

Komplementový systém

klinický seminář nefrologie 1.12.2015

Příklady indikací pro analýzu komplementu

Možnost screeningového vyšetření funkční
aktivity jednotlivých drah komplementu

Způsob hodnocení

Frekvence

- Komplementové deficience – vrozené (převážně autosomálně recesivní, properidin X-vázaná, faktor B, MCP a C1-inh – autosomálně dominantní) a získané (zánětem indukovaná potřeba, autoprotiilátky, snížená syntéza nebo zvýšený metabolismus)
- 1-6% všech PID, až 10% podle národních registrů, dle ESID 4,9% všech PID
- C2 def. (1:20000), C1-inh (1:10000 – 1:50000), částečná C4 (1:250) – s C4a def. častějším u kavkazské populace
- Vyšší frekvence komplementových deficitů je spojována se specifickým onemocněním – C2 u SLE 1% pacientů, 20% pacientů s diseminovanou neisseriovou infekcí
- CP a AP – defekt (mutace) ve složkách komplementu – vzácný spojený se závažnými klinickými stavy
- LP – velmi častý deficit 5 - 30% často bez klinických následků

Indikace pro testování komplementu

- Vrozený nebo získaný deficit složek komplementu - varovné příznaky komplementové deficience:
 - Meningoková meningitida >5 letech
 - Další rekurentní bakteriální infekce (Pneumococcus)
 - Manifestace autoimunity
 - Angioedem bez urticarie
 - Renální a oční zánětlivá onemocnění
- Monitorování léčby eculizumabem (anti-C5) – PNH, aHUS, off-label – MPGN, prevence rejekce ABO inkompatibilních transplantátů
- PNH – somatická mutace PIG-A genu – porucha syntézy GPI kotvy – neschopnost buněk vázat regulátory komplementu DAF a CD59
- Vrozený nebo získaný deficit C1 inh – HAE, AAE – nízká koncentrace C1inh nebo jeho disfunkce
- Onemocnění s nadměrnou aktivací komplementu

Nemoci spojené s genetickým deficitem složek komplementu

deficience složky komplementu	onemocnění
C1q, C1r, C1s, C4 C2	závažné infekce, způsobené nejčastěji opouzdřenými bakteriemi S. pneumoniae, N. meningitidis, H. influenzae typu b SLE a další imunokomplexová onem.
C3	závažné infekce, způsobené nejčastěji opouzdřenými bakteriemi S. pneumoniae, N. meningitidis, H. influenzae typu b
C5 - C9	opakované invazivní infekce N. meningitidis a N. gonorrhoeae, nízká mortalita
MBL, MASP-1,2	Bakteriální infekce dětského věku a v imunokompromitovaných stavech. Deficit LP až 30% normální populace. Nízká hladina MBL – lepší přežití štěpu po transplantaci
Properdin	Invazivní infekce N. meningitidis, vysoká mortalita v postižených rodinách
Faktor H, Faktor I, Faktor B	Bakteriální infekce, onem.pojivové tkáně, MPGN, aHUS,
C1inh	HAE, AAE, rejekce
MCP (CD 46)	aHUS
DAF (CD55)/ CD59	PNH

Onemocnění spojená s nadměrnou aktivací komplementu

- SLE a vaskulitidy – autoimunitní imunokomplexové onemocnění – snížená CP
- MPGN typu II – asociace s C3Nef – vazba na C3 konvertázu AP, inhibuje inaktivaci komplexu faktorem H – prodlužuje tak její poločas rozpadu – spotřeba C3, tvorba C3d,g a vysoký C3d,g/C3
- PSGN – spotřeba C3 a C5 i 6m po infekci, mechanismus neznámý, ale spojený se spotřebou properdinu
- aHUS – disregulace komplementového systému – mutace ve faktoru H, I, B – není schopný kontrolovat aktivaci AP

Algoritmus analýzy komplementu pro onemocnění spojená s aktivací komplementu

Nilson,B,Ekdahl,K, *Complement Diagnostics: Concepts, Indications and Practical Guidelines*

CP funkce, C3,
C3d,g
C3d,g, *1000/C3

Při normálních hodnotách – 95% pravděpodobnost normálního stavu kompl., U snížení CP rozliší, je-li nízká funkce CP důsledkem spotřeby komplementu, nebo důsledkem deplece nebo disfunkce

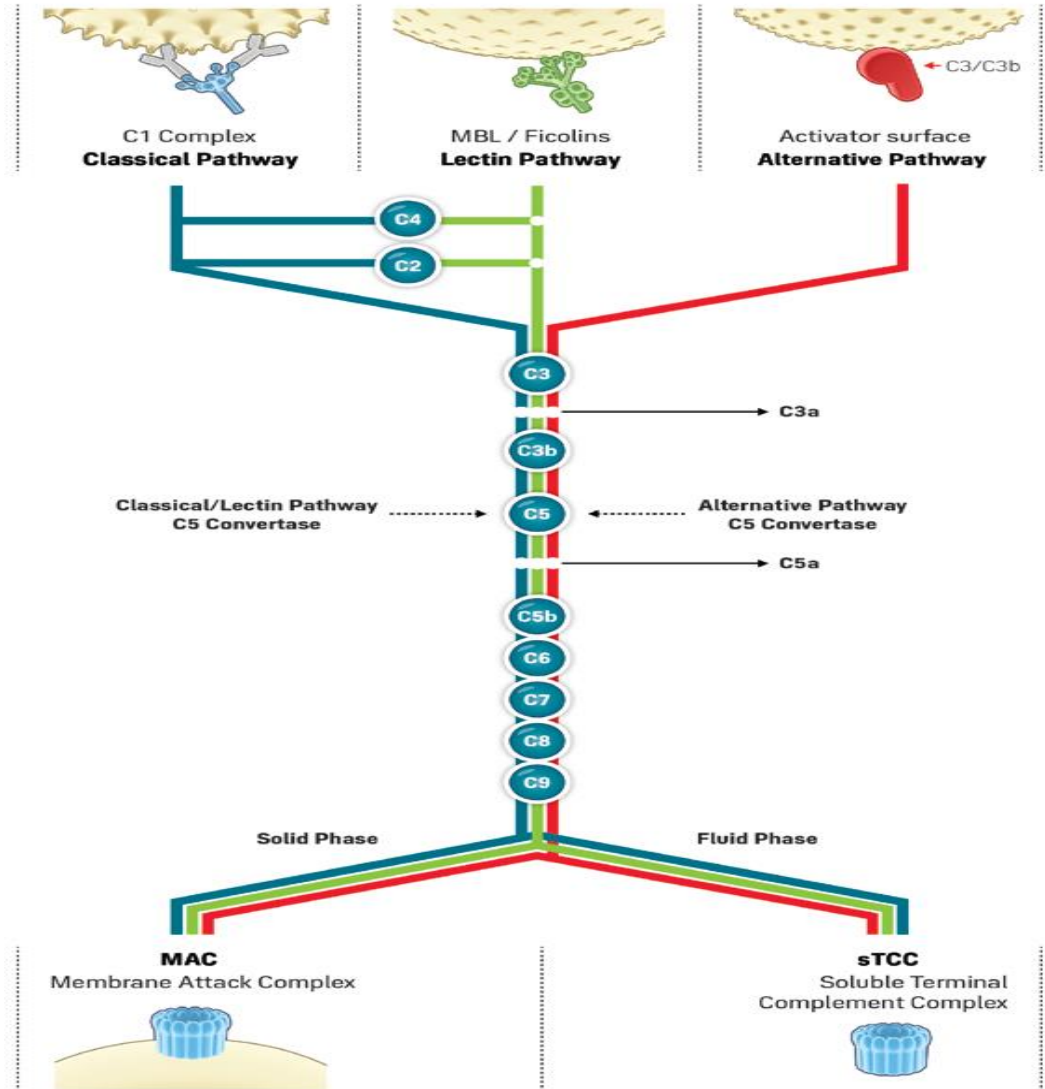
AP funkce, Faktor
B,C4

Prověření fce AP, CP a terminální dráhy. Rozlišení PSGN a MPGN

C3Nef, Properdin,
C5

+ známky aktivace AP
Určení MPGN

Pátření po aHUS



Možnosti lab. diagnostiky

analýza	HAE/AAE	SLE,vask	PSGN	MPGN	deficit
CP	N	L	L	L	*
AP	N	N(L)	L	L	*
C1inh-konc	L	N	N	N	*
C1inh- fce	L	N	N	N	*
C1q	(L)	L	N	N	*
C4	L	L	N	N	*
C3	N	L	L	L	*
C5	N		L	(L)	*
faktor B	N	N	L	N	*
Properdin	N		L	N	*
C3d	N	H	H	H	N
C3d,g/C3	N	H	H	H	N

* Různé (podle deficitu komponenty), N – normální, L-nízký, H-vysoký

Princip metody

Princip metody – ELISA technika

Specifické koutování jamek pro jednotlivé dráhy komplementu:

- IgM – klasická dráha
- LPS – alternativní dráha
- Manan – lektinová dráha
- Ficolin 3 – lektinová dráha

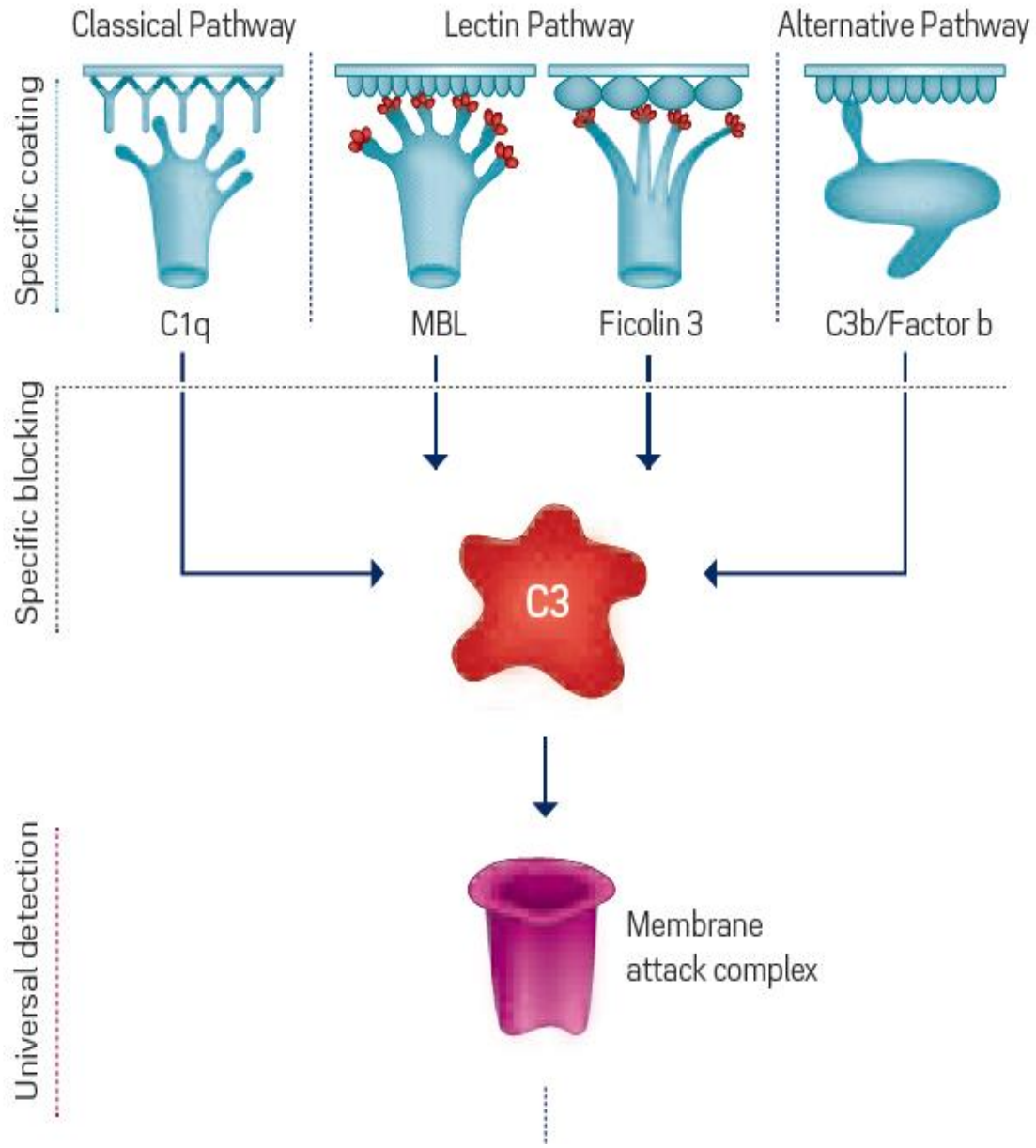


Blokování ostatních drah komplementu zajištěna použitím specifického blokovacího pufru při ředění vzorků

Detekce stejná u všech tří drah – enzymatický konjugát s protilátkou proti neoantigenu, který je exprimován při tvorbě MAC. Je tedy produkován jako výsledek aktivace komplementu a jeho množství je tak úměrné funkční aktivitě dráhy komplementu

Pro každé stanovení se přidává pozitivní a negativní kontrola:

- posouzení validity testu
- semikvantitativní hodnocení



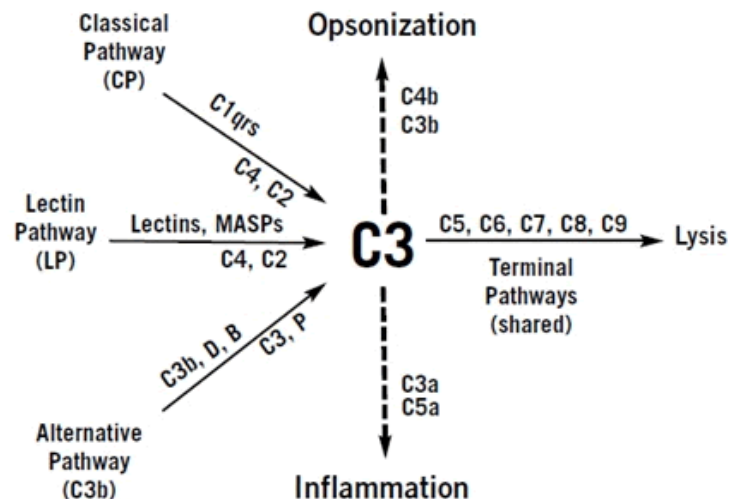
Výsledky a hodnocení

Míra funkční aktivity komplementu je hodnocena semikvantitativně jako % aktivity pozitivní kontroly

Referenční meze pro zdravou kontrolu a výsledky pro deficientní vzorky dle výrobce

dráha komplementu	referenční rozmezí (2SD)	meze pro deficientní vzorky
klasická	66-113	<15
lektinová	0-125	<5
alternativní	25-144	<5

klasická dráha	MBL dráha	alternativní dráha	možná deficeince komplementu
pozitivní	pozitivní	pozitivní	žádná
negativní	pozitivní	pozitivní	C1q, C1r, C1s
pozitivní	pozitivní	negativní	Properdin, faktor B, faktor D
pozitivní	negativní	pozitivní	MBL, MASP1,2
negativní	negativní	negativní	C3, je-li spotřeba C3 pak def.v terminální dráze (C5, C6, C7, C8, C9)



Využití testu

- 1. krok při pátrání po komplementových deficiencích při atypických recidivujících infekcích
- Informace nejen o koncentraci složek, ale i o jejich funkci
- Diferenciální diagnostika a monitorování onemocnění zprostředkovaných aktivací komplementu

Nevýhody testu

- Standardizace metody
- Preanalytika
- Dávkové provedení testu