

Doporučení pro laboratorní diagnostiku autoprotilátek u diabetu 1. typu

Recommendations for laboratory testing of type 1 diabetes - related autoantibodies

IVO LOCHMAN¹, ONDŘEJ CINEK², ŠTĚPÁNKA PRŮHOVÁ², VÍTĚZSLAV NOVÁK¹

¹*Odbor imunologie a alergologie Zdravotního ústavu se sídlem v Ostravě*

²*Pediatrická klinika, Univerzita Karlova, 2. lékařská fakulta a Fakultní nemocnice v Motole, Praha*

SOUHRN

Tento text vznikl na základě výsledků kontrolních cyklů externího hodnocení kvality (EHK) organizovaných pro laboratorní diagnostiku diabetu mellitus 1. typu pomocí autoprotilátek, který je organizován SEKK spol. s r. o. a Sekcí laboratorní imunologie České společnosti alergologie a klinické imunologie (SLI ČSAKI). Smyslem článku je informovat zainteresovaná klinická a laboratorní pracoviště o současném stavu této diagnostiky u nás.

Klíčová slova: diabetes mellitus 1. typu (DM1), MODY, LADA, ICA, GADA, anti-IA2, IAA

SUMMARY

s recommendations stem from the results of the external quality control assessment (EQA) of laboratory testing for type 1 diabetes (DM1) – related antibodies. The quality control was run by the SEKK Company and the Laboratory Immunology Section of the Czech Society for Allergy and Clinical Immunology (SLI ČSAKI) over 2002 – 2006. The paper brings information about the current state of DM1-related antibody testing in the Czech Republic.

Key words: type 1 diabetes mellitus (DM1), MODY, LADA, ICA, GADA, anti-IA2, IAA

Úvod

Tento text vznikl na základě výsledků kontrolních cyklů „IDDM“ systému externího hodnocení kvality (EHK) laboratorních metod organizovaných v ČR prostřednictvím SEKK spol. s r. o. a Sekcí laboratorní imunologie České společnosti alergologie a klinické imunologie (SLI ČSAKI) v letech 2002–2006. Má informovat zainteresovaná pracoviště jak klinická, tak laboratorní o současném stavu této diagnostiky v ČR. Byl vypracován v lednu 2007 a schválen výborem České diabetologické společnosti (www.diab.cz) 19. 2. 2008 s tím, že výbor navrhl odstranění algoritmu. Dále byl schválen výborem ČSAKI (www.csaki.cz) v plném rozsahu 6. 3. 2008. V r. 2007 navázali autoři příspěvkem spolupráci s organizátory DASP (Diabetes Autoantibody Standardization Program), který si

klade za cíl zlepšovat citlivost, specifickou a srovnatelnost stanovování autoprotilátek asociovaných s diabetem melitem 1. typu a který vznikl zásluhou spolupráce IDS (Immunology of Diabetes Society) a CDC (Centers for Disease Control and Prevention)). Výsledky posledního kontrolního cyklu DASP2007 byly prezentovány na meetingu ID-9, který proběhl v Miami v listopadu loňského roku, a budou prezentovány ve speciálním čísle *Annals of New York Academy of Science (ANYAS)* nazvaném *Immunology of Diabetes V*.

Vlastní doporučení

Diabetes mellitus 1. typu (DM1) je asociován s výskytem řady autoprotilátek. Komerčně jsou pro diagnostiku dostupné a nejčastěji využívané protilátky proti třem

molekulárně definovaným antigenům: proti isoformě dekarboxylázy kyseliny glutamové o molekulové váze 65 kDa (anti-GAD, GADA, resp. anti-GAD65), proti tyrosin-fosfatáze IA2 (anti-IA2) a proti inzulinu (IAA). Dalšími, méně často vyšetřovanými protilátkami, jsou protilátky proti ostrůvkovým buňkám pankreatu (ICA), které jsou kromě výše zmíněným antigenům namířeny ještě proti dalším antigenům, často nedefinovaným.

Vyšetřování protilátek má své místo v rámci kontrolovaných studií zaměřených na predikci a prevenci diabetu 1. typu, a to jak před nástupem vlastních imunopatologických procesů, tak v počínajících stádiích autoimunitní inzulitidy. Další aplikaci lze vidět při již klinicky manifestním diabetu: zde vyšetření protilátek může pomoci v mnohých případech problematicky zařaditelného a klasifikovatelného diabetu.

Diagnostika všech výše zmíněných autoprotilátek je kontrolována v ČR systémem externí kontroly kvality a všechny laboratoře, které tuto diagnostiku provádějí, by se tohoto systému měly účastnit. Výsledky jednotlivých kontrolních cyklů jsou zveřejňovány na www.sekk.cz včetně komentáře supervizora kontrolních cyklů. Z výsledků posledních ročníků kontrolních cyklů vyplývá v souladu s výsledky zahraničních studií:

1. Senzitivita a specifita vyšetření na DM1 pomocí protilátek se zvyšuje s počtem vyšetřených protilátek. Laboratoře zabývající se diagnostikou DM1 by měly nabízet vyšetření alespoň dvou protilátek asociovaných s tímto onemocněním. U dospělých by to měly být nejčastěji anti-GAD a anti-IA2, které jsou dnes dobře diagnostikovatelné technikami založenými jak na izotopové, tak enzymové imunoanalýze. Laboratoře nabízející tuto diagnostiku u nás by se měly účastnit a být úspěšné ve výše zmiňovaném systému EHK.
2. Diagnostika IAA je důležitá především u dětí, ale je zároveň celosvětovým problémem. Pro tuto diagnostiku není zatím dostupná žádná vhodná a spolehlivá komerční souprava založená na enzymové imunoanalýze a také ne všechny komerční izotopové soupravy dávají spolehlivé výsledky. SLI ČSAKI, pod jejíž supervizi stanovení těchto protilátek spadá, se snaží aktivně tento problém řešit. O současném stavu a možnostech této diagnostiky u nás se je možno informovat u supervizora cyklu RNDr. Ivo Lochmana, CSc. (e-mail: ivo.lochman@zuova.cz). Požadavky na stanovení IAA by proto měly být pečlivě zváženy z hlediska prospěchu pro vyšetřovanou osobu a domníváme se, že by měly být zatím vyšetřovány centralizovaně.
3. ICA by měly vypovídat o autoreaktivitě proti ostrůvkovým buňkám pankreatu ze všech výše uvedených protilátek nejkompaktněji. Metoda nepřímé imunofluorescence (IIF), kterou se tyto protilátky stanovují, je však velmi obtížně standardizovatelná a její hodnocení může být ovlivněno subjektivně hodnotitelem. Protože se signál ICA skládá zejména ze signálu protilátek proti molekulárně definovaným antigenům GAD65 a IA2, lze klinickou informaci z testů ICA z velké části nahradit vyšetřením těchto dvou protilátek. Pro ČR bylo rozhodnuto, že laboratoře, které diagnostiku ICA provádějí, musejí být schopny od r. 2008 udávat

výsledky vyšetření v jednotkách JDF (JDFU), a pokud vydávají jen kvalitativní výsledek, musí mít zaručeno, že výsledek vzorků udávaný jako negativní má koncentraci ICA menší než 10 JDFU, hraniční kolem 10 JDFU a pozitivní větší než 10 JDFU.

Vyšetřování **obecné populace** na protilátky asociované s diabetem 1. typu není v klinické praxi v současnosti zdůvodnitelné. Jejich pozitivní prediktivní hodnota pro diabetes je nedostatečná a takovéto vyhledávání budoucích případů diabetu 1. typu není ani ekonomicky ani eticky akceptovatelné.

Vyšetřování **prvostupňových příbuzných osob s diabetem 1. typu** je vhodné pouze tehdy, pokud pozitivní jedinci dále participují na studiích zaměřených na prevenci diabetu nebo pokud jsou tyto pozitivní jedinci správně poučeni o riziku diabetu a je jim nabídnuto další sledování (1). Nezbytnou podmínkou je řádné poučení osoby o charakteru vyšetření a vyjádření souhlasu s tímto vyšetřením. Počet a titer protilátek napovídá o pokročilosti procesu autoimunitní inzulitidy a má těsnou souvislost s aktuálním rizikem diabetu, naopak negativita protilátek neznámá nepřítomnost rizika diabetu.

Vyšetřování **pacientů s diabetem** může přinést novou informaci pro diferenciatně diagnostické rozvahy. Je však zásadní mít na paměti pozitivní a negativní prediktivní hodnoty nálezu jednotlivých protilátek u pacientů různých věkových kategorií a řádně výsledek interpretovat. Zejména nepřítomnost protilátek neznámá, že se musí jednat nezbytně o jiný typ diabetu, než je DM1 či LADA (latentní typ autoimunitního diabetu u dospělých).

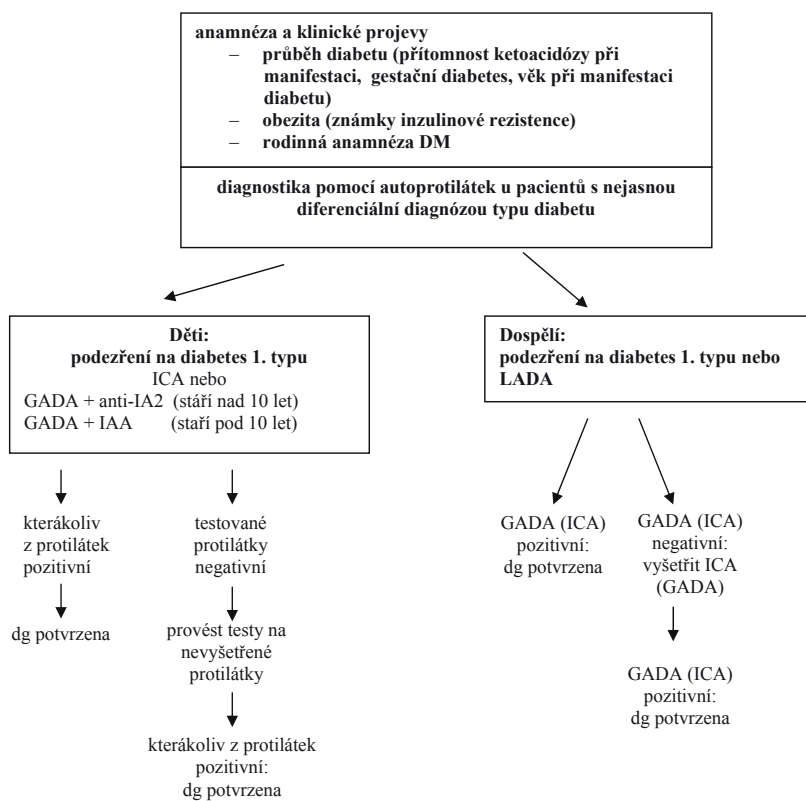
- V klinické praxi připadá vyšetření **protilátek u dětských diabetiků** v úvahu zejména při diagnostické rozvaze mezi DM1 a monogenním typem diabetu: MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young) nebo neonatálním diabetem.
- MODY diabetes vykazuje jako hlavní rysy klinický charakter diabetu (zejména absence diabetické ketoacidózy, trvalá pozitivita C-peptidu, manifestace diabetu v dětství nebo časně dospělosti, pacient je většinou neobézní) a vertikální dědičnost diabetu (v různých formách, včetně porušené glukózové tolerance), mezi pomocnými diagnostickými kritérii je mimo jiné i absence autoprotilátek. Konečná diagnostika je genetická.
- Pacient s neonatálním diabetem (diabetem manifestovaným do šesti měsíců věku) by měl být testován na mutace v genech kódujících komplex Kir6.2/SUR1 – i tyto pacienti jsou na protilátky negativní.
- protilátky u **dospělých diabetiků** jsou důležité pro odlišení diabetu s autoimunitní složkou (LADA) od diabetu 2. typu a MODY. Zde se uplatňují především, ale ne výlučně, protilátky proti GAD65.

Kromě testů na přítomnost autoprotilátek jsou v posledních letech dostupné a laboratořemi nabízené i testy hodnotící genetické riziko na základě typizace HLA-DQ či -DR. Tyto testy by neměly být prováděny mimo definované studie (1,4) a pokud jsou už indikovány, indikující lékař by měl být schopen řádně výsledky

interpretovat, včetně správného odhadu rizika pro danou osobu. Pozitivní i negativní prediktivní hodnoty přítomnosti jednotlivých alel jsou vázány na výchozí populaci (obecná populace versus příbuzní pacientů, etnicita a národnost), i na osobu, u níž je vyšetření prováděno.

Lékař, který přes uvedená upozornění toto vyšetření bude indikovat, by měl mít na paměti, že např. nejrizikovější alela mezi HLA-DQB1 alelami, alela HLA-DQB1*0302 je sice přítomna u dvou třetin dětí s DM1, ale také u cca 17 % zdravých lidí.

Schéma sérologické autoimunitní diagnostiky u diabetu mellitu
upraveno podle (2 a 3)



Kódy Seznamu výkonů s bodovými hodnotami pro laboratorní dg autoimunitního diabetu (bod = cca 0,86 Kč):

kód výkonu	název výkonu	bodová hodnota	
91499	anti-IA2	941	
93219	IAA	124	
91495	anti-GAD (GADA)	584	
91497	ICA	491	
91411 + 94199	rizikové alely celiakie	2271	WB+PCR

LITERATURA

1. Americal Diabetes Association Position Statement: Prevention of Type 1 Diabetes, Diabetes Care 2004, Suppl. 1, S133.
2. Seissler J, Scherbaum WA. Autoimmune diagnostics in Diabetes mellitus. Clin.Chem.Lab.Med. 2006; 44(2): 133-137
3. Vondra K, Matyášová K. Možnosti predikce a prevence inzulín dependentního diabetes mellitus. In Stárka L. a kol.: Aktuální endokrinologie, Maxdorf, 1999, str. 628-631.

4. Greenbaum CJ, Harrison LC. Guidelines for Intervention Trials in Subjects With Newly Diagnose Type 1 Diabetes. Diabetes 2003, 52, 1059-1065.

RNDr. Ivo Lochman, CSc.
Odbor imunologie a alergologie ZÚ se sídlem v Ostravě
Partyzánské náměstí 7
e-mail. ivo.lochman@zuova.cz