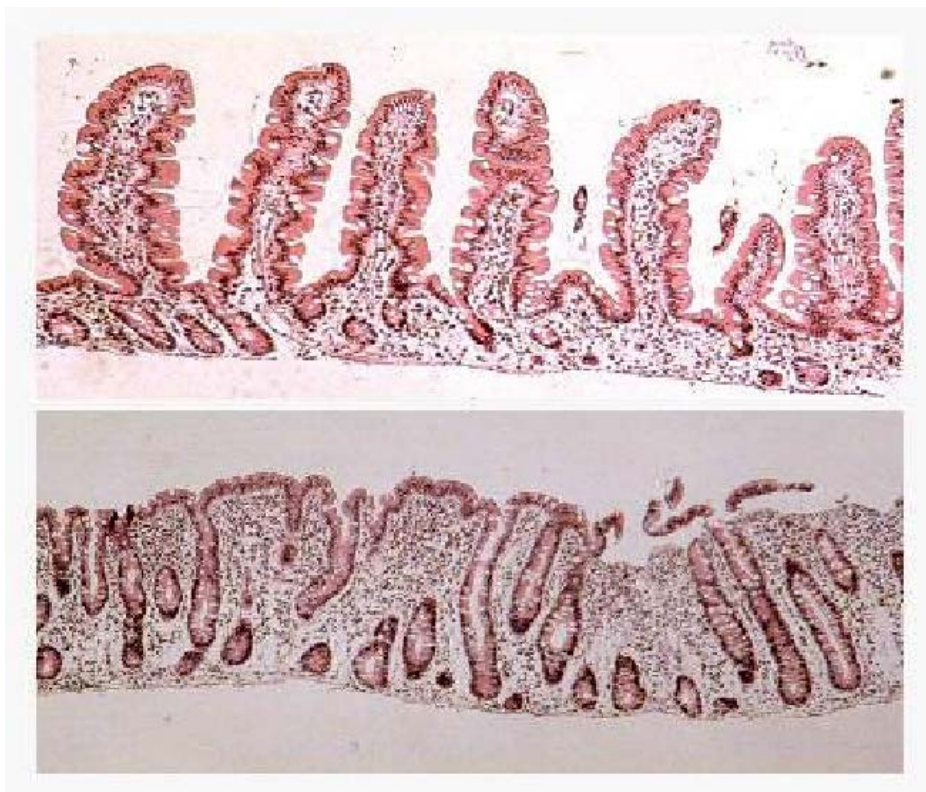


Tampereen yliopisto  
KELIAKIATUTKIMUSRYHMÄ

# Laboratoriotutkimukset 2011-2012



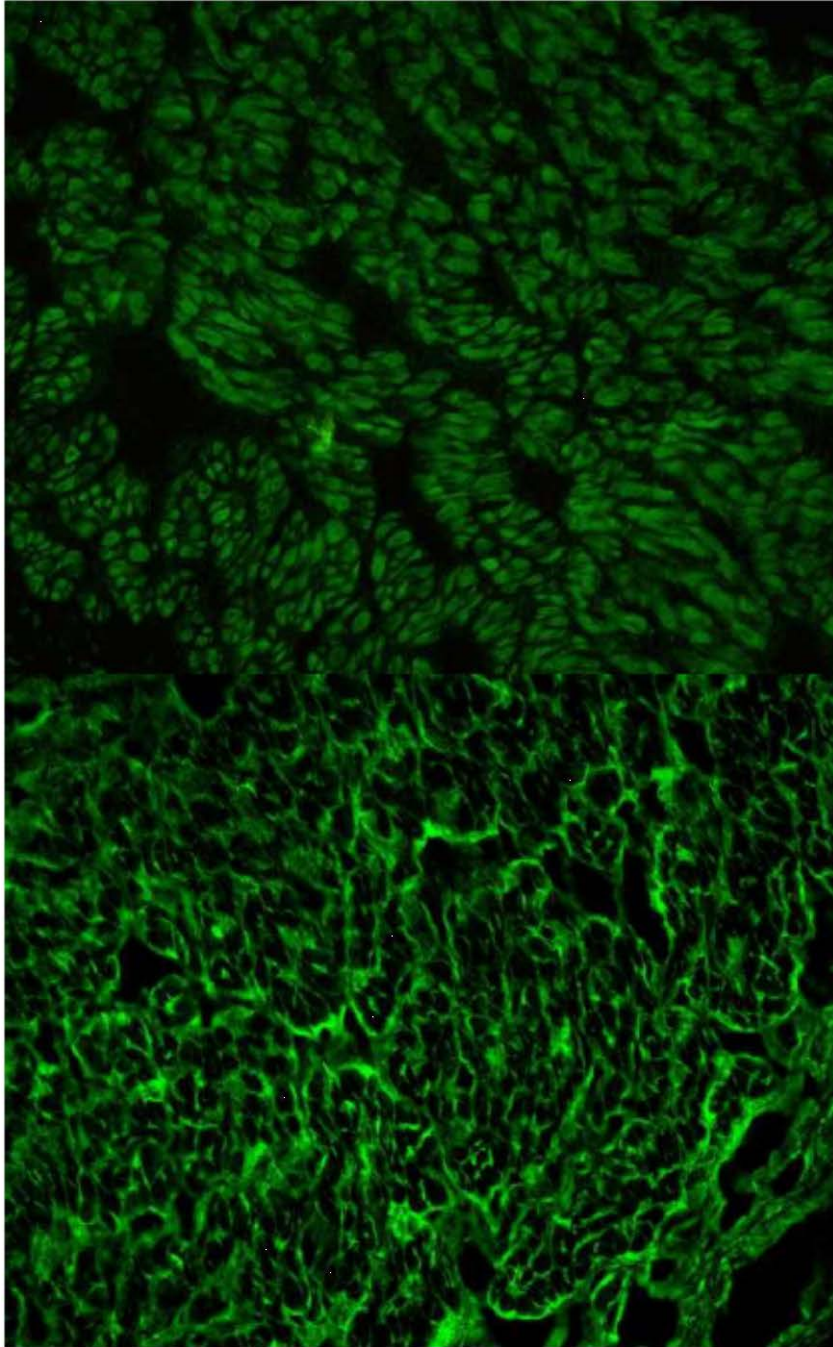
Lääketieteen yksikkö \* Keliakialaboratorio

33014 TAMPEREEN YLIOPISTO \* Käyntiosoite: Biokatu 10 \* Puhelin: 03-3551 8412 \*  
Faksi: 03-3551 8402



# SISÄLLYSLUETTELO

<b>KELIAKIA .....</b>	<b>5</b>
DIAGNOSTIIKKA .....	5
VASTA-AINETESTIT .....	5
KELIAKIA-HLADQ (DQ2 JA DQ8).....	7
LATENTIN KELIAKIAN MARKKERITUTKIMUS OHUTSUOLIBIOPSIASTA .....	7
TRANSGLUTAMINAASI- SPESIFISET IGA- KERTYMÄT .....	8
<b>YLEISIÄ OHJEITA .....</b>	<b>9</b>
KELIAKIALABORATORION YHTEYSTIEDOT.....	9
VASTAUKSET .....	10
LAADUNTARKKAILU.....	11
<b>TUTKIMUKSET .....</b>	<b>11</b>
KELIAKIATUTKIMUS .....	11
S- PEPTIDIGLIADIINIVASTA-AINEET.....	13
S- ENDOMYSIUMVASTA-AINEET .....	14
S- KUDOSTRANSGLUTAMINAASIVASTA-AINEET .....	15
KELIAKIA- HLADQ .....	16
LATENTIN KELIAKIAN MARKKERITUTKIMUS OHUTSUOLIBIOPSIASTA.....	17
TRANSGLUTAMINAASI-SPESIFISET IGA- KERTYMÄT .....	18



**Yläkuvassa nähdään negatiiviset ja alakuvassa positiiviset endomysiumvasta-aineet napanuoran sileälihaskudoksessa. Mikroskooppisuurennos 1:200.**

## KELIAKIA

Keliakiassa viljatuotteiden valkuaisaine gluteeni aiheuttaa ohutsuolen limakalvovaurion, jolloin limakalvon suolinukka on alentunut ja kryptat syventyneet (ks. kannen kuva). Keliakiaan liittyy myös lisääntynyt tulehdussolujen määrä limakalvon epiteelissä ja lamina propriassa. Viime aikoina julkaistut havainnot osoittavat, että keliakia kehittyy asteittain lievästä limakalvon tulehduksesta vaikeaan suolinukan katoon.

Keliakia ei ole yksinomaan suoliston imeytymishäiriötauti vaan taudinkuva on hyvin moni-ilmeinen. Suolisto-oireet puuttuvat usein täysin. Suoliston ulkopuolisia oireita ovat niveloireet, luukato, pysyvien hampaiden kiillevauriot ja erilaiset neurologiset oireet. Keliakian toinen ilmenemismuoto on ihokeliakia (Dermatitis herpetiformis), jota voi esiintyä itsenäisenä ihon rakkulatautina tai yhdessä suolioireiden kanssa.

Keliakian patomekanismi on edelleen tuntematon, mutta geneettisellä perimällä on tärkeä osuus. Keliakia liittyy vahvasti HLA haplotyyppiin DR3-DQ2. DQ2- molekyyliä koodaavat alleelit HLA DQA1\*0501 ja HLA DQB1\*0201 ovat todettavissa 90%:lla suomalaisista keliakikoista, mutta myös 20%:lla väestöstä yleensä. Noin 10%:lla suomalaisista keliakiapotilaista on HLA- haplotyyppi DR4-DQ8, joka on ominainen myös tyyppi I:n diabetekselle. Keliakian kehittyminen vaatii kuitenkin aina altistumisen gluteenille.

## Diagnostiikka

Keliakian diagnostiikan kulmakivenä on ohutsuolibiopsiatutkimus, jolla voidaan todeta taudin aktiivissa vaiheessa tyyppinen ohutsuolen limakalvon nukan vaurio, villusatrofia, yhdistettynä kryptahyperplasiaan.

Ohutsuolen limakalvopalat otetaan joko mahalaukun tähystyksen, gastroskopian, yhteydessä tai imubiopsiatekniikalla kapselin avulla. Gastroskopiassa on rutiinisti hyvä ottaa ohutsuolikoepaloja keliakian poissulkemiseksi, vaikka keliakiaa ei kliinisesti epäiltäisikään. Ohutsuolen limakalvo paranee gluteenittoman dieetin aikana.

Keliakian esiintyvyys väestössä on nykyisten tutkimusten mukaan jopa 1:50. Taudin yleisyydestä ja moni-ilmeisyydestä johtuen ovat diagnostiikassa käytettävät noninvasiiviset serologiset seulontakokeet yhä tärkeämpiä. Serologisilla testeillä voidaan saada viitettä ohutsuolen limakalvon nukan vaurioitumisesta henkilöillä, joita ei muuten tutkittaisi keliakian suhteen ja joille ei rutiinisti tehtäisi gastroskopiaa. "Riskiryhmiin" kuuluvat esim. keliakikon terveet perheenjäsenet, tyyppi 1 diabeetikot, Sjögrenin syndroomaa ja IgA-puutosta sairastavat henkilöt. Toisaalta kliinisesti vähäoireinen tai oireeton potilas diagnosoidaan usein vasta-aineseulonnan avulla riskiryhmien ulkopuoleltakin. Lisäksi vasta-ainetestejä käytetään potilaan seurannassa limakalvon nukan paranemisen mittarina.

## Vasta-ainetestit

Seerumin gliadiini/peptidigliadiini-, endomysium- ja kudostransglutaminaasivasta-ainetestit kertovat koska on syytä epäillä suolinukan vaurioitumista ja jatkaa tutkimuksia ohutsuolikoepala-tutkimuksella.

Vasta-aineet normalisoituvat muutaman kuukauden/ yhden vuoden gluteenivapaan dieettihoidon aikana. Hoidon seurantaan kannattaa valita testi, joka parhaiten primaarivaiheessa mittasi keliakiapotilaan suolinukan vauriota.

## Peptidigliadiinivasta-aineet

Gliadiini on gluteenin fraktio, jota kohtaan syntyy vasta-aineita keliakiassa ja dermatitis herpetiformiksessa. Erityisesti IgA- luokan vasta-aineilla on merkitystä.

Perinteinen gliadiinivasta-ainemenetelmä on korvattu uudella peptidigliadiinimenetelmässä. Menetelmässä käytetään antigeeninä deamidoituja gliadiinipeptidejä (DGP). Nämä vasta-aineet korreloivat hyvin transglutaminaasi- ja endomysiumvasta-aineiden kanssa ja ne ovat perinteistä gliadiinivasta-aineita spesifisemmät ja herkemmät keliakian diagnostiikassa.

Markkinoilla on testikittejä jotka mittaavat erikseen IgA- ja IgG-vasta-aineet tai molemmat yhdessä (DGP Screen).

## Kudosautovasta-aineet (endomysium- ja kudostransglutaminaasivasta-aineet)

### Endomysiumvasta-aineet

Keliaakikolla ravinnosta saatava gluteeni (gliadiini) saa aikaan IgA-luokan kudosvasta-aineiden muodostumisen. Näitä keliakialle erittäin spesifisiä kudosvasta-aineita ovat R1-tyypin retikuliinivasta-aineet, joiden mittaamiseen käytetään rotan kudoksia. Tämä testi on korvattu toisella kudosvasta-ainetestillä (endomysiumvasta-aineet), jossa vasta-aineiden mittaamisessa käytetään humaanikudosta, useimmiten ihmisen napanuoraa. Positiivisen endomysiumvasta-ainetestituloksen tulee johtaa suolen limakalvon nukan tutkimiseen riippumatta kliinisestä oireilusta. Positiivinen vasta-ainetulos henkilöllä, jolla on normaali suolen limakalvo ennakoi jopa tulevaa keliakiaa (latentti eli piilevä vaihe, jossa seuranta on aiheellinen).

Endomysiumvasta-ainemääritys tehdään immunofluoresenssi (IF)- menetelmällä käyttäen ihmisen napanuorasta valmistettuja jääleikkeitä antigeenikudoksena. Viimeaikaiset tutkimustulokset osoittavat, että antigeeni on **kudostransglutaminaasi**.

### Kudostransglutaminaasivasta-aineet

Kudostransglutaminaasi on entsyymi, joka kalsiumin läsnäollessa katalysoi sidoksen muodostumista proteiinien glutamiinitähteen  $\gamma$ - karboksyyli-ryhmän ja lysini-ryhmän välille. Gliadiini sisältää paljon glutamiini-aminohappoa ja se voi toimia transglutaminaasin substraattina. Kudostransglutaminaasin katalysoima gliadiinin deaminaatio lisää suoliston gliadiinispesifisten T-solujen kykyä tunnistaa sitä. Täten kudostransglutaminaasilla voisi olla tärkeä rooli immunologisen vasteen lisäämisessä.

Transglutaminaasia esiintyy useissa ihmisen kudoksissa, mm. punasoluissa ja ohutsuolen limakalvolla. Se on pääosin solunsisäinen entsyymi, mutta sitä on todettu vapautuvan solusta kudosvaurioiden yhteydessä. Aktiivissa keliakiassa kudostransglutaminaasin tuotanto on lisääntynyt. Kudostransglutaminaasivasta-aineiden IF- värjäyksessä nähdään tyypillinen R1-tyyppinen retikuliini- ja endomysiumvasta-ainekuvio jyrksijöiden ja kädellisten kudoksissa.

Kudostransglutaminaasivasta-aineet mitataan seerumista ELISA- menetelmällä käyttäen antigeeninä ihmisen rekombinantti transglutaminaasia.

Tutkimustulostemme perusteella endomysium- ja kudostransglutaminaasivasta-ainetestit ovat erittäin spesifisiä ja herkkiä keliakian mittareita. Endomysiumvasta-ainetestillä on noin 95%:n herkkyys löytää hoitamaton keliakia samoin IgA-luokan transglutaminaasivasta-aineita voidaan todeta yli 95%:lla hoitamaton keliakia sairastavista potilaista.

Endomysium- ja transglutaminaasitestien tulokset korreloivat hyvin keskenään ja tukevat toisiaan. Määrittämällä molemmat vasta-aineet voidaan löytää lähes 100% hoitamaton keliakia sairastavista potilaista.

### **Keliakian pikatesti**

Pikatesti tehdään kokoverinäytteestä käyttäen hyväksi punasolujen sisältämää kudostransglutaminaasia IgA- vasta-aineiden mittaamiseksi.

Tutkimustemme mukaan testi on spesifinen ja herkkä keliakian mittari ja testi korreloi hyvin (95%) perinteisten endomysium- ja kudostransglutaminaasitestien kanssa.

Pikatesti soveltuu hyvin käytettäväksi lääkärin vastaanotolla ja on helppo suorittaa myös kotioloissa.

### **Keliakia-HLADQ (DQ2 ja DQ8)**

90% suomalaisista keliakikoista on DQ2- positiivisia. Lähes kaikki muut keliakikot ovat DQ8- positiivisia. Negatiivinen DQ2 ja DQ8 tulos puhuu keliakiaa vastaan ja uusi koepala tai gluteenialtistus ei useimmiten ole tarpeen. Positiivisen tuloksen tulkinnassa on huomioitava, että noin 20% terveistä suomalaisista on DQ2- positiivisia.

Keliakia-HLA – tutkimusta voidaan käyttää hyödyksi, jos keliakian diagnoosi on epävarma, ohutsuoliatrofia on lievä, potilas on ollut gluteenittomalla ruokavaliolla koepalan oton yhteydessä tai jos epäillään latenttia keliakiaa.

### **Latentin keliakian markkeritutkimus ohutsuolibiopsiasta**

Keliakiaan liittyy lisääntynyt tulehdussolujen määrä ohutsuolen limakalvon epiteelissä ja lamina propriassa. Suurella osalla intraepiteelisistä T-lymfosyyteistä (CD3+) on  $\alpha\beta$  T-solureseptori, osalla on  $\gamma\delta$  T-solureseptori. Keliakiassa on tyypillistä lisääntynyt  $\gamma\delta$  T-lymfosyyttien määrä epiteelissä.

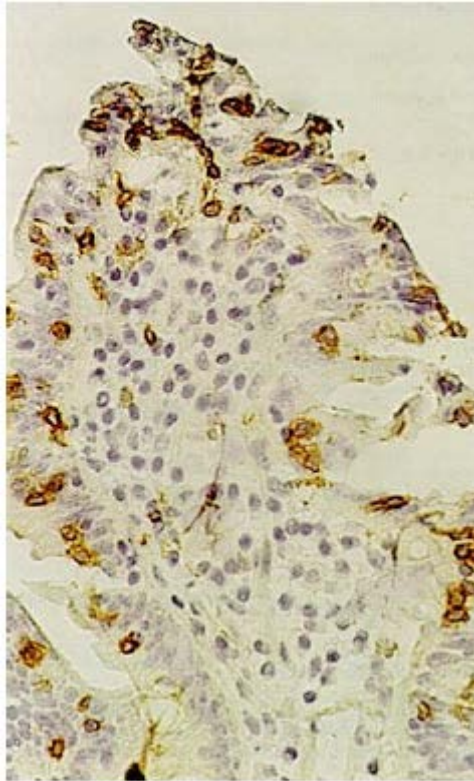
Latentin keliakian markkeritutkimuksen avulla pyritään tunnistamaan kehittymässä oleva keliakiatauti ohutsuolen limakalvolta jo siinä vaiheessa, kun suolen limakalvon rakenne normaaleilla histologisilla menetelmillä tutkittuna on vielä normaali.

Tämän tyyppinen tutkimus on aiheellinen sellaisten potilaiden kohdalla, joilla endomysium-transglutaminaasi- tai gliadiinivasta-aineet ovat positiiviset, mutta rutiiniohutsuolinäytteessä ei ole havaittavissa keliakiaan sopivia muutoksia (litteä limakalvo).

Keliakikoiden ensimmäisen asteen sukulaiset kuuluvat tämän tutkimuksen piiriin.

-70° C asteeseen jäädytetyistä ohutsuolinäytteistä värjätään monoklonaalisilla vasta-aineilla kaikki intraepitelialiset lymfosyytit (CD3) ja niiden alaluokat,  $\alpha\beta$ - ja  $\gamma\delta$ - T-solut.

Nykyisen käsityksen mukaan keliakipotilaalla  $\gamma\delta$ - solujen tiheys pysyy usein suurena mutta tiheys pienenee gluteenittoman ruokavalion aikana. Kun suolinukka paranee CD3- ja  $\alpha\beta$  - solujen määrä normalisoituu. Aktiivissa keliakiassa tulehduksen merkinä on limakalvon HLA-DR- antigenin lisääntyminen basaalimembraanilla ja soluväleissä sekä kryptissa. Kryptissa tätä ei yleensä esiinny terveellä limakalvolla eikä hoidetussa keliakiassa.



Kuvassa nähdään suurentunut  $\gamma\delta$ -solumäärä (ruskeat solut) normaalilla ohutsuolen limakalvon epiteelillä.

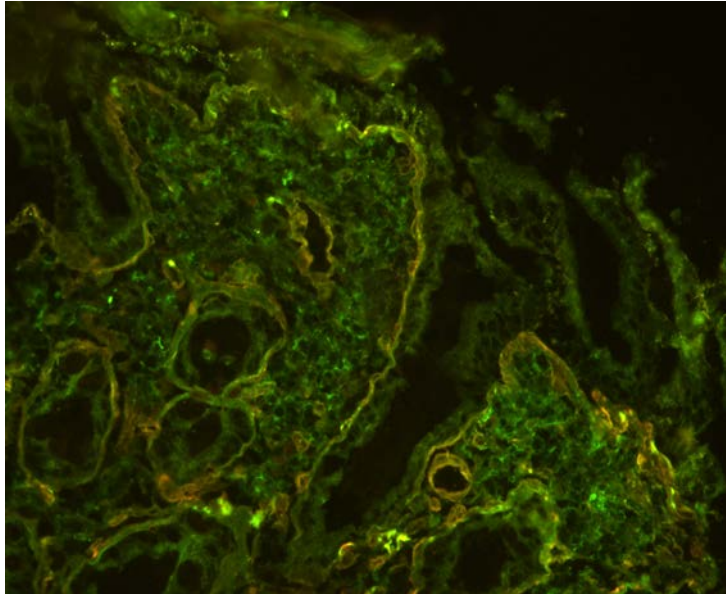
## Transglutaminaasispesifiset IgA- kertymät

Kohonnut tulehdussolujen määrä villusten kärjissä ja lisääntynyt gamma-delta T-lymfosyyttien määrä on merkki alkavasta keliakiasta. Muutokset eivät kuitenkaan ole keliakialle diagnostinen löydös.

Keliakian autovasta-aineet (kudostransglutaminaasi- ja endomysiumvasta-aineet) tuotetaan ohutsuolen limakalvolla. Vasta-aineet sitoutuvat suolen limakalvolla ekstrasellulaariseen transglutaminaasiin ja ne voidaan havaita värjäämällä ohutsuolen jääleikkeet suoralla immunofluoresenssitekniikalla. Kaksoisvärjäyksessä leikkeet värjätään IgA- ja transglutaminaasi 2 (TG2) vasta-aineilla. IgA värjäytyy vihreäksi ja TG2 punaiseksi. Kaksoisvärjäyskuvassa (alla) nähdään miten IgA ja TG2 sijoittuvat samaan paikkaan, väri keltainen.

Tutkimustemme mukaan vasta-ainekertymät voidaan todeta ohutsuolen limakalvolla jo keliakian varhaisvaiheessa jolloin vasta-aineita ei ole todettavissa verenkierrossa ja kun limakalvo on rakenteeltaan vielä normaali.

Alkavan keliakian seurantatutkimuksessamme ohutsuolen IgA- kertymien tutkimiselle todettiin 93%:n sensitiivisyys ja 93%:n spesifisyys keliakiassa ilman villusatrofiaa.



Kaksoisvärjäyskuvassa nähdään transglutaminaasispesifiset IgA- kertymät epiteelin alla sekä kryptien ja verisuonten ympärillä.

## YLEISIÄ OHJEITA

### KELIAKIALABORATORION YHTEYSTIEDOT

#### Asiakasyhteydet:

FK Kaija Laurila

Puhelin: 03- 3551 8401

Faksi: 03- 3551 8402

Sähköposti: [kaija.laurila@uta.fi](mailto:kaija.laurila@uta.fi)

Laboratorio:

Puhelin: 03- 3551 8412

Faksi: 03- 3551 8402

#### Lausunnot:

Vasta-ainetestit:

Prof. Markku Mäki, puhelin: 03- 3551 8400. Sähköposti: [markku.maki@uta.fi](mailto:markku.maki@uta.fi).

FK Kaija Laurila, puhelin: 03-3551 8401. Sähköposti: [kaija.laurila@uta.fi](mailto:kaija.laurila@uta.fi).

Keliakia-HLADQ:

Prof. Markku Mäki puhelin: 03- 3551 8400.

Latentin keliakian markkeritutkimus ja IgA- kertymät:

FK Kaija Laurila, puhelin: 03- 3551 8401

Dos. Katri Kaukinen, puhelin: 03- 3551 8403

## NÄYTTEIDEN KÄSITTELY JA LÄHETTÄMINEN

### **Vasta-ainetestit**

0.5- 1.0 ml seerumia (minimi 100 ul). Näytteet lähetetään huoneenlämpötilassa.

### **Keliakia-HLADQ- tutkimus**

5 ml EDTA-verta.

Näyte lähetetään huoneenlämmössä. Näyte säilyy useita päiviä huoneenlämpötilassa, +4 C:ssa tai -20C:ssa.

### **Ohutsuolibiopsiasta tehtävät tutkimukset: Latentin keliakian markkeritutkimus ja transglutaminaasi-spesifiset IgA- kertymät**

Gastroskopian tai kapselibiopsian yhteydessä otettu ohutsuolipala asetetaan keittosuolalla kostutetun sideharsotaitoksen tai imupaperin päälle siten, että villukset ovat ylöspäin. Pala ei saa päästä kuivumaan.

Ohutsuolipala jäädytetään tuoreena mahdollisimman pian näytteenoton jälkeen nestetypellä OCT:n (optimal cutting tissue compound) sisään: Laita tippa OCT:ta alumiinifolion päälle ja jäädytä nopeasti nestetypessä. Laita biopsiapala (yksi pala yhteen blokkiin) OCT:n päälle villukset ylöspäin, lisää tippa OCT:ta ja jäädytä nestetypessä. Laita jäädytetty pala ilmatiiviisti esim. minigrip-pussiin, jottei se kuivu säilytyksen aikana. Jäädytyksen jälkeen pala säilytetään -20°C:ssa tai -70° C:ssa.

Näytteen pakastus tulisi tapahtua nopeasti vaikka nestetyppeä ei ole käytettävissä, esim. hiilihappojään päällä. Näytteet lähetetään hiilihappojäässä. Näyte ei saa sulaa kuljetuksen aikana.

### **Näytteiden lähetysosoite**

Tampereen yliopisto /Lääketieteen yksikkö

FM3 / Keliakialaboratorio

Biokatu 10

33520 Tampere

### **Postitus ja lähetysmateriaali**

Seeruminäytteet voidaan lähettää ns. vastauslähetyksenä, jolloin keliakialaboratorio maksaa postimaksun. Osoitetarroja, joissa on painettu postin sopimusnumero, postituspusseja ja keliakialaboratorion lähetteitä voi tilata numerosta 03- 3551 8412. Asiakas voi käyttää lähetteenä myös oman ATK- järjestelmänsä tuottamia lähetteitä.

## **VASTAUKSET**

Vastaukset lähetämme postitse (tai telefaxilla) 2 kertaa viikossa.

## LAADUNTARKKAILU

Vasta-ainemääritysten sisäisessä laaduntarkkailussa käytämme kontrollinäytettä, jolle on asetettu tavoitearvot. Histologisten näytteiden värjäyssarjoissa on kontrollina mukana tunnettu potilasnäyte.

Laboratoriomme on asiantuntijalaboratoriona Labquality Oy:n keliakiatutkimusten laaduntarkkailuohjelmakierroksilla. Kierroksia on kaksi kertaa vuodessa. Vuoden 2010 alusta 3 kertaa vuodessa.

Kansainvälisistä laaduntarkkailukierroksista osallistumme UK NEQAS:n (UK National External Quality Assessment Scheme) keliakiatutkimuskierroksiin, joita järjestetään kuusi kertaa vuodessa.

Olemme standardoineet keliakian autovasta-ainetestien (gliadiini-, endomysium- ja transglutaminaasivasta-aineet) menetelmät yhteneviksi eurooppalaisessa standardointiryhmässä [The European Society for Paediatric Gastroenterology and Nutrition (ESPGAN) and European Medical Research Councils (EMRC) Clinical Network for Gastroenterological Immunology: Serological screening for coeliac disease].

## TUTKIMUKSET

### KELIAKIATUTKIMUS

(Sis. peptidigliadiini-, endomysium- ja transglutaminaasivasta-ainetestit)

#### ATK-numero ja lyhenne

9098 S-KeliAb sisältää osatutkimukset:

1454 S-AGAAb

4390 S-EMAbA

1885 S-tTGAbA

#### Näyte

1-2 ml seerumia.

#### Menetelmät

Peptidigliadiinivasta-aineet määritetään fluoroentsyymi-immunologisella menetelmällä käyttäen Phadian ImmunoCap- laitteistoa (tekopaikka: Tays- Laboratoriokeskus).

Endomysiumvasta-aineet määritetään epäsuoralla immunofluoresenssitekniikalla (IF), jossa antigeenina käytetään ihmisen napanuoran fiksoimatonta jääleikettä ja kaupallista monovalenttia IgA antiseerumia. Potilasnäytteet seulotaan seerumilaimennoksella 1:5. Positiiviset näytteet jatkotitrataan tarvittaessa 1:4000 asti.

Transglutaminaasivasta-aineet määritetään ELISA- menetelmällä käyttäen antigeenina yhdistelmä-DNA- tekniikalla valmistettua ihmisen transglutaminaasia.

## Suoritetaan

1-2 kertaa viikossa.

## Tulos käytävissä

Noin 7 vrk:n kuluttua.

## Vastaustapa/viitearvot

Kansainvälistä referenssiseerumia ei toistaiseksi ole käytävissä, mistä johtuen vastauskäytäntö ja viitevälit vaihtelevat eri laboratorioden välillä.

Peptidigliadiinivasta-ainetulos ilmoitetaan yksiköissä (kU/l).

## Viitearvot

	S-AGAAbA	S-AGAAbG
normaali	alle 7	alle 7
heikko positiivinen	7-10	7-10
positiivinen	yli 10	yli 10

Endomysiumvasta-aineet vastataan tittereinä. Negatiivisen rajana pidetään matalinta seulonnassa käytettyä seerumilaimennosta (<5).

Transglutaminaasivasta-aineet vastataan yksikköinä (U).

Viitearvot:

normaali	alle 20
matala positiivinen	20- 30
positiivinen	yli 30

## Tulkinta

IgA- luokan endomysiumvasta-aine on spesifinen ja herkkä gluteenin aiheuttaman limakalvovaurion markkeri ja on aina ohutsuolibiopsian aihe. Negatiivisia testituloksia on saatu IgA- puutosten yhteydessä. Tällöin kuitenkin IgG- luokan endomysiumvasta-aineet ovat olleet positiiviset.

Kudostransglutaminaasivasta-ainetestin tulos korreloi hyvin endomysiumvasta-ainetestin kanssa. Positiivisia IgA- luokan vasta-aineita esiintyy 95%:lla hoitamaton keliakiaa sairastavista potilaista.

Vasta-aineet normalisoituvat muutamassa kuukaudessa/yhdessä vuodessa gluteiinivapaan dieettihoidon aikana. IgA- luokan vasta-aineet normalisoituvat nopeammin ja IgG- luokan gliadiinivasta-aineet myöhemmin, joskus vasta vuoden kuluttua.

## Virhelähteet

Jos potilaalla on IgA- puutos (S-IgA <0.05 g/l) IgA- luokan vasta-aineet ovat negatiiviset. Läheteestä tulisi ilmetä todettu IgA- puutos, jolloin vasta-aineseulonta tehdään monovalentilla anti-IgG antiseerumilla.

## S- PEPTIDIGLIADIINIVASTA-AINEET

### ATK-numero ja lyhenne

1454 S-AGAAb, sisältää :  
3399 S-AGAAbA  
3400 S-AGAAbG

### Näyte

0.5 - 1 ml seerumia

### Menetelmä

IgA- ja IgG- luokan vasta-aineet mitataan fluoroentsyymi-immunologisella menetelmällä käyttäen Phadian ImmunoCap- laitteistoa.

### Tekopaikka

Tays- Laboratoriokeskus. Immunokemia, puh. 03- 31176568.

### Suoritetaan

Kerran viikossa.

### Tulos käytettävissä

Noin 7 vrk:n kuluttua.

### Vastaustapa/viitearvot

Tulos ilmoitetaan yksikköinä (kU/l).

### Viitearvot:

	S-AGAAbA	S-AGAAbG
normaali	alle 7	alle 7
heikko positiivinen	7-10	7-10
positiivinen	yli 10	yli 10

### Tulkinta

Gliadiini on gluteininin fraktio, jota kohtaan syntyy vasta-aineita keliakiassa ja dermatitis herpetiformiksessa. Uudessa menetelmässä käytetään antigeenina deamidoituja gliadiinipeptidejä (DGP) joiden on todettu olevan spesifisiä keliakialle. Gluteenittoman dieetin aikana nämä vasta-aineet vähenevät.

**Virhelähteet**

Muu suolivaurio, atoopikot, maitoproteiiniallergia, Crohnin tauti ja colitis ulcerosa. IgA-puutteisella keliakiapotilaalla (S-IgA < 0.05 g/l) IgA- luokan vasta-aineet ovat negatiiviset.

**S- ENDOMYSIUMVASTA-AINEET**

Pyydettyessä endomysiumvasta-aineita (S-EMAb), teemme rutiinisti vain IgA- luokan vasta-aineet ellei lähetteestä käy selville, että potilaalla on IgA-puutos.

**ATK-numero ja lyhenne**

4390 S-EMAbA

4391 S-EMAbG

**Näyte**

0.5 ml seerumia.

**Menetelmä**

Epäsuora immunofluoresenssi (IF). Antigeenina ihmisen napanuoran jääleike.

Seulonta tehdään seerumilaimennuksella 1:5 ja monovalentilla IgA tai IgG antiseerumilla. IgG-luokan vasta-aineet seulotaan laimennoksella 1:10.

**Suoritetaan**

2-3 kertaa viikossa.

**Tulos käytettävissä**

N. 3 vrk:n kuluttua.

**Vastaustapa/viitearvot**

Endomysiumvasta-aineet ilmoitetaan tittereinä:

S-EMAbA: negatiivinen = alle 5

S-EMAbG: negatiivinen = alle 10

**Tulkinta**

Positiivinen IgA- luokan endomysiumvasta-ainetulos on aina merkki gluteenin indusoimasta limakalvovauriosta. Kaikki positiiviset (matalatkin titterit) löydökset ovat merkittäviä. Vasta-aineet normalisoituvat gluteiinittoman dieettihoidon aikana.

**Virhelähteet**

Jos potilaalla on IgA- puutos (S-IgA < 0.05 g/l), ja seulonta on tehty anti- IgA seerumilla voi negatiivinen tulos olla virheellinen. Lähetteestä tulisi ilmetä todettu IgA- puutos, jolloin seulonta tehdään anti- IgG seerumilla.

## S- KUDOSTRANSGLUTAMINAASIVASTA-AINEET

### Atk-numero ja lyhenne

1885 S-tTGAbA

1886 S-tTGAbG

### Näyte

0.5 ml seerumia.

### Menetelmä

ELISA.

### Suoritetaan

1-2 kertaa viikossa.

### Tulos käytettävissä

N. 7 vrk kuluttua.

### Vastaustapa

Tulos ilmoitetaan yksikköinä (U).

### Viitearvot:

S-tTGAbA:

Negatiivinen	alle 20
Matala positiivinen	20-30
Positiivinen	yli 30

S-tTGAbG:

Negatiivinen	alle 7,0
Matala positiivinen	7,0- 10,0
Positiivinen	yli 10,0

### Tulkinta

Kudostransglutaminaasi on viimeaikaisten tutkimustulosten perusteella keliakian autoantigeeni. Kudostransglutaminaasi- testi on herkkä ja spesifinen gluteenin aiheuttaman limakalvovaurion markkeri. Hoitamattomassa keliakiassa vasta-aineet ovat positiiviset 95%:lla sekä lapsi että aikuispotilaista. Vasta-aineet normalisoituvat gluteenittoman dieettihoidon aikana.

**Virhelähteet**

Jos potilaalla on IgA- puutos (S-IgA < 0.05 g/l), ja seulonta on tehty anti- IgA seerumilla, voi negatiivinen tulos olla virheellinen.

**Keliakia- HLADQ****DQ2 ja DQ8 määrittäminen****Atk-numero ja -lyhenne**

4640 B-HLAKeli

**Indikaatiot**

Perimällä on suuri merkitys keliakian synnyssä. Keliakia liittyy kromosomi 6:n lyhyen haaran HLA- geeneihin ja erityisesti HLA haplotyyppeihin DR3-DQ2, DR5/7-DQ2 ja DR4-DQ8. Yli 90% suomalaisista keliakikoista on DQ2 positiivisia. Lähes kaikki muut keliakikot ovat DQ8 positiivisia.

DQ2- molekyyliä koodaavat alleelit DQA1\*05 ja DQB1\*02 ja DQ8- molekyyliä koodaavat alleelit DQA1\*03 ja DQB1\*0302.

Tutkimusta voidaan käyttää hyödyksi, jos keliakian diagnoosi on epäselvä: ohutsuolikoepalan tulkinta on epävarma, ohutsuoliatrofia on lievä, potilas on ollut gluteenittomalla ruokavaliolla koepalan oton yhteydessä tai epäillään latenttia keliakiaa.

**Näyte**

5 ml EDTA verta. Näyte lähetetään huoneenlämmössä (näyte säilyy useita päiviä huoneenlämmössä, +4C:ssa tai -20C:ssa).

**Menetelmä**

Kaksivaiheisella PCR- monistukseen ja DNA- hybridisaatioon perustuvilla menetelmillä tutkitaan näytteestä onko henkilö positiivinen DQB1\*02, DQB1\*0302 ja DQA1\*05 alleelien suhteen.

**Tekopaikka**

UTULab, Turku, puh. 02- 3337026.

**Tulos valmiina**

Kuukauden kuluessa.

**Tulkinta**

Negatiivinen DQ2 ja DQ8 tulos tutkimuksessa puhuu keliakiaa vastaan ja uusi koepala tai gluteenialtistus ei useimmiten ole tarpeen. Positiivisen tuloksen tulkinnassa on huomioitava, että noin 20% terveistä suomalaisista on DQ2-positiivisia.

## LATENTIN KELIAKIAN MARKKERITUTKIMUS OHUTSUOLIBIOPSIASTA

### Indikaatiot

Mahdollisesti kehittymässä olevan keliakian tunnistaminen, mm. normaalimenetelmillä terveeksi todetulta suolen limakalvolta.

### Näyte

Gastroskopian tai kapselibiopsian yhteydessä otettu ohutsuolipala asetetaan keittosuolalla kostutetun sideharsotaitoksen tai imupaperin päälle siten, että villukset ovat ylöspäin. Pala ei saa päästä kuivumaan.

Ohutsuolipala jäädytetään tuoreena mahdollisimman pian näytteenoton jälkeen nestetyellä OCT:n (optimal cutting tissue compound) sisään: Laita tippa OCT:ta alumiinifolion päälle ja jäädytä nopeasti nestetyssä. Laita biopsiapala (yksi pala yhteen blokkiin) OCT:n päälle villukset ylöspäin, lisää tippa OCT:ta ja jäädytä nestetyssä. Laita jäädytetty pala ilmatiiviisti esim. minigrip-pussiin, jottei se kuivu säilytyksen aikana. Jäädytyksen jälkeen pala säilytetään  $-20^{\circ}\text{C}$ :ssa tai  $-70^{\circ}\text{C}$ :ssa.

Näytteen pakastus tulisi tapahtua nopeasti vaikka nestetyypeä ei ole käytettävissä, esim. hiilihappojään päällä. Näytteet lähetetään hiilihappojäässä. Näyte ei saa sulaa kuljetuksen aikana.

Lisätietoja näytteen käsittelystä ja lähettämisestä saa laboratorion, puh. 03- 3551 8412.

### Menetelmä

Jääleikkeet värjätään monoklonaalisilla vasta-aineilla intraepiteeliaalisten T- solujen (CD3) kvantitoimiseksi. Leikkeestä lasketaan lisäksi  $\alpha\beta$ - ja  $\gamma\delta$ - T-solujen tiheydet. Lisäksi suoritetaan palan HLA-DR- värjäys.

### Suoritetaan

Kerran viikossa. Vastaus lausuntoineen on käytettävissä n. kuukauden kuluttua siitä kun näyte on tullut laboratorioon.

### Vastaustapa

Tulos ilmoitetaan solujen tiheytenä epiteelimillimetriä kohti (solua/mm). DR- antigeenien määrät epiteelillä, soluväleissä, basaalimembraanilla ja kryptissa ilmoitetaan suhteellisella asteikolla -  $\rightarrow$  +++.

### Viitearvot/Tulkinta

CD3 – ja  $\alpha\beta$ - solujen suurentunut tiheys on tulehdusreaktion merkki, samoin HLA-DR antigeenien lisääntyminen. Nämä esiintyvät keliakiassa, mutta myös muissa ohutsuolen tulehdustiloissa. Suuri  $\gamma\delta$ - solujen määrä tulkitaan viitteksi keliakiasta tai latentista keliakiasta. Tutkimuksesta annetaan lausunto.

Löydös	Viitearvo <sup>1</sup>	Koholla olevan arvon merkitys
CD3 -solut	< 37 solua/mm	Tulehdus suolessa
$\alpha\beta$ - solut	< 25 solua/mm	Lisääntynyt keliakiassa gluteenipitoisen ruokavalion aikana. Voi esiintyä atopiassa.
$\gamma\delta$ - solut	< 4,3 solua/mm	Viittaa latenttiin tai aktiiviseen keliakiaan. Pysyy usein koholla gluteenittoman ruokavalion aikanakin.
HLA-DR	Lisääntynyt <sup>2</sup>	Liittyy aktiiviseen keliakiaan, erityisesti lisääntyminen kryptissa.

<sup>1</sup> Perustuvat sellaisten dyspepsiapotilaiden viitearvoihin, joilta keliakia on poissuljettu. Viitearvot on tarkistettu uudella potilasmateriaalilla vuonna 2002.

<sup>2</sup> kryptissa positiivinen tai epiteelillä +++ liittyneenä soluväli- ja basaalimembraanin positiivisuuteen.

## TRANSGLUTAMINAASISPESIFISET IgA- KERTYMÄT

### Indikaatiot

Mahdollisesti kehittymässä olevan keliakian tunnistaminen, mm. normaalimenetelmillä terveeksi todetulta suolen limakalvolta.

### Näyte

Ks latentin keliakian markkeritutkimus.

### Menetelmä

Jääleikkeestä värjätään IgA- kertymät suoralla immunofluoresenssi (IF)- tekniikalla. Kaksoisvärjäyksessä leikkeet värjätään IgA- ja transglutaminaasi 2 (TG2) vasta-aineilla.

### Suoritetaan

1-2 kertaa kuukaudessa.

### Vastaustapa

Negatiivinen= 0.

Positiiviset IgA- kertymät ilmoitetaan suhteellisella asteikolla 1-3+.

## KIRJALLISUUTTA

Collin P, Holm K, Kaukinen K, Laurila K, Mäki M. Latentti keliakia. Suomen lääkärilehti 1997;52:4279-83.

Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, Schuppan D. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. Nat Med 1997;3:797:801.

Dieterich W, Laag E, Schopper H, Volta U, Ferguson A, Gillett H, Riecken EO, Schuppan D. Autoantibodies to tissue transglutaminase as predictors of celiac disease. Gastroenterology 1998 Dec;115(6):1317-21.

Kaukinen K, Partanen J, Mäki M, Collin P. HLA-DQ typing in the diagnosis of celiac disease. Am J Gastroenterol 2002;97:695-9.

Kaukinen K, Peräaho M, Collin P, Partanen J, Woolley N, Kaartinen T, Nuutinen T, Halttunen T, Mäki M, Korponay-Szabo IR. Small-bowel mucosal transglutaminase 2-specific IgA deposits in coeliac disease without villous atrophy: A prospective and randomized clinical study. Scand J Gastroenterol 2005;40:564-572.

Kaukinen K, Collin P, Laurila K, Kaartinen T, Partanen J, Mäki M. Resurrection of gliadin antibodies in coeliac disease. Deamidated gliadin peptide antibody test provides additional diagnostic benefit. Scand J gastroenterol 2007 Jun19;1-6.

Korponay-Szabo IR, Dahlbom I, Laurila K, Koskinen S, Woolley N, Partanen J, Kovacs JB, Mäki M, Hansson T. Elevation of IgG antibodies against tissue transglutaminase as a diagnostic tool for celiac disease in selective IgA deficiency. Gut 2003;52:1567-1571.

Korponay-Szabo IR, Sulkanen S, Halttunen T, Maurano T, Rossi M, Mazzarella G, Laurila K, Troncone R, Mäki M. Tissue transglutaminase is the target in both rodent and primate tissues for celiac disease-specific autoantibodies. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2000;31:520-527.

Korponay-Szabo IR, Halttunen T, Szalai Z, Laurila K, Kiraly R, Kovacs JB, Fesus L, Mäki M. In vivo targeting of intestinal and extraintestinal transglutaminase 2 by celiac autoantibodies. Gut 2004;53:641-648.

Mäki M. The humoral immune system in coeliac disease. In Howdle PD (ed.), Coeliac disease. Bailliere`s Clinical Gastroenterology 1995;9:231-49.

Mäki M, Collin P. Coeliac Disease. Lancet 1997;349:1755-59.

Mäki M, Collin P, Kekkonen L, Visakorpi J, Vuoristo M. Keliakia. Duodecim, Keliakialiitto 2006.

Polvi A, Eland C, Koskimies S, Mäki M, Partanen J. HLA DQ and DP in Finnish families with celiac disease. Eur J Immunogen 1996;23:221-234.

Polvi A, Arranz E, Fernandez-Arquero M, Collin P, Mäki M, Sanz A, Calvo C, Maluenda C, Westman P, de la Concha E, Partanen J. HLA-DQ2-negative celiac disease in Finland and Spain. Human Immunology 1998;59:169-175.

Raivio T, Kaukinen K, Nemes E, Laurila K, Collin P, Kovacs JB, Mäki M, Korponay-Szabo IR. Self transglutaminase-based rapid celiac disease antibody detection by lateral flow method. Aliment Pharmacol Ther 2006;24:147-54.

Salmi TT, Collin P, Järvinen O, Haimila K, Partanen J, Laurila K, Korponay-Szabo IR, Huhtala H, Reunala T, Mäki M, Kaukinen K. Immunoglobulin A autoantibodies against

transglutaminase 2 in the small intestinal mucosa predict forthcoming coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2006;24:541-552.

Salmi TT, Collin P, Korponay-Szabo IR, Laurila K, Partanen J, Huhtala H, Kiraly R, Lorand L, Reunala T, Mäki M, Kaukinen K. Endomysial antibody-negative celiac disease: clinical characteristics and intestinal autoantibody deposits. *Gut* 2006;55:1746-1753.

Sollid LM, Thorsby E. HLA susceptibility genes in celiac disease: genetic mapping and role in pathogenesis. *Gastroenterology* 1993;105:10-22.

Stern M for the working group on serologic screening for celiac disease. Comparative evaluation of serologic tests for celiac disease: A European initiative toward standardization. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;31:513-519.

Sulkanen S, Collin P, Laurila K, Mäki M. IgA- and IgG- class antihuman umbilical cord antibody test in adult coeliac disease. *Scand J Gastroenterol* 1998;33:251-4.

Sulkanen S, Halttunen T, Laurila K, Kolho K-L, Korponay-Szabo I, Sarnesto A, Savilahti E, Collin P, Mäki M. Tissue transglutaminase autoantibody enzyme-linked immunosorbent assay in detecting celiac disease. *Gastroenterology* 1998;115:1322-1328.

Sulkanen S, Halttunen T, Marttinen A, Leivo E-L, Laurila K, Mäki M. Autoantibodies in celiac disease: Importance of fibroblasts. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1998;27:2206-213.

Suomen Gastroenterologiyhdistys ry: Keliakian hoitosuositus. *Duodecim* 1997;113 (1).