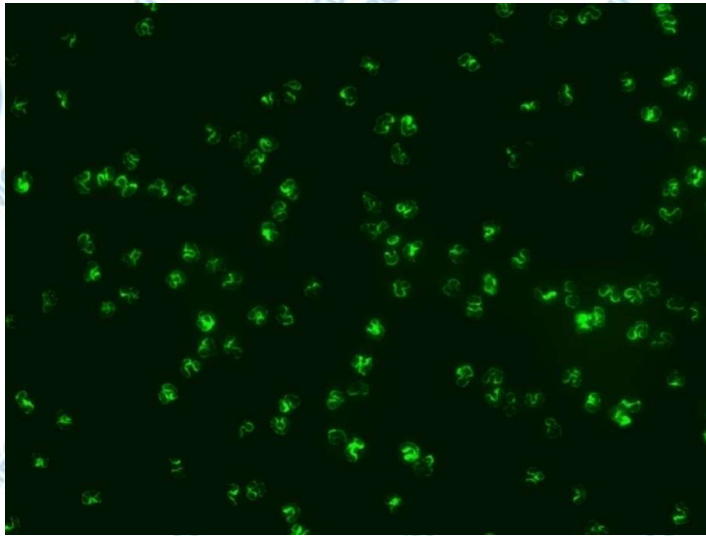
Typ AIH	Autoprzeciwciała podstawowe
AIH typu 1	ANA SMA

p-ANCA – ang. perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibody – przeciwciała przeciwko cytoplazmie neutrofilów

- ✓ Mogą być jedynym markerem AIH (dawniej u tych chorych rozpoznawano kryptogenne AIH)
- ✓ U chorych na AIH występują atypowe p-ANCA
- ✓ Autoantygen – nie jest związany z cytoplazmą tylko z jądrem komórkowym – ANNA (*anti-nuclear neutrophil antibodies*)
- ✓ Identyfikacja autoantygeny – β -tubulina – krzyżowo reaguje z białkiem bakteryjnym FtsZ – znaczenie mikrobioty jelitowej?

Terjung et al. Gut 2010; 59:808-816

Atypowe p-ANCA

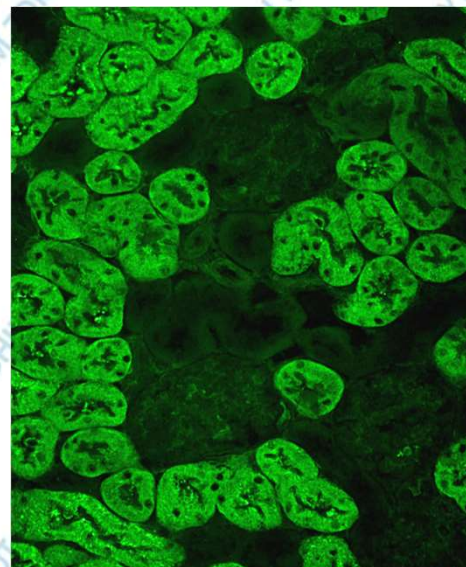
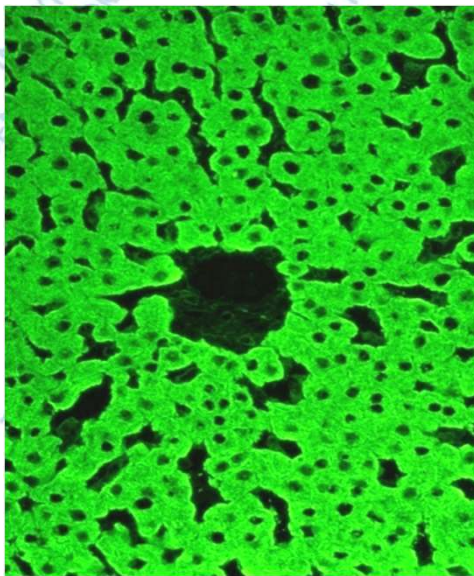


- ✓ Ocena p-ANCA w AIH- metoda z wyboru IIF z użyciem granulocytów
- ✓ Brak innych metod, nie należy stosować technik potwierdzenia do typowych p-ANCA, w których używane są enzymy mieloperoksydaza i proteinaza 3

Typy autoimmunizacyjnego zapalenia wątroby

Typ AIH	Autoprzeciwciała podstawowe	Inne autoprzeciwciała
AIH typu 1	ANA SMA	atypowe p-ANCA anty-SLA/LP anty-ASGPR

Ocena przeciwciał anty-LKM



- ✓ ocena anty-LKM-1 – metoda z wyboru IIF – charakterystyczny obraz świecenia - komórki wątroby i kanaliki bliższe nerki szczura
- ✓ testy potwierdzenia – ELISA, immunoblot
- ✓ miana dodatnie – $> 1:40$, u dzieci $>1:10$

Anty-LKM – *ang.* antibodies to liver/kidney microsome - przeciwciała przeciw mikrosomom komórek wątrobowych i kanalików nerkowych

- ✓ Przeciwciała anty-LKM dzielimy na 3 rodzaje : anty-LKM-1, LKM-2, LKM-3
- ✓ **W AIH** **znajdowane są przeciwciała anty-LKM-1 i anty-LKM-3**
- ✓ Anty-LKM-2 obecne są u chorych ze zmianami polekowymi
- ✓ Autoantygen dla anty-LKM-1 to **cytochrom P450 (CYP 2D6)** zlokalizowany we frakcji mikrosomalnej komórek wątroby i kanalików bliższych nerki.
- ✓ Autoantygen dla anty-LKM-3 to urydynodifosfo-glukuronylofosfataza cytochromu P450 (1A2)

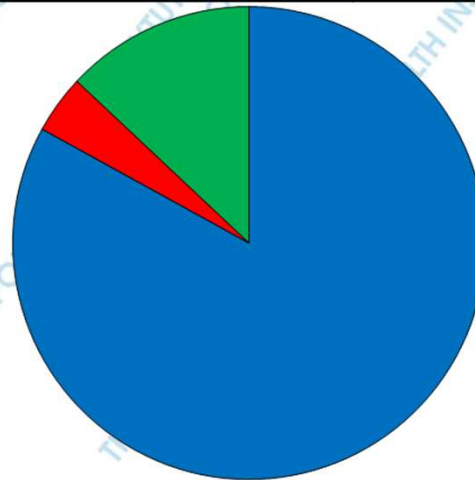
Przeciwciała anty-**LC-1** – *ang. anti-liver cytosol antibodies* - przeciwciała przeciwcytozolowe

- ✓ Występują u ok. 30% chorych na AIH typu 2
- ✓ U 14% chorych są jedynym wskaźnikiem AIH (należy wykluczyć zakażenie HCV)
- ✓ Związane z cięższą postacią choroby i szybszą progresją do marskości
- ✓ Autoprzeciwciało narządowo swoiste – znany autoantygen – formiminotransferaza cyklodeaminazowa
- ✓ Metoda oceny – brak możliwości identyfikacji metodą IIF, jedynie ELISA lub immunoblot

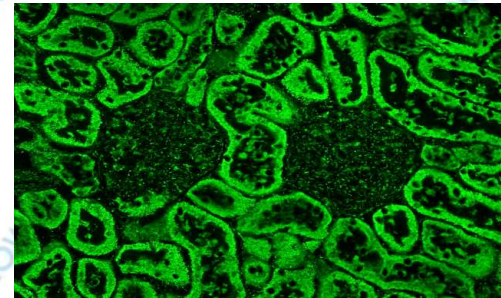
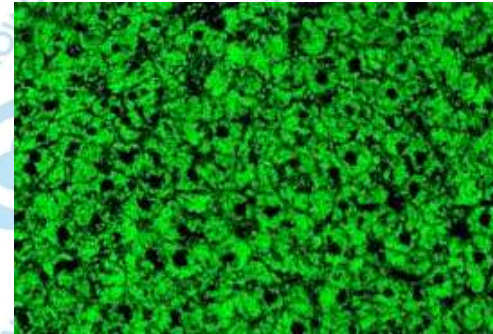
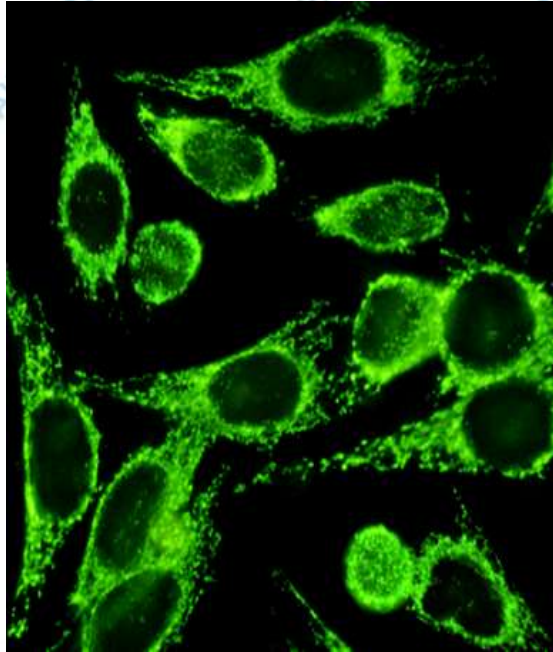
Typy autoimmunizacyjnego zapalenia wątroby

Typ AIH	Autoprzeciwciała podstawowe	Inne autoprzeciwciała
AIH typu 1	ANA SMA	atypowe p-ANCA anty-SLA/LP anty-ASGPR
AIH typu 2	anty-LKM-1 anty-LC-1	anty-LKM-3 anty-SLA/LP anty-ASGPR

- typ I
- typ II
- kryptogenne zap.wątr.



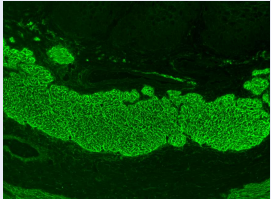
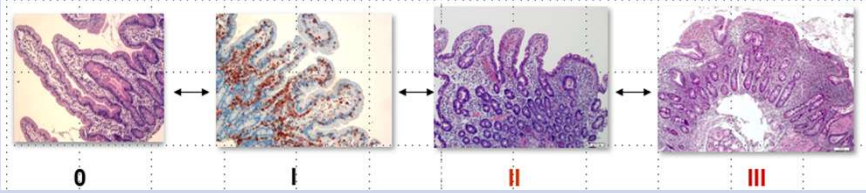
Ocena przeciwciał AMA



- ✓ ocena metodą IIF – świecenie cytoplazmy komórek Hep-2, kanalików nerkowych i wątroby
- ✓ testy potwierdzenia – immunoblotty, ELISA

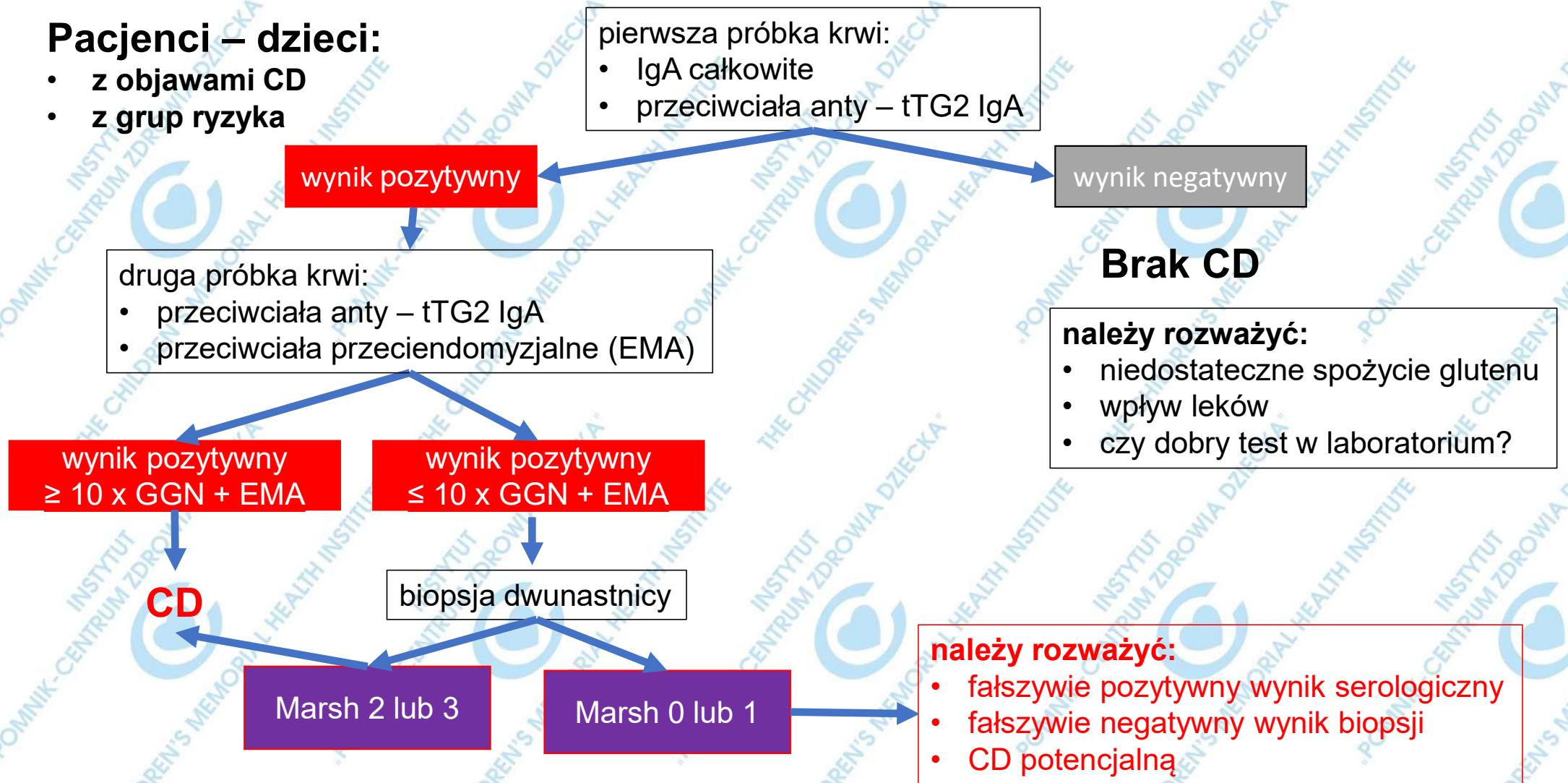
Przeciwciała przeciwendomyszalne w klasie IgA



Metody	Co badane?	
Serologiczne	stężenie przeciwciał przeciwko TTG2 IgA	<ul style="list-style-type: none"> • technika chemiluminescencji • immunoblot • ELISA
	miano przeciwciał przeciwendomyzjalnych w klasie IgA (EMA-IgA)	
Histopatologiczne	ocena obrazu w skali wg Marsh-Oberhubera	
Genetyczne	określenie genotypu pacjenta <ul style="list-style-type: none"> • haplotypu HLA DQ2/DQ8 	<ul style="list-style-type: none"> • RT-PCR • NGS

Pacjenci – dzieci:

- z objawami CD
- z grup ryzyka

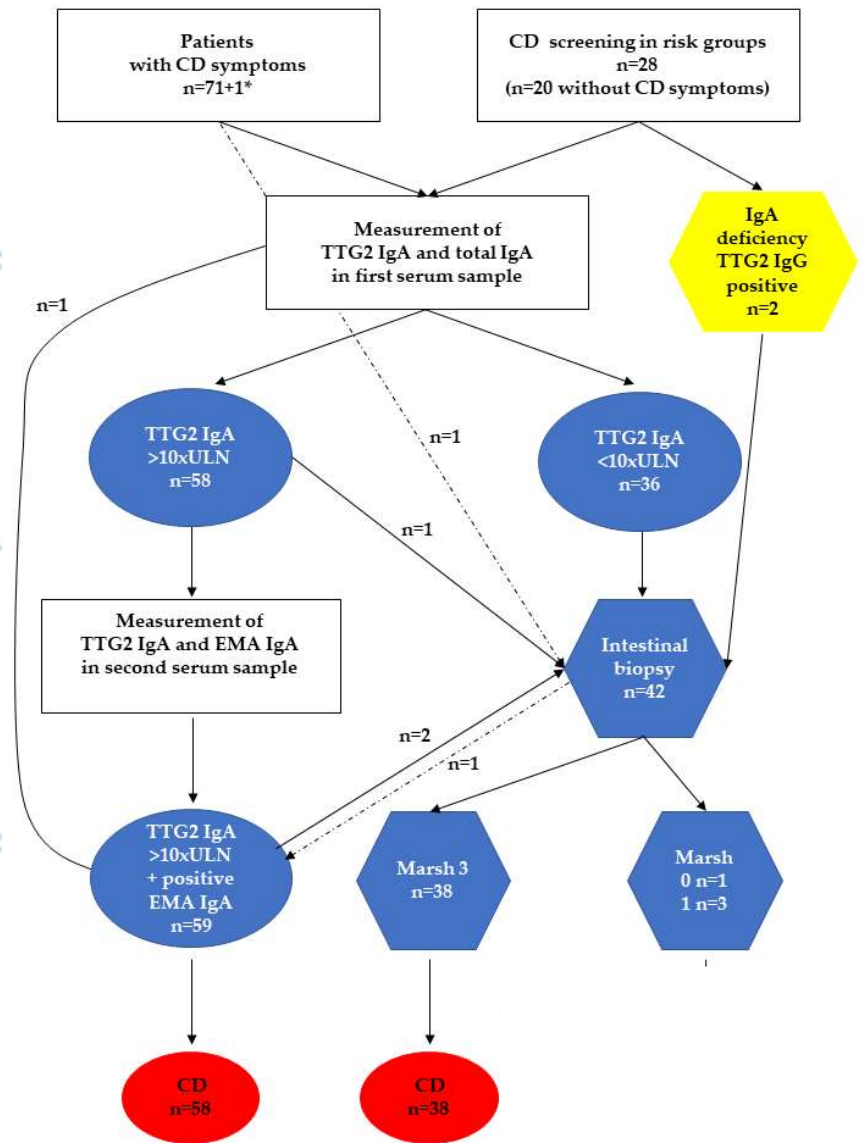


Pacjenci - dzieci

Lekarz gastroenterolog

Diagnosta laboratoryjny

Lekarz patomorfolog



Bierla J.B. et al. Diagnosis, clinical presentation and management of coeliac disease in children and adolescents in Poland J. Clinical Medicine 2024,13, 3,765

ESPGHAN EDUCATIONAL PROGRAMME

ESPGHAN provides a variety of educational activities, events and information that are available through-out the year.

The educational programme of ESPGHAN has been implemented to ensure an on-going development and implementation of an up-to-date, independent, high quality educational programme for health care professionals.

For further details on the **ESPGHAN educational activities**, please visit the [ESPGHAN website](#).

Date: January 15 – 18, 2025
Hosting City: Bohinj, Slovenia

ESPGHAN Local Organiser

- Matjaz Homan

Faculty

- Jernej Dolinsek
- Giovanna Puoti
- Javier Martin de Carpi
- Claudio Romano
- Rok Orel
- Carolina Gutierrez
- Sara Sila
- Matjaz Homan
- Zrinjka Misak
- Osvaldo Borrelli
- Isabelle Scheers
- Caterina Strisciuglio
- Benedicte Pigneur



Further information and how to apply:

Please apply [online](#) on the course dedicated website.

Participation Fees:
Members: EUR 100.00
Non-Members: EUR 150.00

For further details please visit the [event dedicated webpage](#)



European Society for Paediatric
Gastroenterology, Hepatology and Nutrition

**ESPGHAN
GI
WINTER SCHOOL**
JANUARY 15 – 18, 2025
BOHINJ, SLOVENIA

We thank our **EPP Partners** for their valuable support.



PROGRAMME

www.espghan.org