

616.831-004-085-078:355.721

ROZTROUŠENÁ SKLERÓZA MOZKOMÍŠNÍ V PODMÍNKÁCH VOJENSKÉ NEMOCNICE**Část II. Některá imunologická vyšetření**

MUDr. Vladko BYDŽOVSKÝ, MUDr. Irena MALKUSOVÁ
Oddělení pro nemoci nervové vojenské nemocnice, České Budějovice
(náčelník: plk. MUDr. Josef Mazánek, CSc.)
HEO, České Budějovice
(velitel: plk. MUDr. Jaroslav Šindelář)

Úvod

Účast imunitních mechanismů v rozvoji roztroušené sklerózy mozkomíšní (dále RS) je velice pravděpodobná (5, 6, 7, 8, 11, 12, 13, 14, 15, 16). Ke zjišťování stavu imunity v podmínkách vojenské nemocnice může sloužit celá řada testů. Testujeme jednak stav humorální imunity (5, 6, 7, 9, 10, 14), jednak stav imunity buněčné (4, 7, 11, 14). Zvláště stav buněčné imunity bývá podceňován (8). Ke zkouškám na buněčnou imunitu řadíme metody *in vitro*, jako je blastická transformace lymfocytů, inhibice migrace makrofágů, rozetový test a další vesměs pracovní metody, jednak testy *in vivo*, z nichž nejdéle jsou známy kožní testy (4).

V našich podmínkách jsme se zaměřili jednak na sledování protilátek proti bazickému encefalitogennímu proteinu soupravou ENC-HEM Sevac (2, 9), jednak na ukazatele nespecifického zánětu — stanovení C-reaktivního proteinu (1, 5). Ke zjišťování stavu buněčné imunity používáme testy blastické transformace lymfocytů, *in vivo* buněčnou imunitu nejsnadněji zjišťujeme kožními testy. Používáme jednak testy anamnestické (tuberkulin, toxoplazmin, streptokináza-streptodornáza), jednak testy nespecifické, *de novo* (fytohemaglutinin).

Materiál a metodika

V době od 1. 1. 1983 do 30. 6. 1984 jsme vyšetřili celkem 83 ambulantních i hospitalizovaných pacientů. U 70 pacientů jsme vyšetřili protilátky proti bazickému encefalitogennímu proteinu soupravou ENC-HEM Sevac, u 60 pacientů jsme vyšetřili CRP a u 23 pacientů jsme vyšetřili stav buněčné imunity testem blastické transformace lymfocytů a kožními testy (tuberkulin, toxoplazmin, streptokináza-streptodornáza, fytohemaglutinin).

Ze 70 pacientů vyšetřovaných soupravou ENC-HEM Sevac bylo 35 pacientů s primárně remitentní formou, z toho 20 pacientů v atace a 15 pacientů v remisi onemocnění, 35 pacientů bylo s chronicko progredientní formou. 60 pacientů vyšetřovaných na CRP bylo postiženo tak, že 32 pacienti byli postiženi primárně remitentní formou, z toho po 16 jak v atace, tak i v remisi, 28 pacientů bylo v chronicko progredientní formě. Buněčnou imunitu jsme vyšetřili u 23 pacientů. Z nich 14 bylo v chronicko progresivní fázi onemocnění, 9 s primárně remitentním typem postižení, z toho 5 v atace, 4 v remisi.

Pacienti byli vybráni jednak z hospitalizovaných nemocných v době vyšetření, jednak z ambulantních pacientů, kteří se v uvedené

dobu dostavili k ambulantnímu vyšetření. Jako kritéria pro vyšetření sloužila jistá klinická diagnóza potvrzená obvyklými pomocnými vyšetřeními [7].

Výsledky

Ze 70 pacientů vyšetřených soupravou ENC-HEM jsme dosáhli pozitivních vyšetření u 13 pacientů v atace primárně remitentního typu postižení, u 4 pacientů v remisi onemocnění a u 30 pacientů v chronickoprogresivní fázi onemocnění. Bližší výsledky ukazuje tabulka 1.

Tab. 1

Výsledky vyšetření soupravou ENC-HEM

Charakter postižení	Počet pacientů	% pozitivních výsledků	Průměrný výsledek
ataka	20	65	1:18,7
remise	15	26,7	1: 8,46
chron. progresse	35	85,7	1:37,48
celkem	70	67,1	1:25,90

Ze 60 pacientů vyšetřovaných na CRP jsme dosáhli celkem 5 pozitivních výsledků, z toho u 3 pacientů v atace primárně remitentní formy a u 2 pacientů v chronicko progredientní fázi choroby. Bližší údaje ukazuje tabulka 2.

Tab. 2

Výsledky vyšetření CRP

Charakter postižení	Počet pacientů	Výsledek vyšetření
remise	16	vždy negativní
ataka	16	3 × pozitivní
chronická progresse	28	2 × pozitivní
celkem	60	5 × pozitivní

Výsledky vyšetření stavu buněčné imunity ukazuje tabulka 3.

Diskuse

Imunologie je nový obor [8], který se teprve snaží získat své místo ve vojenských nemocnicích. Vzhledem k tomu, že teprve s tímto vyšetřením začínáme, byly naše možnosti dosti skromné. Naše práce obsahuje jen některá vyšetření, která bylo možné na našich pracovištích v uvedenou dobu provádět. U RS se uplatňuje jak buněčná (především), tak humorální imunita. Buněčná je cílená proti bazickému proteinu, humorální proti galaktocerebrosidu [8].

Tab. 3

Vyšetření stavu buněčné imunity

Metoda	Charakter postižení	Počet pacientů	Výsledek vyšetření
blastická transformace	ataka	5	57,0 %
	remise	4	57,75 %
Mantoux	chron. progresse	14	60,55 %
	ataka	5	1 × pozit.
	remise	4	1 × pozit.
fytohemaglutinin	chron. progresse	14	8 × pozit.
	ataka	5	0 pozit.
	remise	4	1 × pozit.
streptokináza	chron. progresse	14	2 × pozit.
	ataka	5	1 × pozit.
	remise	4	0 pozit.
toxoplazmin	chron. progresse	14	0 pozit.
	celkem	23	vždy neg.

Rozdílný počet pacientů v jednotlivých skupinách vyšetřovaných souvisí s postupným zaváděním metod do praxe. Zpočátku jsme prováděli jenom vyšetřování ENC-HEM, které se ale zase v poslední době již neprovádí. Proto chybí korelace výsledků ENC-HEM s kožními testy. Tuto jsme mohli provést pouze u 10 pacientů, kde nebylo možné zjistit závislost mezi hodnotami obou skupin vyšetření.

Dle získaných výsledků se nám osvědčilo vyšetřování protilátek proti bazickému encefalitogennímu proteinu soupravou ENC-HEM Sevac. Nejvyšších titrů dosahovali pacienti s chronicko progredientní formou onemocnění a pacienti s primárně remitentní formou při atace onemocnění. V remisi byly hodnoty titrů malé, většinou negativní — až 1 : 4. Pouze jeden pacient měl titr 1 : 64, čímž je konečný výsledek skupiny (1 : 8,46) poněkud zkreslen. Dle našich zkušeností se dala podle titrus do určité míry stanovit i prognóza onemocnění — pacient v remisi přišel asi za měsíc s atakou onemocnění, pacienti s nižším titrem měli většinou příznivější průběh i lepší reakci na terapii. Naše výsledky jsou odlišné od výsledků Ryškové aj. [11]. Tito autoři zjistili přítomnost protilátek u 54,5 % nemocných v atace, u 70 % nemocných v remisi. Ve skupině nemocných, u kterých onemocnění trvalo méně než 3 roky, byly protilátky přítomny v 71,4 %, nad 3 roky byly zjištěny protilátky v 57,1 %. Statistickou analýzou byl zjištěn statisticky významnější výskyt protilátek u nemocných v remisi a u těch nemocných, u nichž celková doba onemocnění není delší než 3 roky. Přítomnost protilátek byla zjišťována autory u 11 nemocných v atace a u 10 nemocných v remisi onemocnění.

U kontrolních osob (pacienti se subdurálním míšním hematoma, po cévních mozkových příhodách a s vertebrogenními afekcemi) jsme zjistili pozitivitu testu u 4 nemocných z 10. Doutlík (2) udává ve skupině 126 zdravých pozitivní nález v séru u 6 pacientů (4,75 %).

C-reaktivní protein je bílkovina lidské plazmy, která se za fyziologických podmínek v krvi nevyskytuje. Objevuje se za patologických procesů, hlavně při zánětech a procesech spojených s rozpadem tkání (1). Vedle dalších faktorů, jako je např. alfa 1 antitrypsin, alfa 2 makroglobulin, fibrinogen, ceruloplazmin, C3 složka komplementu a jiné je CRP označován jako bílkovina akutní fáze zánětu. V našem případě jsme jej stanovovali kvantitativně radiální difúzí v agaru (1). Hrazdara se spolupracovníky (5) se zabývali významem stanovení CRP v diagnostice a hodnocení průběhu RS. Vyšetřili séra a moky 96 nemocných s různými formami RS. Pozitivitu při jednorázovém vyšetření zjistili v 70,8 % případů. Ve fázi klinického zlepšování byla četnost i stupeň positivity sérového CRP signifikantně nižší než při zhoršování nemoci (63,2 % : 96,0 %). Mezi polysklerotiky se stabilizovaným stavem choroby a zlepšenými pacienty nebyly výsledky statisticky významné. Dowling aj. (cit. 5) zjistili pozitivitu CRP u pacientů s RS v 69,2 % případů, podobné výsledky měli i Schuller a Allinquant (cit. 5). V našem souboru 60 vyšetřovaných jsme měli pozitivní výsledky jenom u 5 pacientů při stejné metodice. Rozdíl si nedokážeme vysvětlit.

Buněčná imunita je v patogenezi RS považována za významnější složku (7). Doutlík a spol. (3) prováděli cytoferometrické sledování demyelinizačních onemocnění. U 77 nemocných se zánětlivými afekcemi centrální i periferní nervové soustavy a u 13 zdravých vyšetřili buněčnou přecitlivělost na nervové antigeny a čistěný tuberkulin. Pozitivní výsledky dosahovali u RS v období ataky, zatímco remise byla spojena s poklesem nálezů k normě. Kibler a Knowles zjistili výrazně sníženou inkorporaci thymidinu do DNA normálních lymfocytů (cit. 11). Colby zjistil u nemocných s RS (cit. 11) zvýšené odpovědi blastickou transformací na bazický protein u nemocných léčených kortikoidy, snad inhibicí lymfotoxického faktoru obsaženého v séru nemocných. Ryšková (11) zjistila se spolupracovníky snížené hodnoty inkorporace thymidinu po stimulaci fytohemaglutininem ve skupině 28 nemocných v akutní atace onemocnění. U 11 nemocných v remisi byl průměrný index inkorporace bez většího rozdílu proti kontrolní skupině.

Stav buněčné imunity jsme testovali kožními testy a blastickou transformací lymfocytů. Takto testujeme odpověď zprostředkovanou buňkami na popud buď polyklonálním aktivátorem, jako jsou rostlinné mitogeny concavalin A a fytohemaglutinin, nebo antigeny, se kterými se již organismus setkal, a tedy má i T-lymfocyty

paměťové, jež mají receptory pro daný antigen (8). Jedním z možných způsobů testování stavu jsou kožní testy. Při testování jsme použili jednak anamnestických testů Mantoux II., streptokinázu-streptodornázu a toxoplazmin k vybavení anamnestické odpovědi. K testování odpovědi de novo jsme použili fytohemaglutinin (fy Welcome). Antigeny jsme aplikovali na volární stranu předloktí v množství 0,1 ml i. d., odečet prováděn po 24 a 48 hodinách. Jako pozitivní je hodnocen erytém minimálně o průměru 0,5 cm, vyššími stupni jsou indurace, vezikuly a nekróza.

Druhým testem hodnocení stavu buněčné imunity byla blastická transformace lymfocytů. Kontaktem senzibilizovaných buněk s antigenem, který již buňky senzibilizoval, dojde k morfologické změně buněk navelké blastické buňky s bledě se barvícím jádrem a bazofilní cytoplazmou. K témuž efektu dojde, použijeme-li např. polyklonální aktivátor fytohemaglutinin. Test jsme prováděli z plné krve a hodnotili jej morfologicky (Smetanův nukleolární test). Normální hodnoty na našem pracovišti se pohybují mezi 50–55 % transformovaných lymfocytů.

V naší skupině 5 nemocných v akutní atace a 4 nemocných v remisi onemocnění jsme nezjistili při výsledcích testu blastické transformace významnějšího rozdílu. Zato ve skupině 14 nemocných s chronickou progresí byla hodnota něco větší. Nemocní v atace měli prakticky všichni nasazenou terapii kortikoidy, nemocní v remisi měli tuto léčbu jen v 1 případě udržovací (10 mg Prednisonu ob den). Nemocní ve skupině chronické progresí nemoci měli v 10 případech ze 14 nasazenou udržovací terapii kortikoidy (opět 10 mg Prednisonu ob den), což by eventuálně potvrzovalo zjištění Colbyho (cit. 11). Výsledky kožních testů potvrzují známou skutečnost, že u nemocných s RS se zjišťuje snížená buněčná imunita (7).

Souhrn

Autoři vyšetřili celkem 83 ambulantních i hospitalizovaných nemocných v době od 1. 1. 1983 do 31. 6. 1984. Ve skupině 70 nemocných zjistili při vyšetření protilátek proti bazickému encefalitogennímu proteinu soupravou ENC-HEMSevac pozitivitu u 85,7 % případů z 35 nemocných v chronické progresi nemoci a u 65 % z 20 nemocných v atace onemocnění. V těchto skupinách byly i nejvyšší titry protilátek. CRP ale zjistili pozitivní jen u 5 nemocných z vyšetřovaných 60, z toho u 3 pacientů v atace primárně remitentní formy onemocnění a u 2 pacientů v chronické progresi. Test blastické transformace lymfocytů měli vyšší u nemocných v chronické progresi onemocnění než u primárně remitentní formy nemoci. Výsledky kožních testů prokázaly snížení buněčné imunity nemocných s RS.

Literatura

1. BOZDĚCH, V. - CHVÁLOVÁ, M.: Kvantitativní stanovení C-reaktivního proteinu precipitační reakcí. Čas. Lék. čes., 123, 1984, č. 16, s. 485—488.
2. DOUTLÍK, S. - KYSELOVÁ, M. - VACEK, Z.: Klinické použití soupravy Sevatest ENC-HEM. Zpráva Sevac, 1977, č. 2, s. 54—57.
3. DOUTLÍK, S. - KUČERA, V. - VACEK, Z.: Cytoferometrické sledování demyelinizačních onemocnění. Čas. Lék. čes., 119, 1980, č. 15—16, s. 455—460.
4. DOUTLÍK, S. - VACEK, Z. - PEKÁREK, J. - VEPŘEKOVÁ, A.: Nový přípravek pro hodnocení stavu buněčné imunity in vivo — Imunoskintest. Prakt. Lék., 64, 1984, č. 20, s. 785—760.
5. HRAŽDIRA, Č. L. - ZOUHAR, A. - POLČÁKOVÁ, M.: Význam stanovení C-reaktivního proteinu v diagnostice a hodnocení průběhu sclerosis multiplex. Čs. Neurol. Neurochir., 43/76, 1980, č. 5, s. 290—295.
6. HRAŽDIRA, Č. L. - HRAZDÍROVÁ, V. - POLČÁKOVÁ, M.: Cirkulující imunokomplexy u mnohočetné sklerózy. Čs. Neurol. Neurochir., 47/80, 1984, č. 3, s. 173 až 176.
7. JEDLIČKA, P.: Roztroušená sklerosa mozkomíšní. Praha, Avicenum 1981.
8. JEDLIČKA, P. aj.: Imunologie v neurologii. Kurs ILF, Praha 1984.
9. JÍLEK, D. - RICHTER, J. - HAASOVÁ, L. - ŠVEJDA, J.: Sledování protilátkové aktivity s použitím soupravy ENC-HEM Sevac u pracovníků infekčního oddělení v Severočeském kraji. Čas. Lék. čes., 123, 1984, č. 38 až 39, s. 1195—1197.
10. KYSELOVÁ, M. aj.: Souprava ENC-HEM SEVATEST pro vyšetřování protilátek proti mozkové tkáni. Zprávy Sevac, 1977, č. 2, s. 51—53.
11. RYŠKOVÁ, O. - PEKÁREK, J. - VEJBORA, O. - CHROMOVÁ, L.: Některá imunologická vyšetření u mozkomíšní sklerózy. Čs. Neurol. Neurochir., 44/77, 1981, č. 2, s. 108—115.
12. ŠAFÁŘ, J. - VYMAZAL, J. - TICHÝ, J. - RŮŽICKOVÁ, V.: Syntéza IgG v centrálním nervovém systému u roztroušené sklerózy a jiných neurologických onemocnění. Čas. Lék. čes., 124, 1985, č. 36, s. 1131 až 1136.
13. VYMAZAL, J.: Etiopatogenese roztroušené sklerózy. Prakt. Lék., 55, 1975, č. 2, s. 46—48.
14. VYMAZAL, J. - TICHÝ, J. - KRÁSENSKÁ-DLABAČOVÁ, J.: Některé biochemické a imunologické aspekty demyelinizací. Praha, Avicenum 1977.
15. VYMAZAL, J. aj.: Závěrečná oponentura Státního výzkumného plánu katedry neurologie VII-5-2: demyelinizační onemocnění. Praha 1985.
16. VYMAZAL, J. - TICHÝ, J. - ŠAFÁŘ, J.: K současné problematice výzkumu demyelinizací. Čs. Neurol. Neurochir., 48/81, 1985, č. 6, s. 344—350.

Klíčová slova: Roztroušená skleróza mozkomíšní; Imunologická vyšetření u RS; Buněčná a humorální imunita u RS.