

AZ IMMUNOLÓGIAI BETEGSÉGEK LABORATÓRIUMI DIAGNÓZISÁNAK ELVI LEHETŐSÉGEI

Dr. Sipka Sándor

DE OEC III. Belgyógyászati Klinika

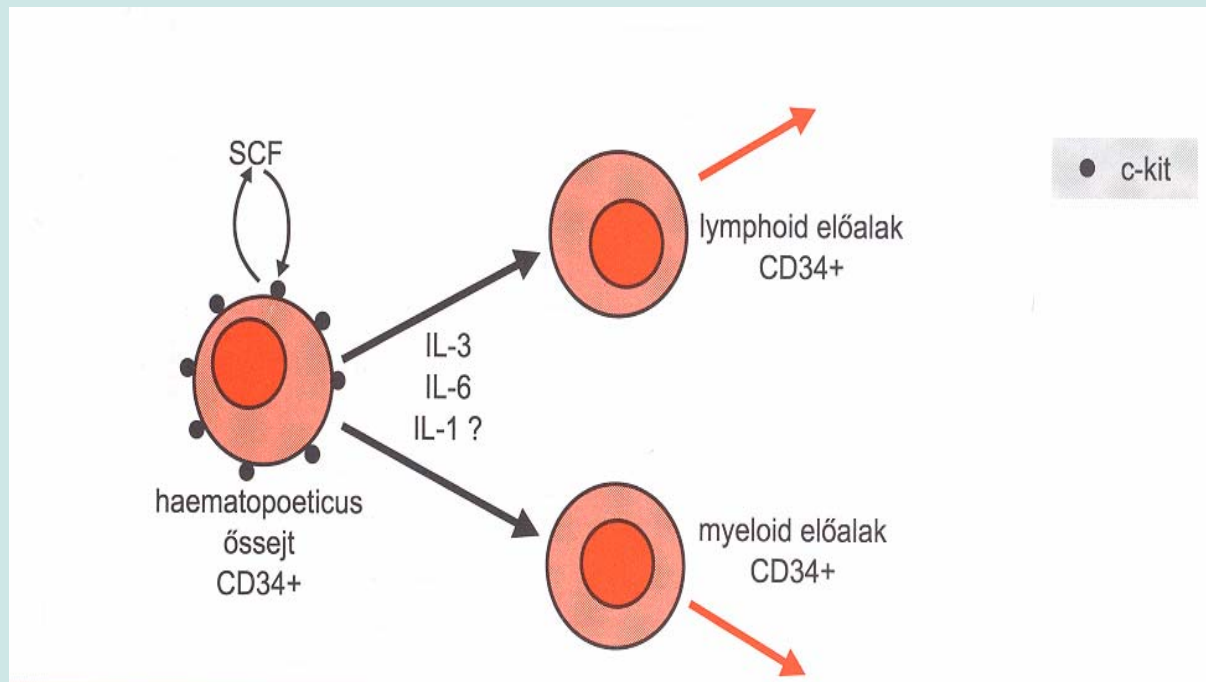
MOLSZE Kongresszus
Bükfürdő

2005. 09. 30.

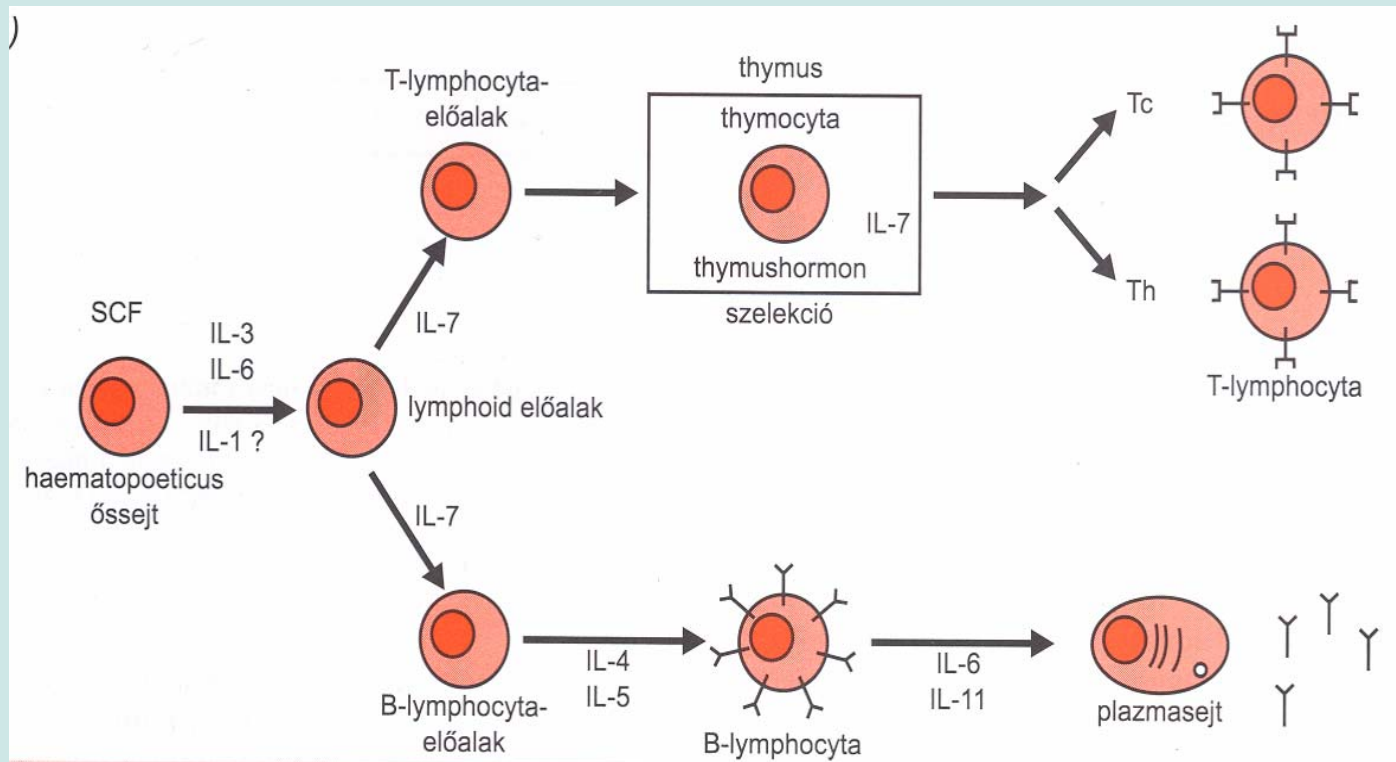
Az immunrendszer működése és felépítése

- *A működés lényege:* Az idegen külső (főként mikrobiális) vagy belső (malignusan transzformált) biológiai alakzatokkal szemben *immunválaszt* produkál, továbbá a saját struktúrákat kontrollált körülmények között elfogadja (tolerálja) és veszélyes mellékhatások nélkül működteti.
- *Az immunválasz:* az immunrendszer működésének terméke, amit jellemez az „antigénnel (allergénnel)” szemben termelt és azzal reagáló „ellenanyag (antitest)” vagy regulációs vagy citotoxikus képességű sejt.
- *A természetes immunitás elemei:* a fagociták, a komplement rendszer, egyes citokinek, stb.
- *A szerzett immunitás elemei:* T és B limfociták, az ellenanyagok, miket a B sejtek termelnek, további citokinek, stb.
- *Kapcsolat a természetes és szerzett immunitás elemei között:* szoros.
- *A természetes immunitás elemei beindítják és megszabják a működési jellegét a szerzett immunitás részelemeinek.*

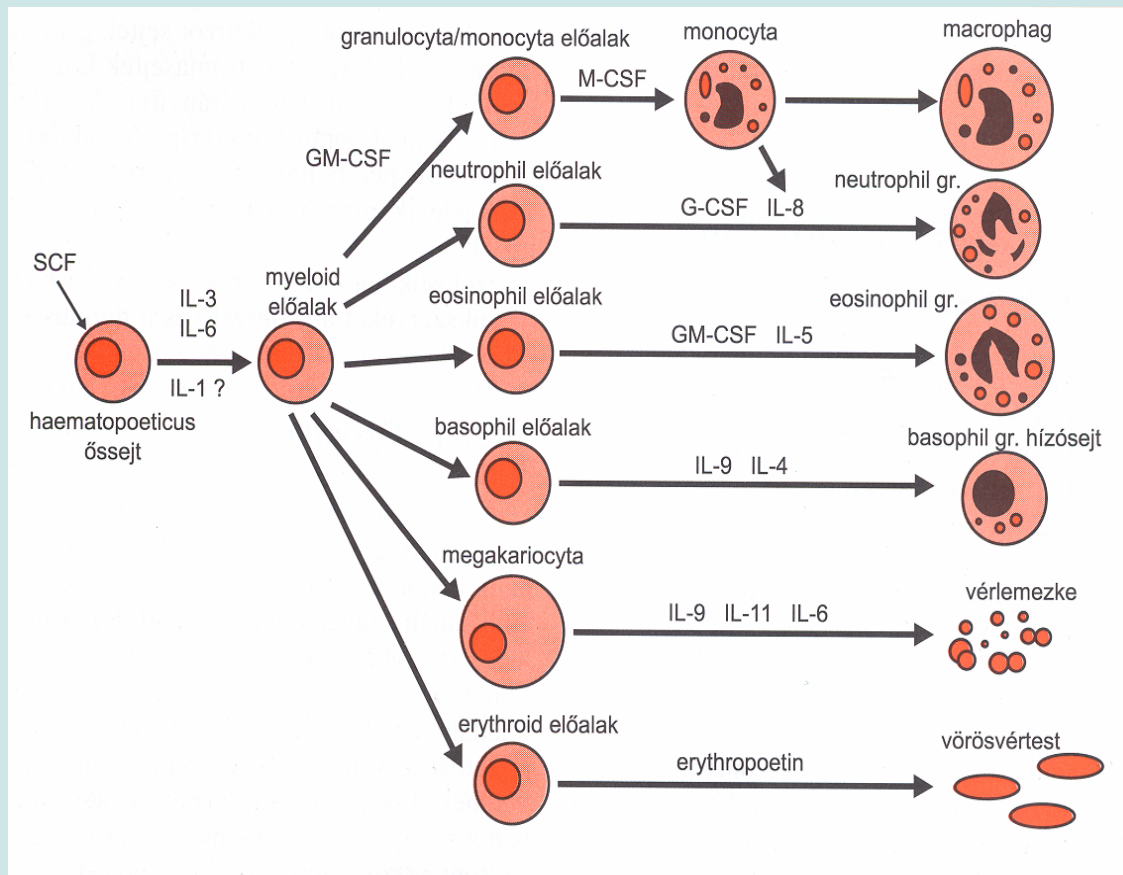
Immunrendszer összetevői A



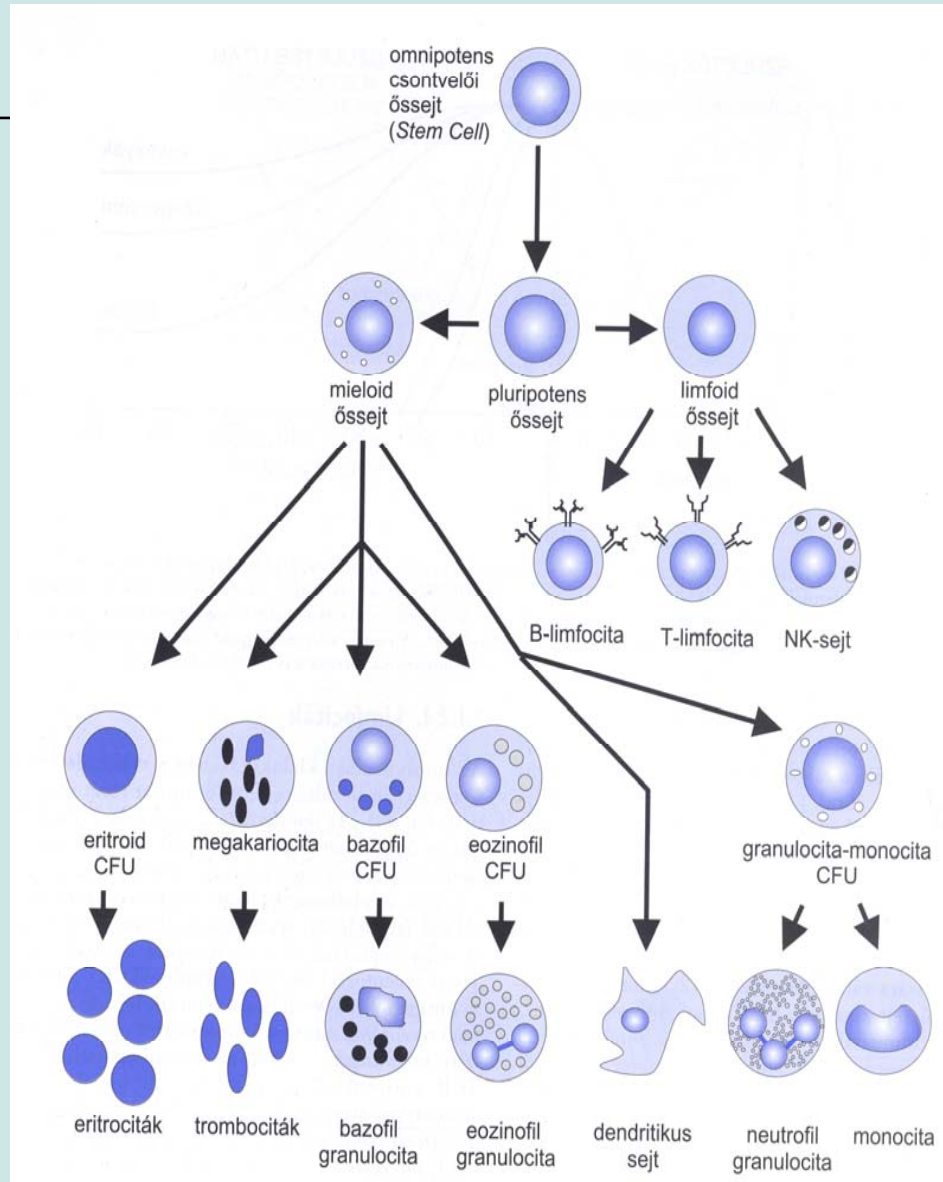
Immunrendszer összetevői B



Immunrendszer összetevői C



Immunrendszer összetevői D



Az immunrendszer betegségei

- Primer és szekunder immunhiány
- Allergia
- Poliszisztémás autoimmun betegségek
- Szervspecifikus autoimmun betegségek
- A reprodukciós rendszer immunológiai megbetegedései
- A transzplantáció immunológiai vonatkozásai
- A tumor immunitás immunológiai vonatkozásai

Megjegyzés:

- *Az immunrendszer működésének vizsgálata csak a részek együttes, komplex vizsgálata révén lehetséges és eredményes!*
 - Az immunrendszer megbetegedései érinthetik az egyes részeket vagy a teljes szisztéma kórosan megváltozott funkcióját.

I. A poliszisztémás autoimmun kórképek főbb típusai

- Szisztémás lupus erythematosus (SLE)
- Sjögren szindróma (SS)
- Rheumatoid arthritis (RA)
- Szisztémás sclerosis (SSc)
- Polimyositis, dermatomyositis (PM/DM)
- Kevert kötőszöveti betegség (MCTD)
- Vasculitis

II. A szerv- és sejtspecifikus autoimmun kórképek főbb típusai

- A pajzsmirigy autoimmun kórképei
- I-es típusú cukorbetegség (diabetes mellitus)
- Autoimmun hemolitikus anemia (AIHH)
- Autoimmun thrombocytopenia (ITP)

AZ IMMUNOLÓGIAI LABORATÓRIUM

Egyetemi vagy megyei kórházi centrumhoz
kapcsolódó „speciális” laboratórium

Feladata:

- az immunrendszer betegségeinek kimutatása
- a kórkép „autoimmun” vagy „allergiás” jellegének igazolása vagy elvetése (autoreaktív ellenanyag vagy sejt találása vagy kizárása)
- ennek érdekében az immunrendszer mind humorális, mind sejtes elemeinek egy idejű, komplex vizsgálatát végzi el minden betegnél

Az Immunológiai laboratórium szakmai speciális jelentősége a modern orvostudományban

- Legalább *egyszer* ki kell mutatni a kóros, autoantigén vagy allergén specifikus ellenanyagot vagy sejtet a kórkép autoimmun vagy allergiás jellegének kimondásához minden autoimmun vagy allergiás betegnél.
- Ez csak *in vitro* laboratóriumi módszerrel lehetséges!

Az Immunológiai Laboratórium legfőbb módszerei

Szerológia:

- fehérje mennyiség és típus mérés (turbidimetria, nefelometria, elektroforezis immunfixáció)
- hemolízis mérés (CH50) indirekt immunfluoreszcencia (autoantitest)
- ELISA (RIA) (autoantitest, reagin)

Sejtes vizsgálatok:

- fagocitózis mérés
- limfocita alosztály mérés (áramlási sejtfuorimetria)
- funkcionális tesztek különböző sejtekkel

Debreceni Egyetem Orvos- és
Egészségtudományi Centrum
4032 Debrecen, Nagyterdei krt. 98



III. Belgyógyászati Klinika
Regionális Immunológiai Laboratórium
4004 Debrecen, Móricz Zs. krt. 22.
Tel.: 52-411-600/5291

Vizsgálatkérőlap

Név												
Nem	Férfi		Nő									
Születési dátum	év					hó			nap			
Lakcím												
TAJ szám				-				-				
Térítési kategória	Fekvőbeteg				Járóbeteg							
Beküldő ÁNTSZ kódja												
Beküldő orvos neve												
Pecsétszáma												
Mintavétel ideje	év					hó			nap			
Minta típusa												
Megjegyzés												

IMLFEH – fehérje meghatározás (natív vér piros kupakos csőben)			
	Alapszerológia (IgG, IgA, IgM, összkomplement aktivitás, komplement 3 faktor, komplement 4 faktor, immunkomplex)		
	Immunglobulin alosztályok (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4)		
	Szérum elektroforézis (szérum totál protein, szérum elektroforézis, immunfixálás)		
	Myeloma (IgG, IgA, IgM, szérum kappa lánc, szérum lamda lánc, szérum kappa/lambda arány, béta2-mikroglobulin, szérum albumin, szérum totál protein, szérum elektroforézis, immunfixálás)		
	Vizelet elektroforézis (urina IgG, urina albumin, urina elektroforézis, urina totál protein, immunfixálás)		
	Bence-Jones protein (urina IgG, urina albumin, urina elektroforézis, urina totál protein, urina kappa lánc, urina lambda lánc, urina k/l arány, urina béta2-mikroglobulin, immunfixálás)		
Egyedi vizsgálatkérés (natív vér piros kupakos csőben)			
	IgG, IgA, IgM meghatározás	Transzferrin	Plazmaviszkózítás <u>EDTA-val alvadésgátolt vér lila kupakos csőben - Telefonon megbeszélhető vizsgálat 52/420-069 vagy 5689 mellék</u>
		Alfa 1-antitripszin	
	Izohemagglutinin titer	Osteocalcin meghatározás	
	Összkomplement aktivitás	Kollagén keresztkötés meghat.	
	Komplement 3. faktor	Krioglobulin kimutatás/analízis	
	Komplement 4. faktor	<u>A mintát 37°C-on kell tárolni a laboratóriumba érkezésig!!!!</u>	<u>Vizeletből végzett vizsgálatok</u>
	C1 észteráz inhibitor		
	Szérum kappa lánc	Hideg agglutinin meghatározás	Urina IgG
	Szérum lambda lánc	<u>A mintát 37°C kell tárolni a laboratóriumba érkezésig!!!!</u>	Urina albumin
	Szérum béta2-mikroglobulin		Urina totál protein
	Immunokomplex	Szérum albumin meghatározás	Urina béta2- mikroglobulin
	C-reaktív protein	Szérum totál protein	Urina kappa lánc
			Urina lambda lánc

IMLALL – allergia vizsgálatok (natív vér piros kupakos csőben)

Allergia vizsgálatokhoz plusz egy cső natív vért kérünk eljuttatni a laboratóriumba. Allergénspecifikus IgE meghatározásból egyszerre 20, negatív lelet és kifejezett klinika tünetek esetén további 20 kérhető! Belgyógyász, tüdőgyógyász, bőrgyógyász, gyermekgyógyász, klinikai immunológus és allergológus, fül-orr-gégész, szemész és reumatológus szakorvos kérheti a vizsgálatokat!

IgE meghatározás	Profil 5 (Por és gombák) házipor, poratka, lisztatka, csótány, Penicillium Notatum, Cladosporium Her-barum, Aspergillus Fumigatus, Alternaria Alternata
Profil 1 (Fák) juhar, nyír, tölgy, szil, olajfa, dió, éger, mogyoró, fűz, nyár	
Profil 2 (Fűvek) csillagpázsit, angolperje, réti komó-csin, réti perje, fenyércirok, kodaköles, borjúpázsit, rozs, selyemperje	Profil 6 (Rovarok) méh, darázs, csótány, lódarázs
Profil 3 (Gyomok) parlagfű, feketeüröm, lándzsás útifű, aranyvessző, disznóparéj, libatop, ballagófű, juhsóska	Profil 7 (Élelmiszer 1) tojásfehérje, tehéntej, tökehal, búzaliszt, földimogyoró, szójabab, dió, mogyoró, mandula, kókuszdió
Profil 4 (Hámok) macska-, kutya hámszövet, ló-, tehénször, liba-, csirke-, kacsá-, pulykatoll	Profil 8 (Élelmiszer 2) mandula, paradicsom, narancs, eper, kiwi, dinnye, banán, őszibarack
Megbeszélhető egyedi vizsgálatok Tel.: 52-411-717/5291	
Latex	Amoxicillin-HSA
Penicilloyl G	Tetracyclin-HSA
Penicilloyl V	Cephalosporin-HSA
Ampicillin-HSA	Csokoládé

IMLAAT – Autoantitestek kimutatása/meghatározása (natív vér piros kupakos csőben)

Autoantitestek szisztémás autoimmun kórképekben (ANF HEp-2 sejten, autoantitestek a felsorolt antigének ellen: kettősszalú DNS, nukleoszóma, ENA, SS-A, SS-B, Sm, Sm-RNP, Scl70, Jo1)	
Antifoszfolipid antitestek I. (kardiolipin IgG/IgA/IgM, B2GPI IgG/IgA/IgM elleni antitest)	
Antifoszfolipid antitestek II. (protrombin IgG/IgA/IgM, foszfatidilszerin IgG /IgM, annexin V IgG/IgM elleni at)	
ANCA (Antitest mintázatok granulocitán; MPO, PR3, Lactoferrin, BPI, Lizozim, Elastase, Cathepsin elleni at)	
ENA (SS-A, SS-B, Sm, Sm-RNP, Scl70, Jo1 elleni antitestek)	
Coeliakia (Gliadin, IgA/IgG, endomysium IgA/IgG, transzglutamináz IgA elleni antitestek)	
Reuma profil (reuma faktor IgA/IgM, CCP elleni antitestek)	
Autoantitestek kimutatása patkányszöveten (ANF; mitokondrium, simaizom, parietális sejt, retikulin, LKM elleni antitestek)	
<i>Egyedi vizsgálatkérés</i>	
ANF kimutatás HEp-2 sejten	Rheumatoid faktor IgA
Nukleoszóma elleni antitest	Rheumatoid faktor IgM
Kettősszalú DNS elleni antitest	GBM elleni antitest meghatározás
Riboszómális P protein elleni meghatározás	Pancreas szigetsejt-, GAD elleni antitest meghatározás
Hiszton elleni antitest meghatározás	Gangliozidok (GM1IgM, GM1IgG, GQ1bIgG) elleni antitest meghatározás
ANF meghatározása titerben HEp-2 sejten	
Endothelium elleni antitest meghatározás	Szívizom elleni antitest kimutatás
Spermium elleni antitest meghatározás	CCP elleni antitest meghatározás
TG-TPO elleni antitest meghatározás	Helicobacter pylori (IgG/IgA, CagA IgG/IgA) elleni antitest meghatározás
Thrombocytá elleni antitest kimutatása	
Granulocytá elleni antitest kimutatása	Mellékvesekéreg elleni antitest meghatározás
Vvt elleni antitest meghatározás (Coombs reakció)	Streptococcus DNA-z elleni antitest meghatározás

<i>IMLSEJT – sejtes vizsgálatok (heparinnal alvadásgátolt vér zöld kupakos csőben)</i>			
	Alappanel profil		CLL profil
	Aktivált T-sejt profil		ALL profil
	Autoreaktív B sejt profil		Naív és memória T-sejt profil
	HLA-B27/HLA-B7 profil		Adhéziós sejtek profilja
	Serazy profil		Monocita profil
	Hairy cell profil		Intracitoplazmatikus citokin profil
<i>Citokin vizsgálatok (natív vér piros kupakos csőben)</i>			
	Szolubilis IL-4 szint		TGF-béta
	Szolubilis IL-13 szint		TNF-alfa
	Szolubilis IL-10 szint		Interleukin-1
	Szolubilis IFN γ szint		Interleukin-6
	Szolubilis IL-2 szint		
<i>Egyéb sejtes vizsgálatok</i>			
	LE sejt kimutatás (citráttal alvadásgátolt vér kék kupakos csőben)		Fagocita kemilumineszcencia (heparinnal alvadásgátolt vér zöld kupakos csőben) Hétfőtől-péntekig 11 óráig fogadunk mintákat fehérvérszámával és abszolút granulocitaszámmal
<i>Egyedi vizsgálatkérés (heparinnal alvadásgátolt vér zöld kupakos csőben)</i>			
	CD2 sejtarány	CD18 meghatározás	CD20/CD40 meghatározás
	CD3 sejtarány	CD5/CD20 meghatározás	CD41 sejtarány
	CD4 sejtarány	CD20/HLA-DR meghatározás	CD45 sejtarány
	CD4/CD25 sejtarány	CD20/CD38 meghatározás	CD56 sejtarány
	CD7 sejtarány	CD21 sejtarány	CD57 sejtarány
	CD8 sejtarány	CD22 sejtarány	CD61 sejtarány
	CD10 sejtarány	CD23 sejtarány	CD64 sejtarány
	CD11a sejtarány	CD25 sejtarány	CD71 sejtarány
	CD11b sejtarány	CD30 sejtarány	CD95 sejtarány
	CD11c sejtarány	CD33 sejtarány	CD97b sejtarány
	CD13 sejtarány	CD34 sejtarány	CD103 sejtarány
	CD14 meghatározás	CD36 sejtarány	HLADR+ sejtarány
	CD14/HLA-DR meghatározás	CD38 meghatározás	CD3/TcR alfa-béta sejtarány
	CD16 meghatározás	CD19/CD40 meghatározás	CD3/TcR gamma-delta sejtarány

1. Táblázat: Az általános gyulladás diagnosztika laboratóriumi módszereivel kapott eredmények poliszisztémás autoimmun kórképekben I.

Vérsejtek

Fehérvérsejtszám

↓

↑

Neutrofil granulocita szám

↓

↑

Limfocitaszám

↓

Monocitaszám

↓

Trombocitaszám

↓

Vörösvérsejtszám (hemoglobin)

↓

Vörösvérsejt süllyedés

gyorsul

Jelmagyarázat:

↓ = csökken: szisztémás lupus erythematosus; primer

Sjögren-szindróma; rheumatoid arthritis; Felty-szindróma, polymyositis/dermatomyositis; ↑ = emelkedik: Still betegség, rheumatoid arthritis

2. Táblázat: Az általános gyulladás diagnosztika laboratóriumi módszereivel kapott eredmények poliszisztémás autoimmun kórképekben II.

Szerológia

IgG, IgA, IgM, IgE		↑
Komplement 3 faktor (C3)	↓	
Komplement 4 faktor (C4)	↓	
Komplement aktivitás (CH50)	↓	
C reaktiv protein		↑
Transzferrin	↓	
Immunkomplex	↓	↑
Krioglobulin		
<i>előfordulhat (pl. vasculitis-ben)</i>		

Jelmagyarázat:

↓ csökken

↑ emelkedik

3. Táblázat: A limfocita alosztályok arányának és sejtszámának változása poliszisztémás autoimmun kórképekben

Lymphocyta alosztály	Változás	
CD3+ T sejt	↓	↑
CD4+ T sejt (helper sejt)	↓	↑
CD8+ T sejt (citotoxikus sejt)		↑
CD19+ B sejt (ellenanyagtermelő sejt)		↑
CD56+ (természetes ölő sejt)		↑
CD3+ HLA-DR+ (késői) aktivált T sejt		↑
CD3+CD69+ (korai) aktivált T sejt		↑
CD3+CD4+ (i.c. IL-2, IFN γ +) Th1 T sejt		↑
CD3+CD4+ (i.c. IL-4, IL-6+) Th2 T sejt	↓	
CD3+CD4+ (i.c. TGF β +) Th3T sejt		↑ (fibrosis-ban)
CD3+CD4+ (i.c. IL-10+) Tr1 T sejt		↑
CD4+CD25+ T regulációs sejt	↓	

Jelmagyarázat:

IC = intracelluláris; HLA = humán leukocyta antigén; IFN γ = interferon- γ , IL = interleukin; TGF β = transzformáló növekedési faktor β

↓ csökken

↓ emelkedik

4. Táblázat: A poliszisztémás autoimmun betegségek marker autoantitestjei és előfordulásuk gyakorisága (%) I.

Autoantitest	SLE	MCTD	RA	pSs	PM/DM	PSS	ANCA vasculitis
Anti-dsxDNS*	60-70%		20-25%				
Anti-hisztón*	40-60%		20-25%				
Anti-nukleoszóma (kromatin)*	85-90%						
Anti-Sm*	30-35%	5-10%	10-15%				
Anti-(U1) RNP*	20-25%	>95%	10-15%	-	10-15%		
Anti-SS-A*	40-50%		10-15%	85-90%			
Anti-SS-B*	20-25%		10-15%	70-75%	10-15%	10-15%	
Anti-centromer*						40-50%	
Anti- fibrillarin* (U3 RNP)						25-30%	

5. Táblázat: A poliszisztémás autoimmun betegségek marker autoantitestjei és előfordulásuk gyakorisága (%) II.

<i>Autoantitest</i>	<i>SLE</i>	<i>MCTD</i>	<i>RA</i>	<i>pSs</i>	<i>PM/DM</i>	<i>PSS</i>	<i>ANCA vasculitis</i>
<i>Anti-RNS polimeráz I*</i>						25-30%	
<i>Anti-Scl-70*</i>						40-50%	
<i>Anti-Jo-1* x</i>					20-25%		
<i>Anti-alfa-fodrin</i>				35-40%			
<i>Rf</i>	±	±	40-60%	±	±	±	±
<i>Anti -ciklikus citrullinált peptid (CCP)</i>			85-90%				
<i>ANCA</i>	15-20%						>95%
<i>Anti -foszfolipid</i>	40-50 %	20-30 %					

Az Immunológiai Laboratórium által megválaszolandó legfontosabb kérdések

- Van-e immundeficiencia?
 - Az antimikrobiális egészséges immunválasz megfelelő erősségű-e?
 - A betegség allergiás pathomechanizmusú-e?
 - A betegség autoimmun pathomechanizmusú-e?
 - Ha autoimmun jellegű, akkor:
 - Mi? - poliszisztémás?
 - szerv specifikus?
 - sejt specifikus?
- Aktiv vagy inaktiv?
- Reagál a terápiára vagy nem?

Az Immunológiai Laboratórium leletének kiértékelési elve

Immundeficienciák esetében:

- A betegben talált szerológiai és sejtes mérési adatokat viszonyítjuk az egészséges, korban, nemben illesztett kontrollcsoportok előzetesen, az adott populációban kimért laborértékeihez.
- Jelentős csökkenés esetén az immundeficiencia gyanúja felvethető.

Autoimmun kórképek esetében:

- Megvan-e a betegségnek legalább egy „marker” autoantitestje?
- Megvan-e legalább egy autoreaktív sejtklon?
- Megvannak-e az aktivitást jelző laborjelek?

Komplikáltabb esetekben:

- a laboratórium szakorvosai összegző, és szakmai állásfoglalást megfogalmazó leletet adnak ki a beküldőnek.

Az Immunológiai Laboratórium számítógépes adattárolásának sajátosságai I.

- A vizsgálatok egy jelentős része nem „akut” jellegű, elvégzésük 1-3 hetes intervallumban történik. Ezért folyamatos gyűjtés és tárolás történik, ami kizárja a primer csövekből folyó méréseket.
- A vizsgálatok kb. fele alkalmas az automatákkal végzett munkára, ezeknél lehetséges az „on-line” kapcsolat a számítógépes hálózattal. A speciálisan gyűjtött savóknál (pl. mikor egy nativ cső szérumából több automata dolgozik eltérő időben), a vizsgálatkérések számítógépre vitele csak *manuálisan* történhet.
- Vannak csak manuálisan végezhető vizsgálatok (pl. indirekt immunfluoreszcencia, részben az elfo és áramlási sejtfluorimetriás vizsgálatok), amelyek esetén *munkalistakérés* alapján történik a minták vizsgálati előkészítése, és ezeknél a kivitelezés után az eredmények bevitele is csak manuálisan történhet.

Az Immunológiai Laboratórium számítógépes adattárolásának sajátságai II.

- A poliszisztémás autoimmun beteganyag fokozottan igényli az eredmények csoportos validálását, ami az eltérő időpontban elkészült részeredmények miatt tovább késlelteti a teljes lelet elkészítését. A részeredmények azonban a klinikán belül a validálás után közvetlenül megtekinthetők azon beküldők által, akik a Laborral on-line kapcsolatban vannak. Természetesen ez fokozottan érvényes a teljesen kész leletekre.
- A külső (nem klinika telepi) beküldők a validált eredményeket csak az összes vizsgálat elkészülése után, teljes leletként kapják meg a számítógépből kinyomtatott formában, postán, esetenként összegző laborszakorvosi állásfoglalással kiegészítve.

