

İMMÜNOLOJİK TANI TESTLERİ The immunological tests

Türkân Patroğlu¹

Özet: Bu yazıda, immün yetmezlik hastalıklarının doğru tanısı için gerekli laboratuvar testleri gözden geçirilmiş ve önemleri vurgulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: İmmünolojik tanı

Summary: In this paper, the tests needing for accurate diagnosis of immunodeficiency diseases are reviewed and noticed their importance

Key Words: Immunological diagnosis

Her hastalıkta olduğu gibi immün yetmezlik hastalıklarında da doğru tanı için iyi bir hikaye, dikkatli bir fizik muayene ve güvenilir laboratuvar testlerinden yararlanır (1).

Hikaye

İmmün sistemle ilgili yetersizlik durumları daha çok enfeksiyon, otoimmünite ve nadiren de malign hastalık şeklinde ortaya çıkar. Bu nedenle, ailede bu tip hastalıkların olup olmadığı, özellikle açıklanamayan bebek ölümlerinin varlığı, anne-baba akrabalığı öğrenilmelidir.

Enfeksiyonlara artmış yatkınlığı göstermesi açısından;

- Tekrarlayan enfeksiyonlar,
- Çok ağır seyreden enfeksiyonlar,
- Candida ve P. carinii gibi fırsatçı mikroorganizmalarla ortaya çıkan enfeksiyonlar,
- Yeterli ve uygun antibiyotik kullanımına rağmen iyileşmeyen enfeksiyonların olup olmadığının öğrenilmesi gerekir(1,2).

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi 38039 KAYSERİ
Pediatri, Doç.Dr.1.

Geliş tarihi: 26 Ekim 1994

Fizik Muayene

Dikkatli bir sistemik muayene yeterlidir. Ancak solukluk, kanama, deride döküntü veya morluk olup olmadığı ve özellikle lenf bezleri ve tonsillerin var olup olmadığı önemlidir. Muayenedeki bazı bulguların, bazı hastalıklara işaret etmesi nedeni ile gözden geçirilmesinde yarar vardır.

Yenidoğan bir bebekte hipokalsemik tetani ve konjenital kalp hastalığı birlikte ise, DiGeorge sendromu düşünülmelidir. Kulak düşüklüğü, kulak kartilajının gelişmemesi, hipertelorizm, balık ağzı görünümü gibi bulgular varsa, yine aynı sendrom hatırlanmalıdır. Ekzema ve peteşilerin varlığı Wiskott-Aldrich sendromunu, kısmi albinizm Chediak-Higashi sendromunu, ekstremitelerde küçüklüğü ile birlikte cücelik hücreli yetmezliği hatırlatmalıdır. Ayrıca, deride ve bulbusta telenjektazilerin varlığı ile birlikte ataksi, ataksi-telenjektaziye akla getirmelidir (1,2).

Laboratuvar Testleri

İmmünolojik testler genellikle pahalıdır ve nadir yapılır. Ayrıca çoğu testin normal sınırı çok geniştir. Bu nedenle mutlaka kontrollü çalışılması gerekir. Genellikle hücreli immünitenin değerlendirilmesi için heparinli kan örneği, humoral im-

münitenin değerlendirilmesi için ise, serum gerekir(3).

Humoral immüitenin değerlendirilmesi

İmmünglobulin düzeyleri: IgG, M ve A'nın kantitatif olarak değerlendirilmesidir (radyal immünodifüzyon yöntemi ile). Yaşla birlikte Ig değerleri değiştiğinden dolayı, normal değerleri ile kıyaslanmalıdır. Ayrıca, IgG'nin alt grupları da (G1,2,3,4) ölçülmelidir. Ig A yetersizliği olanlarda genellikle IgG2 yetersizliği de bulunmaktadır. IgG,M,A'nın toplam değeri 400 mg/dl'den az ise, hipogammaglobulinemi düşünülür. Eğer 600 mg/dl'nin üzerinde ise normal kabul edilir.

Serum IgE düzeyinin ölçümü de atopik hastalıklar,

allerjik astım, Wiskott-Aldrich sendromu, Nezelof sendromu ve DiGeorge sendromu açısından önemlidir.

Schick testi: Difteri aşısı yapılmış bir kişide test doz difteri toksini ile reaksiyon görülmesi gerekir. Eğer reaksiyon (+) ise, difteri Ab'larının olmadığını yani, humoral yetmezlik olduğunu gösterir (4).

İzohemaglutinin titreleri: Kan grubu antijenlerine karşı serumda bulunan tabii antikorlardır. Genellikle IgM yapısındadır. Bir yaşın üzerinde değerlidir ve 1/4 veya daha yüksek titrede olması beklenir. Hiper IgM sendromunda çok yüksek titreler ölçülürken, selektif IgM eksikliğinde, agammaglobulinemide, Wiskott - Aldrich sendromunda ve kombine immün yetmezlikte düşük değerler tespit edilir (1-4).

Laboratuvar testleri

	Başlangıç testleri	İleri testler
Humoral immünite	<ul style="list-style-type: none"> * IgA,G,M Schick testi * İzohemaglutinin titreleri(anti A,B) * Mo Ab tekniği ile B hücre sayısı ve yüzey Ig tayini * salgılarda Ig ölçümü 	<ul style="list-style-type: none"> * yan boyun grafisi * lenf nodu biopsisi * IgG'nin alt grupları * D T gibi spesifik Ab'ların ölçümü
Hüresel immünite	<ul style="list-style-type: none"> * Lenfosit sayısı * timus grafisi * Deri testleri (PPD, SK-SD, kabakulak v.s) * lenf nodu biopsisi * mediatörlerin ölçümü 	<ul style="list-style-type: none"> * E rozet testi * Mo Ab tekniği ile T hücre ve alt gruplarının tayini * in vitro PHA'ya lenfosit cevabı
Fagositik sistem	<ul style="list-style-type: none"> * Lökosit sayısı ve morfolojisi * kemotaksis * bakteriyel öldürme testi * C 3 * C H 50 	<ul style="list-style-type: none"> * deri-pencere testi * NBT testi * kompleman komponentlerinin ölçümü

Lateral Boyun Grafisi

Tonsil ve adenoid dokusu tarafından doldurulması gereken bölgede, hava gölgesinin olması bu dokuların gelişmediğine veya hipoplazik olduğuna işaret eder(1,4).

Lenf Nodu Biopsisi

Rutin olarak kullanılmaz. Değerlendirmek gerektiğinde ise, difteri tetanoz aşısının yapılmasını takiben 5-7 gün sonra, aynı taraf bölgesel lenf nodu çıkarılır ve incelenir(1,4).

Spesifik Antikor Cevabı

Aşılanmamış çocuğa, difteri-tetanoz aşısı yapılır. Aşıdan önce ve iki hafta sonra, bu antijenlere karşı oluşan antikor düzeyi ölçülür(1).

B Hücre Sayısının Tespiti

B hücrelerinin yüzeylerindeki Ig molekülleri veya yüzey antijenlerinin (CD19, CD20) Mo Ab ile, immünofloresan teknik veya flow cytometry kullanarak, sayılması esasına dayanır. Periferik kanda dolaşan lenfositlerin %10-25'i B hücresidir. Çocuklarda ve yaşlılarda bu sayı biraz daha yüksektir. Agammaglobulinemide olgun B hücreleri yoktur(5).

Hücresel Sistemin Değerlendirilmesi

Absolü lenfosit sayısı: Periferik kan lenfositlerinin % 70-80'ini T lenfositler oluşturduğundan, lenfosit sayısının azlığı hücresel immün yetmezliğin işaretidir. Bu sayı 1500/mm³'ün altında ise, lenfopeni olarak kabul edilir. Fakat her zaman hücresel yetmezliklerde lenfopeni olması gerekmez.

Timus grafisi: Akciğer grafisinde timus gölgesinin görülmemesi, hücresel yetmezlik lehine alınmalıdır. Ancak, sık enfeksiyon geçirme, sık grafi çekilmesi durumunda da timus involüsyona uğrar. Şüpheli durumlarda, tomografi ile değerlendirmeye gidilmelidir.

Deri testleri: Kişinin herhangi bir antijen ile daha önce karşılaşmış olmadığını gösterir. Bu nedenle kullanılan antijenler: kabakulak, PPD,

kandida, streptokinaz - streptodornaz, fitohemaglutininidir. Deri içine 0.1 ml antijen solüsyonu verilir ve 48-72 saat sonra enjeksiyon yerinde kızarıklık ve kabarıklık olması (+) olarak kabul edilir. Reaksiyonun negatif olması, hücresel yetmezlik bulgusudur.

E rozet testi: T lenfositlerinin özelliklerinden biri yüzeylerinde koyun eritrositlerine karşı reseptör taşımalarıdır. Bu nedenle periferik kandaki lenfositler, koyun eritrositleri ile karşılaştırılınca rozet oluştururlar. Eğer bir lenfositin yüzeyine en az üç eritrosit yapışmış ise rozet olarak değerlendirilir. Rozet yapan hücre oranı, %60-80 ise normal kabul edilir.

T hücre sayısı ve alt gruplarının tespiti: Lenfosit yüzey antijenlerine yönelik monoklonal antikorlar kullanılarak T hücre sayısı ve T hücrelerinin alt grupları değerlendirilebilir. Bu işlemde immünofloresan teknik veya flow cytometry kullanılır. CD2 ve CD3 toplam T hücre işaretleyicileridir ki normalde % 75-80 kadardır. CD4, yardımcı T lenfosit belirleyicisidir ve T lenfositlerin % 40-60'ını oluşturur. CD8 ise, baskılayıcı T lenfositleri işaretler ve normalde % 30 dolayındadır. CD16 ve 56 ise, natürel killer (NK) hücreleri işaretler ve normalde, % 5-15 kadardır. CD4 / CD8 oranı da önemlidir. Yaşa göre değişmekle beraber 1.4-2.2 arası değerler normal kabul edilir(1,5).

In vitro blastik transformasyon cevabı: Fitohemaglutinin (PHA), konkavalin-A, pokeweed mitojen gibi mitojenler veya kandida, tetanoz toksoidi, PPD, SK-SD gibi antijenler ile uyarılan lenfositler lenfoblasta döner. Kültürde üç gün ile bir hafta kadar kalan hücrelere radyoaktif madde ile işaretlenmiş timidin (³H) eklenir ve belli bir inkübasyon süresini takiben, yeni sentez edilen DNA'ya bağlanan işaretli timidin sayılarak değerlendirme yapılır. Kontrol olarak da mitojen veya antijenle uyarılmamış kültürdeki radyoaktivite ölçümü esas alınır. Test kültüründeki sayı kontrole oranla en az 10 kat yüksek olmalıdır(1).

Mediatörlerin Araştırılması

Hücre kültür sisteminde PHA uyarımından üç gün sonra, lenfosit yüzeyinde interlökin 2, transferrin ve MHC klas-II moleküllerinin bulunup bulunma-

diği araştırılır veya kültür supernatanında interferon veya interlökin bulunup bulunmadığına bakılır.

Fagositik Sistemin Değerlendirilmesi

Total nötrofil sayısı: Lökosit sayısının 3000/mm³'den az olması lökopeni olarak, en fazla fagositoz yeteneğine sahip granülosit olarak bilinen nötrofillerin sayısının da 1500/mm³'den az olması nötropeni olarak bilinir. Granülosit sayısının azlığı, enfeksiyonlara hassasiyeti artırır. Granülositlerin sitoplazmasında büyük dev granüllerin olması, Chediak-Higashi sendromunu düşündürür. Ayrıca, sitoplazmada Howel-Jolly cisimciklerinin olması, aspleniye hatırlatır.

Deri-pencere testi: Derinin hafifçe kazınması ile açılan bölgeye kemotaksisi uyaran bakteri solüsyonları sürülür, üzerine cam slide kapatılır ve buraya nötrofillerin toplanması beklenir, sonra boyanarak sayılır. Nötrofillerin görülmemesi kemotaksis bozukluğunu düşündürür.

Nitro blue tetrazolium (NBT) testi: NBT adı verilen boyanın fagositik hücrelerde mor renge indirgenmesi esasına dayanır. Mor rengin oluşması, hücre içinde oksidatif patlamanın olduğunu gösterir. Testin negatif olması, kronik granülomatoz hastalığa işaret eder.

Öldürme testi: Hasta ve kontrolden elde edilen nötrofillerin, *S. aureus*, *E. coli*, *Candida* ve hastadan ayırılan bakteri veya mantarla birlikte kültürde bekletilmesi ile yapılan bir testtir. Belli bir süre sonra hala canlı bakterinin olması, öldürme fonksiyonunun yetersizliğini gösterir.

Kemotaksis: Bazı kemotaktik uyarılara fagositer hücrelerin hareketini Boyden kamerası kullanarak değerlendirme esasına dayanır. Yeterince fagositik hücre göçü gözlenmezse, kemotaksis bozuklukları akla gelmelidir(1-5).

Kompleman Sisteminin Değerlendirilmesi

Total hemolitik kompleman aktivitesi (CH 50): Antikorla kaplı koyun eritrositleri üzerine, CH 50 tayini yapılacak serum çeşitli dilüsyonlarda eklenir ve hemoliz miktarı spektrofotometrik olarak okunur. Eritrositlerin % 50 hemolizine yol açan serum konsantrasyonu, komplemanın total

hemolitik aktivitesini gösterir. Bu test ile, 1'den 9'a kadar olan komponentlerin aktivitesi tespit edilir. Eğer bir komponent eksik ise, CH 50 değeri düşük bulunur.

Her bir kompleman komponentinin fonksiyonel aktivitesini tayin etmek de mümkündür. Ayrıca; C2, C3, C4 seviyeleri radyal immünodifüzyon yöntemi ile kolayca tayin edilir.

C1q inhibitör eksikliğini göstermek için de radyal immünodifüzyon tekniğinden yararlanılır. Eksikliği, herediter anjionörotik ödeme yol açar.

Diğer Testler

Kombine immün yetmezlik veya T hücre yetmezliği düşünülen durumlarda, adenoazin deaminaz (ADA) ve purin nükleozid fosforilaz (PNP) tayini gerekir.

Ataksi telenjektazide, α -fetoprotein düzeyinin yüksekliği tanıya yardımcı olacaktır. Ayrıca, kromozom çalışması ile de bu hastalığın tanısı doğrulanabilir. Buna dayanarak prenatal tanı da mümkün olmaktadır. DiGeorge sendromunda da kromozom tayini ile tanı kesinleştirilir.

Doku Tiplendirmesi (HLA tayini)

İnsan vücudundaki hücrelerin yüzeyinde bulunan klas I ve klas II antijenleri özel plaklar aracılığı ile tespit edilir. Bazı hastalıklar ile özel HLA tipleri arasında yakın ilişki saptanmıştır. Örneğin, ankiroz spondilit ile B 27 arasındaki relatif risk % 90 dır.

HLA tayini transplantasyon işleminde son derece önemlidir. Kemik iliği başta olmak üzere böbrek, karaciğer, kalp transplantasyonlarında alıcı ve vericinin doku gruplarının aynı veya çok yakın olması gerekir(2).

Mikst Lenfosit Kültürü (MLC)

Lenfosit blastik transformasyon cevabını gösteren bir testtir. Kemik iliği transplantasyonunda önemlidir. Bu testte, vericinin hücreleri stimüle edici olarak kullanılır. Alıcı ve vericinin hücre yüzeyindeki antijenik bölgeler (MHC) aynı değilse, birbirlerini uyarır ve test (+) sonuç verir. Bu durumda alıcı verici uygunluğundan bahsedilemez(2).

KAYNAKLAR

1. Geha RS, Rosen FS, Chatila T. Primary Immunodeficiency Disease In: *Hematology of Infancy and Childhood*. David G. Nathan, Frank A Oski (Eds) 4th Ed. W B Saunders Co. Philadelphia 1993, pp: 1033-1057.
2. Kuby J. *Immunology*. W H Freeman and Co. Newyork 1992, pp: 487-494.
3. Rosen F S, Wedgwood R J, Eibl M. Primary Immunodeficiency Disease. *Clin Immunol Immunopathol* 1986; 40: 166-196.
4. Sanal İI. immün Yetmezlik Hastalıklarında Tanı Yöntemleri. *Katkı* 1985; 6: 592-598.
5. Stites DP, Rodgers U. *Immunologic Laboratory Tests*. In: *Basic and Clinical Immunology*. Daniel P Stites., Abba I Terr (Eds). 7th Ed. Appleton Lange. Lebanon 1991, pp: 217-263.