

Funkční vyšetření imunity a vybraných parametrů zánětu u pacientů s roztroušenou sklerózou

Ilona Součková^{1,3}, Ondřej Souček^{1,3}, Jan Krejsek^{1,3}, Zbyšek Pavelek^{2,3}

¹ Ústav klinické imunologie a alergologie Fakultní nemocnice Hradec Králové

² Neurologická klinika Fakultní nemocnice Hradec Králové

³ Lékařská fakulta v Hradci Králové



Úvod:

Biomarkery, které pomáhají předvídat progresi roztroušené sklerózy (MS), monitorovat probíhající aktivitu MS a hodnotit odpověď na léčbu, jsou nedílnou součástí důležitých rozhodnutí týkajících se léčby MS. V současné době je stále nedostatek biomarkerů, které by umožnily snadnější rozlišení klinických forem MS a tím vhodný výběr léčby.

Soubor pacientů:

Studijní soubor byl složen z nemocných se dvěma formami MS, relabující-remitující formou léčenou fingolimodem (fMS) a sekundárně progresivní formou farmakologicky neléčenou (pMS) a ze zdravých kontrol (HC).

Do studie bylo zařazeno 260 účastníků

- 78 pacientů s fMS
- 96 pacientů s pMS
- 86 HC

Metodika:

Vyšetření QuantiFERON Monitor (QFM) bylo provedeno z heparinizované plné krve, která byla následně nespecificky stimulována pomocí pelet QFM LyoSphere. Inkubace krve probíhala po dobu 16 až 24 hodin, poté byla odebrána a testována plazma. Vyšetření QFM slouží k monitorování stavu imunitního systému pomocí nespecifické stimulace leukocytů s následným stanovením hladiny interferonu gama (IFN- γ) uvolněného z aktivovaných buněk.

Ze stimulovaných vzorků bylo dále provedeno i screeningové stanovení hladiny vybraných markerů zánětu pomocí 14-plexového cytokinového panelu technologií Luminex (VEGF, IFN- α , IFN- γ , IL-1 α , IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, IL-7, IL-10, IL-15, IL-33).

Dalším krokem byla confirmace nadějných výsledků konkrétních analytů pomocí metody ELISA.

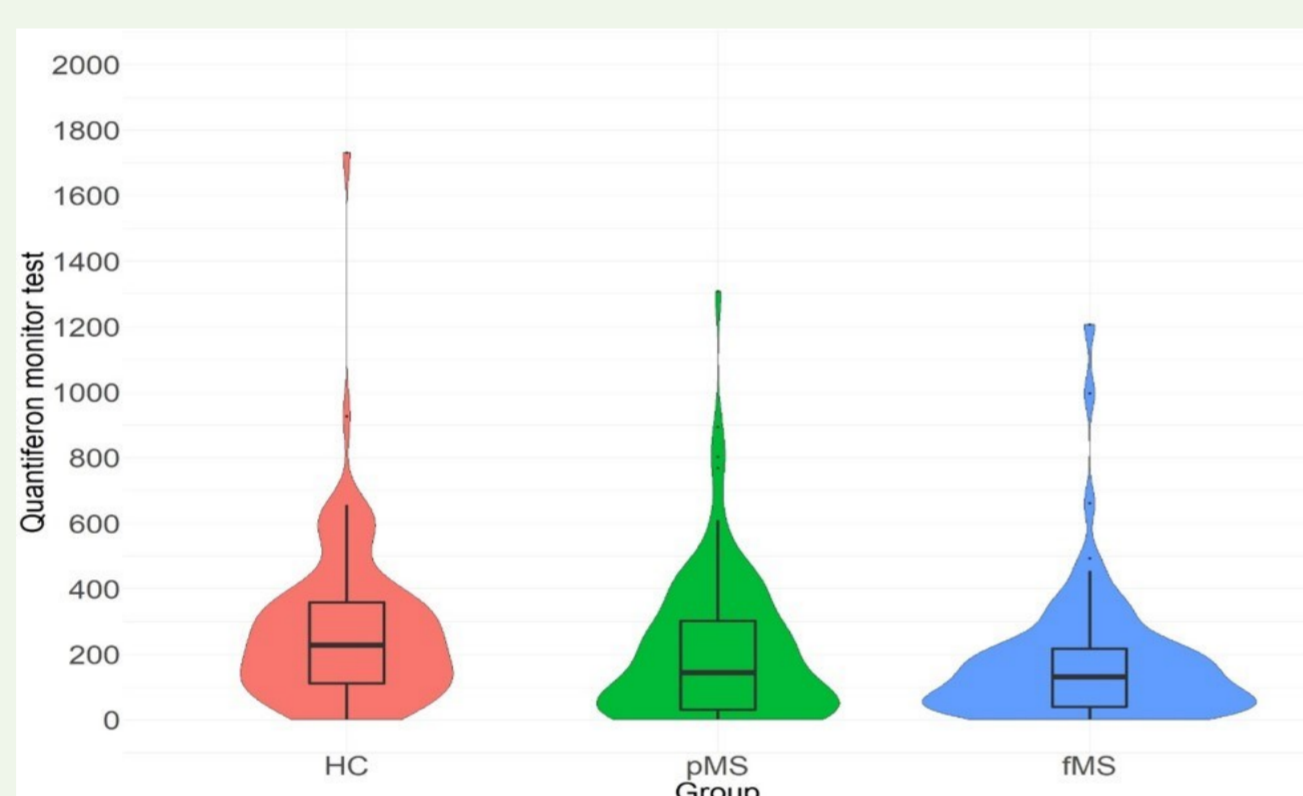
Výsledky:

Výsledky ukázaly rozdíl v tvorbě IFN- γ mezi HC a pMS ($p=0.007$) a mezi HC a fMS ($p=0.049$), přičemž u pacientů s MS byly zjištěny nižší hodnoty než u HC. Mezi skupinami MS nebyl zjištěn staticky významný rozdíl (graf č.1).

Všechny tři skupiny se vzájemně lišily v produkci IL-1 α (HC x pMS, $p=0.01$; HC x fMS, $p=0.03$; pMS x fMS, $p<0.001$; graf č.2) i v produkci IL-1ra (HC x pMS, $p=0.02$; HC x fMS, $p<0.001$; pMS x fMS, $p=0.04$; graf č.3). Hladiny VEGF se v rámci skupin statisticky významně nelišily (graf č.4). Změny v koncentraci IL-6 byly pozorovány mezi kontrolní skupinou a fMS ($p<0.001$) a mezi skupinami s MS (pMS x fMS, $p<0.001$; graf č.5). Výsledky jsou přehledně prezentovány v tabulce č.1. Z výsledků vyplývá, že léčba fingolimodem je spojena se zvýšenou produkcí prozánětlivého cytokinu IL-1 α i antagonisty jeho receptoru.

Grafy:

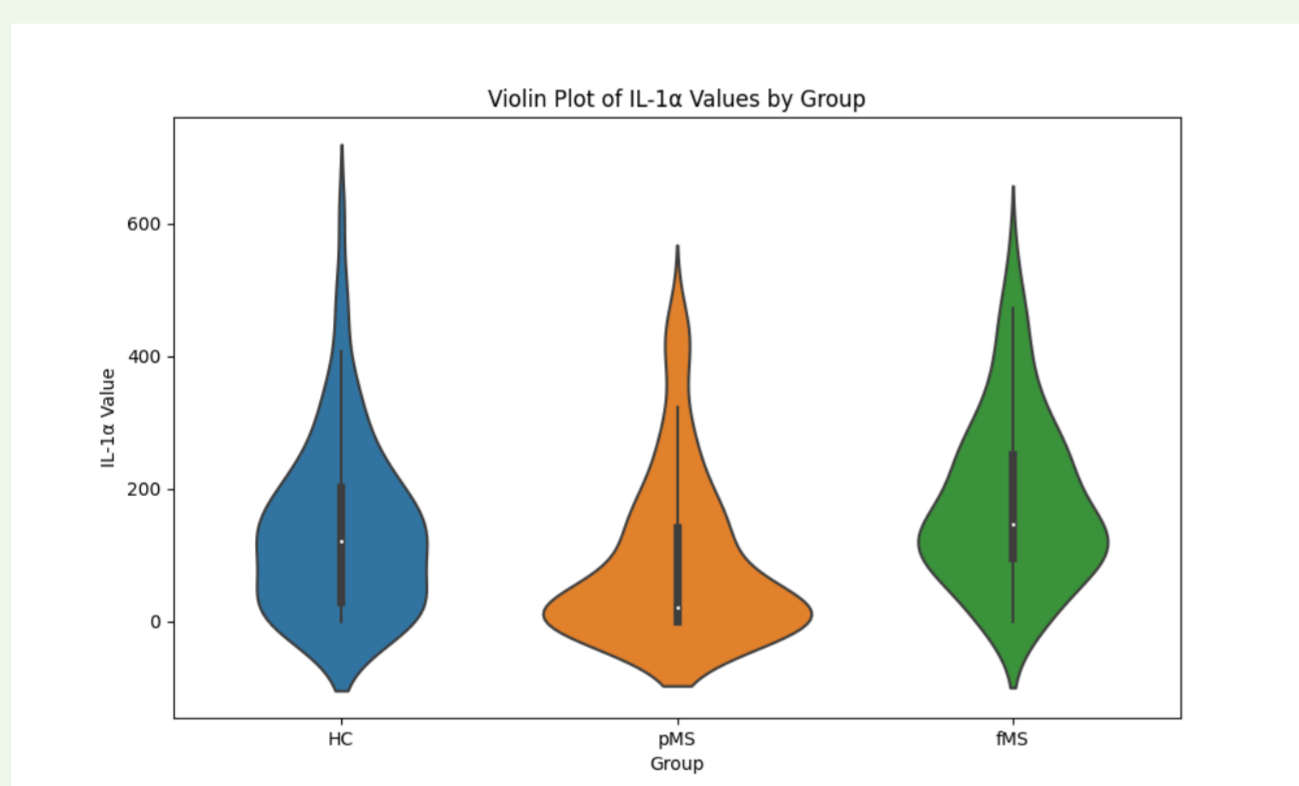
Graf č. 1 – Hladiny IFN- γ



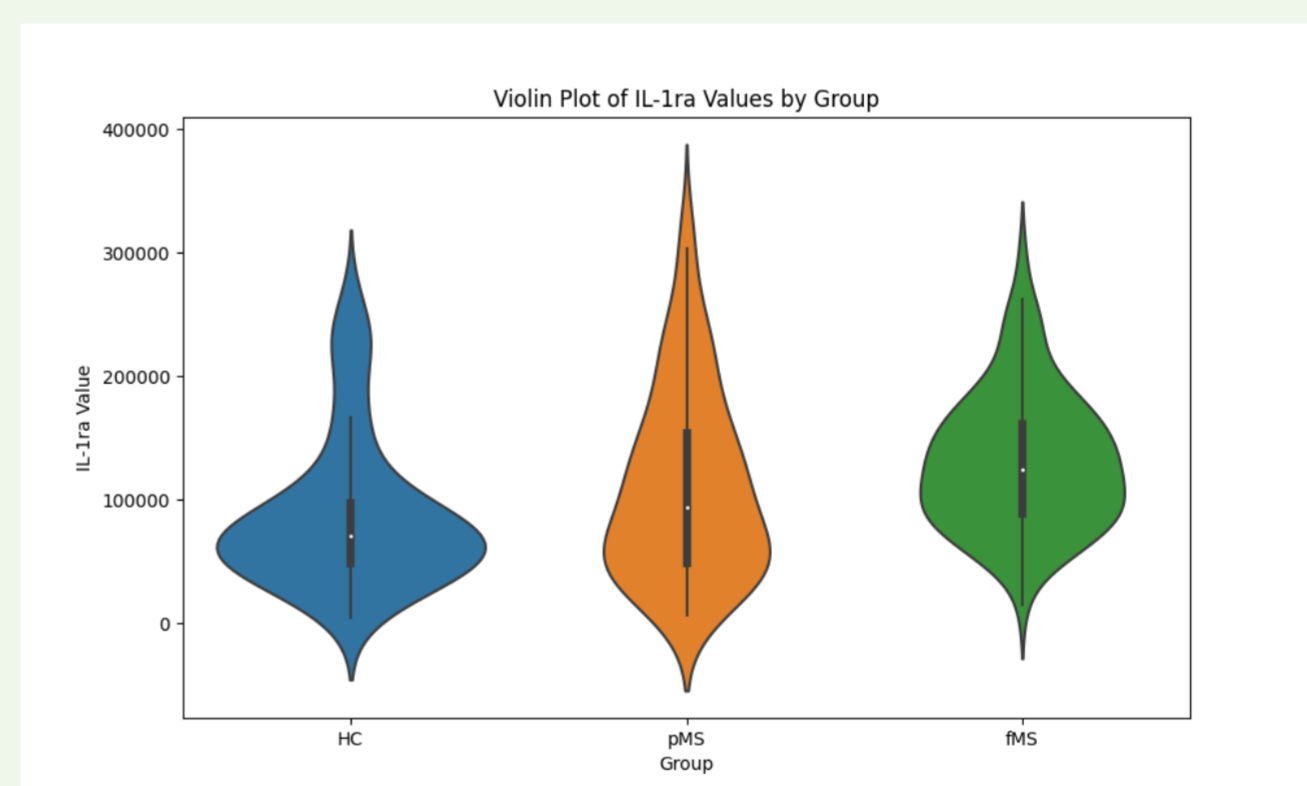
Tabulka č. 1

	HC x pMS	HC x fMS	pMS x fMS
IL-1α	0.01	0.03	<0.001
IL-1ra	0.02	<0.001	0.04
VEGF	0.67	0.27	0.13
IL-6	0.84	<0.001	<0.001

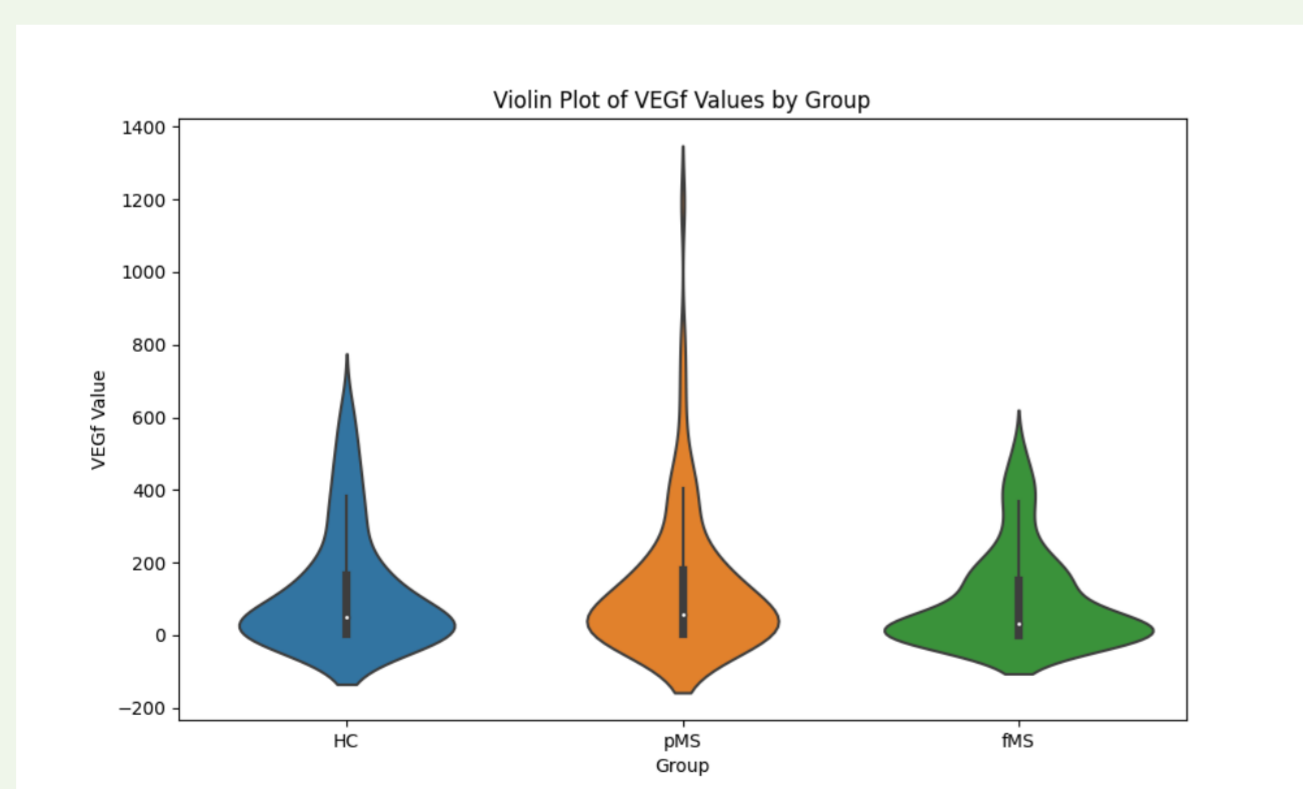
Graf č. 2 – Hladiny IL-1 α



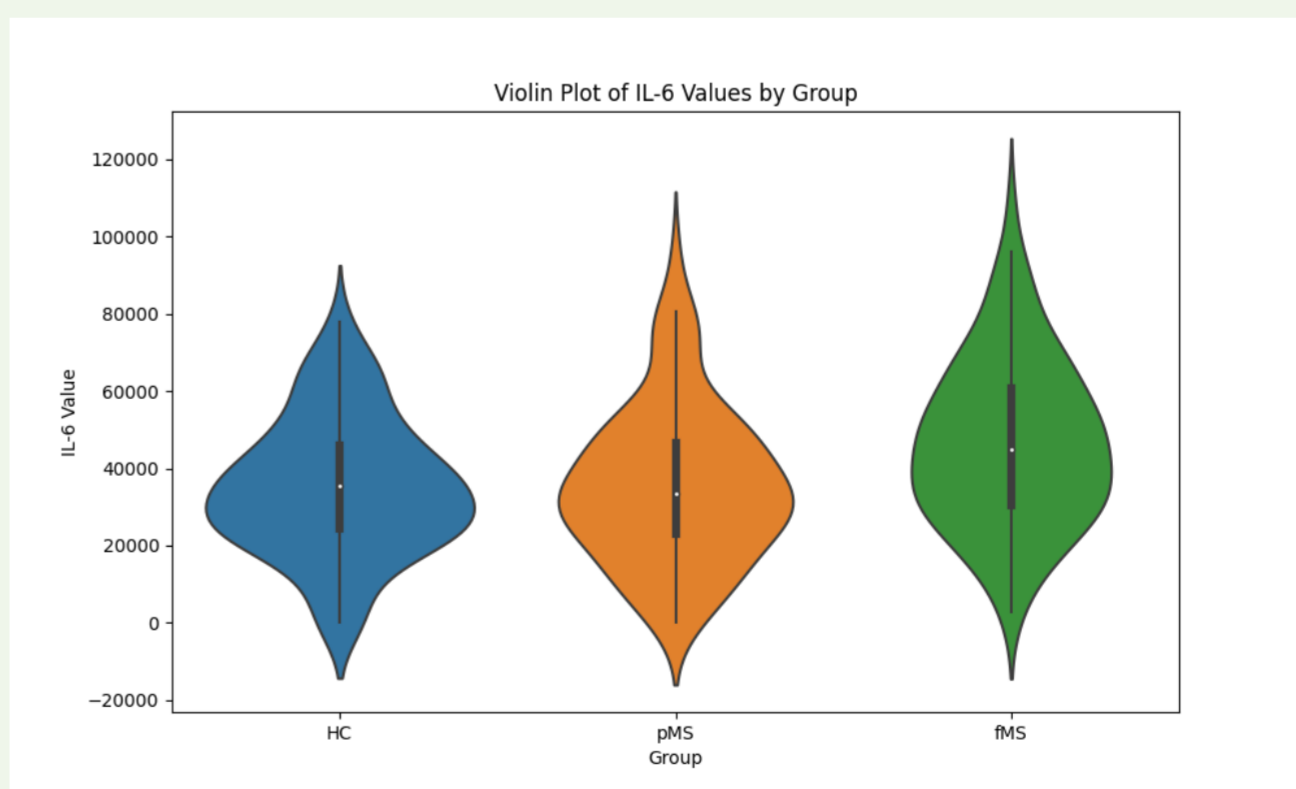
Graf č. 3 – Hladiny IL-1ra



Graf č. 4 – Hladiny VEGF



Graf č. 5 – Hladiny IL-6



Závěr:

Výsledky ukázaly, že zdravá kontrolní skupina vykazuje vyšší schopnost produkce IFN- γ než pacienti s MS, což poukazuje na nižší schopnost imunitního systému pacientů s MS reagovat na nespecifickou stimulaci. Výsledky dále poukazovaly na rozdílné koncentrace prozánětlivého cytokinu IL-1 α , antagonisty receptoru IL-1 a prozánětlivého cytokinu IL-6 u pacientů s MS proti zdravé kontrole. Léčba fingolimodem je spojena s potlačením imunitního systému a prokazatelným snížením schopnosti tvorby IFN- γ , zároveň zvýšenými hladinami prozánětlivých cytokinů IL-1 α , IL-6 a antagonisty receptoru IL-1. Imunomodulační léčba je dnes klíčová pro léčbu MS, neméně zásadní je však monitorování imunostatusu imunokompromitovaných pacientů, což námi zvolený funkční test QFM umožňuje.