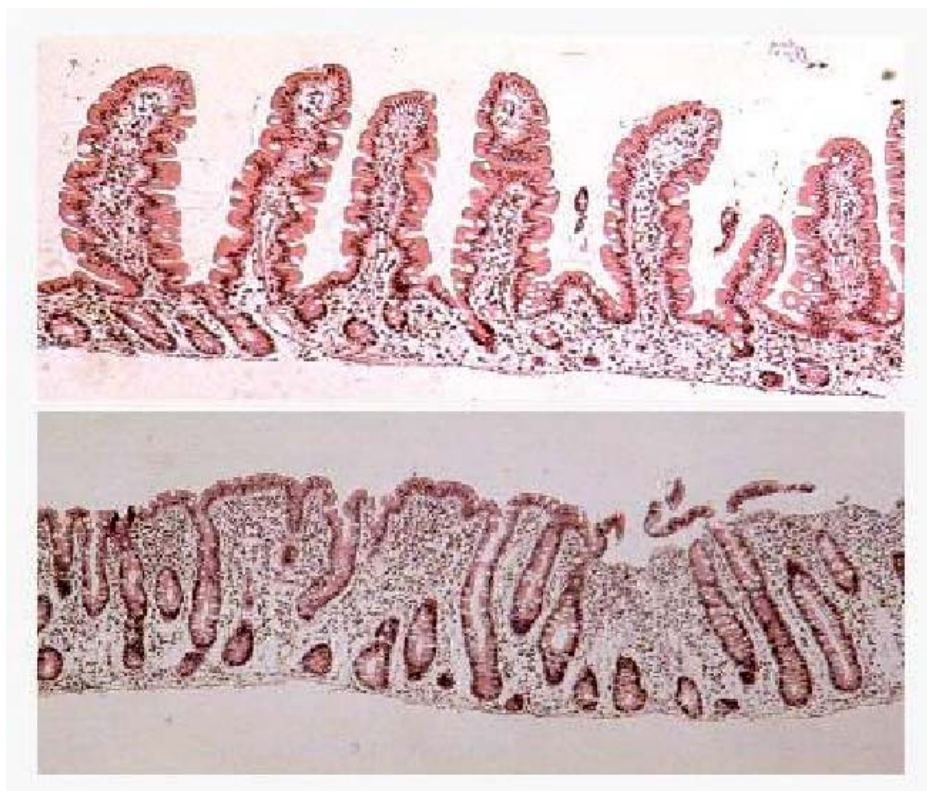


Tampereen yliopisto
KELIAKIATUTKIMUSRYHMÄ

Laboratoriotutkimukset 2006-2007

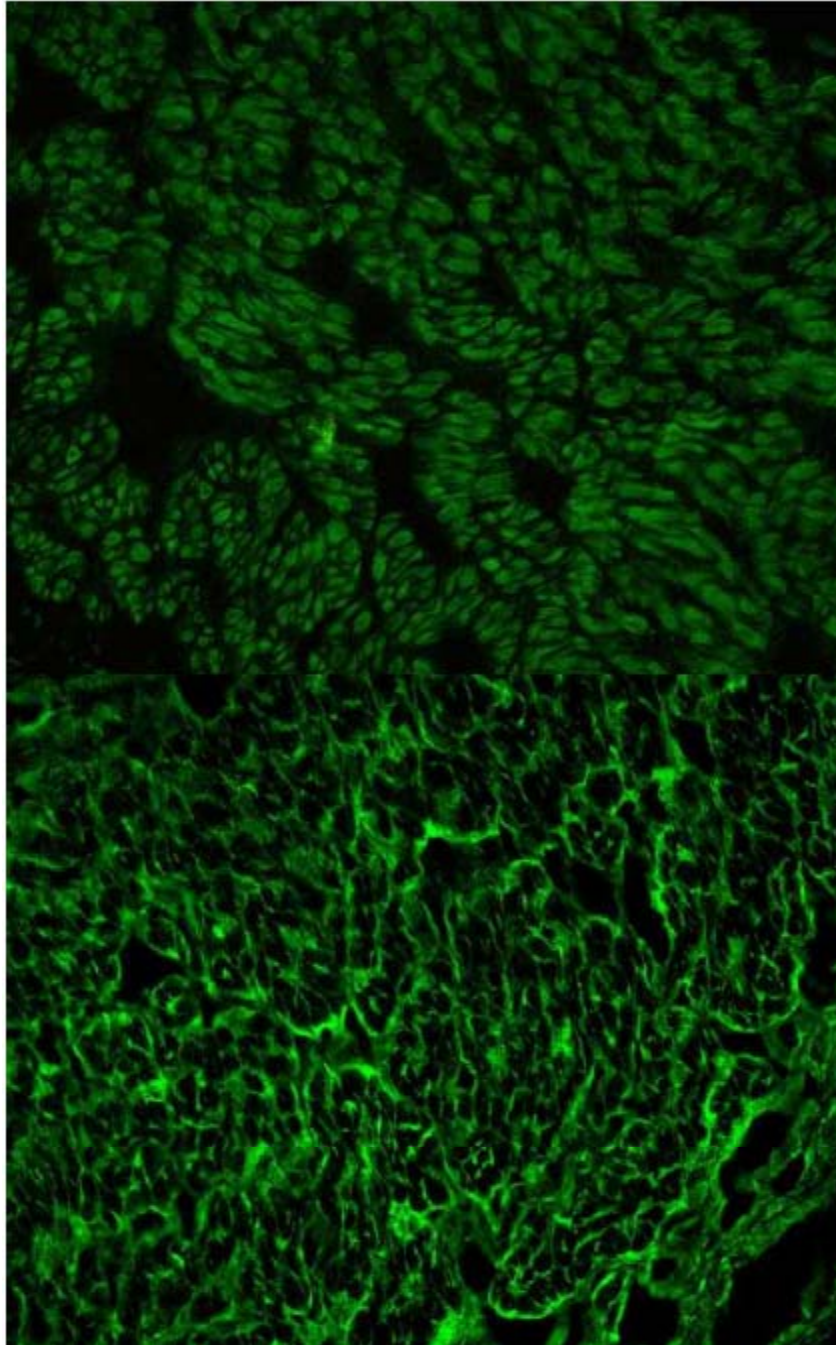


Lääketieteen laitos * Keliakialaboratorio

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

SISÄLLYSLUETTELO

KELIAKIA	5
DIAGNOSTIIKKA	5
VASTA-AINETESTIT	5
KELIAKIA-HLADQ (DQ2 JA DQ8)	7
LATENTIN KELIAKIAN MARKKERITUTKIMUS OHUTSUOLIBIOPSIASTA	7
YLEISIÄ OHJEITA	8
KELIAKIALABORATORION YHTEYSTIEDOT	8
NÄYTTEIDEN KÄSITTELY JA LÄHETTÄMINEN	9
VASTAUKSET	9
LAADUNTARKKAILU	10
TUTKIMUKSET	10
KELIAKIATUTKIMUS	10
S- GLIADIINIVASTA-AINEET	12
S- ENDOMYSIUMVASTA-AINEET	13
S- KUDOSTRANSGlutaminaasivasta-aineet	14
KELIAKIA -HLADQ	15
LATENTIN KELIAKIAN MARKKERITUTKIMUS OHUTSUOLIBIOPSIASTA	16
KIRJALLISUUTTA	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 niveleoireet, 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- molekyylillä 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 1:n diabetekselle. Keliakian kehittyminen vaatii kuitenkin aina altistumisen gluteenille.

Diagnostiikka

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

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

Keliakian esiintyvyys väestössä on nykyisten tutkimusten mukaan jopa 1:100. 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-, endomysium- ja kudostransglutaminaasivasta-ainetestit kertovat koska on syytä epäillä suolinukan vaurioitumista ja jatkaa tutkimuksia ohutsuolikoepala-tutkimuksella. Kliiniseen käyttöön suosittelemme Keliakiapaketti- tutkimusta, joka sisältää IgA- ja IgG-luokan gliadiinivasta-ainetestien lisäksi IgA-luokan endomysium- ja kudostransglutaminaasivasta-ainetestit. Vasta-aineet normalisoituvat muutaman kuukauden/ yhden vuoden gluteenivapaan dieettihoidon aikana. Hoidon seurantaan kannattaa valita testi, joka parhaiten primaarivaiheessa mittasi keliakiapotilaan suolinukan vauriota.

Gliadiinivasta-aineet

Gliadiini on gluteenin fraktio, jota kohtaan syntyy vasta-aineita keliakiassa ja dermatitis herpetiformiksessa. Erityisesti IgA- luokan vasta-aineilla on merkitystä. IgA- luokan gliadiinivasta-aineita voidaan todeta n. 80%:lla hoitamattomasta keliakiasta sairastavista potilaista. IgG- luokan gliadiinivasta-aineet eivät ole niin spesifisiä, mutta niillä voidaan todeta mahdollinen suolinukan vaurio IgA-puutospotilailta.

Gliadiinivasta-ainetutkimus on oireisilla potilailla herkkä, mutta epäspesifinen tutkimus. Koholla oleva gliadiinivasta-ainetulos ei aina merkitse keliakiasta, ja useilla keliakiapotilaillaakin gliadiinivasta-ainetestit voi antaa normaalin tuloksen. ”Väärää” positiivisia IgA-luokan gliadiinivasta-aineita todetaan mm. muissa suolivaurioissa (Crohnin tauti, colitis ulcerosa), atoopikoilla ja myös terveillä henkilöillä.

Kudosautovasta-aineet (endomysium- ja kudostransglutaminaasivasta-aineet)

Endomysiumvasta-aineet

Keliakikolla 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 ennakoii jopa tulevaa keliakiasta (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 γ - karboksyyliiryhmän ja lysiniitähteen aminoryhmän 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. iholla, 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 jyrksijoiden ja kädellisten kudoksissa.

Kudostransglutaminaasivasta-aineet mitataan seerumista ELISA- menetelmällä käyttäen antigeenina 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 keliakiaa sairastavista potilaista. Endomysium- ja transglutaminaasitestien tulokset korreloivat hyvin keskenään ja tukevat toisiaan. Määrittämällä molemmat vasta-aineet voidaan löytää lähes 100% hoitamaton keliakiaa sairastavista potilaista.

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

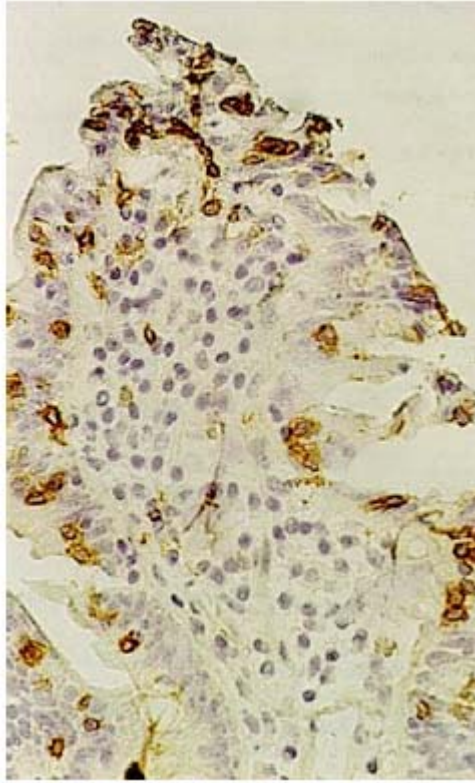
Keliakiaan liittyy lisääntynyt tulehdussolujen määrä ohutsuolen limakalvon epiteelissä ja lamina propriassa. Suurella osalla intraepiteelisistä T-lymfosyyteistä (CD3+) on $\alpha\beta$ T-solureseptori, osalla on $\gamma\delta$ T-solureseptori. Keliakiassa on tyypillistä lisääntynyt $\gamma\delta$ T-lymfosyyteihin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

Nykyisen käsityksen mukaan keliakiapotilaalla $\gamma\delta$ - solujen tiheys pysyy usein suurena gluteenittoman ruokavalion aikanakin, vaikka suolinukka paranee ja CD3- ja $\alpha\beta$ - solujen määrä pienenee. Aktiivissa keliakiassa tulehduksen merkinä on limakalvon HLA-DR-antigeenin 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.

YLEISIÄ OHJEITA

KELIAKIALABORATORION YHTEYSTIEDOT

Asiakasyhteydet:

FK Kaija Laurila

Puhelin: 03- 3551 8401

Faksi: 03- 3551 8402

Sähköposti: 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.

FK Kaija Laurila, puhelin: 03-3551 8401. Sähköposti: kaija.laurila@uta.fi.

Keliakia-HLADQ:

Prof. Markku Mäki/dos. Jukka Partanen, puhelin: 03- 215 8400, 09- 58011.

Latentin keliakian markkeritutkimus:

FK Kaija Laurila, puhelin: 03- 3551 8401

LT Katri Kaukinen, puhelin: 03- 311 611

NÄYTTEIDEN KÄSITTELY JA LÄHETTÄMINEN

Vasta-ainetestit

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

Keliakia-HLADQ- tutkimus

10 ml sitraattiverta tai EDTA-verta. Näytteenottoputket voi valmistaa itse käyttäen 1.5 ml 3.8% steriiliä Na-sitraattia/10 ml verta.

Näyte lähetetään huoneenlämmössä (näyte säilyy 2-3 vrk huoneenlämpötilassa). Näytteen voi myös pakastaa. Pakastettu näyte ei saa sulaa kuljetuksen aikana.

Latentin keliakian markkeritutkimus

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

Lääketieteen laitos
FM3/ Keliakialaboratorio
33014 TAMPEREEN YLIOPISTO

Katuosoite : 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- 215 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 eritasoisia kontrollinäytteitä, joille on asetettu tavoitearvot. Histologisten näytteiden (latentin keliakian markkerit) värjäyssarjoissa on kontrollina mukana tunnettu potilasnäyte.

Laboratoriomme on asiantuntijalaboratoriona Labquality Oy:n keliakiatutkimusten laaduntarkkailuohjelmakierroksilla. Kierroksia on kaksi 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].

Marylandin yliopiston (Baltimore, USA) ja Eurooppalaisten keliakiatutkimusryhmien yhteistyönä käynnistyi 2002 alussa uusi standardoimisprojekti ISCD (International Standardization Celiac Disease), jossa olemme mukana. Projektin avulla pyritään kehittämään luotettava kansainvälinen standardi keliakian vasta-ainetestejä varten.

TUTKIMUKSET

Kliiniseen käyttöön suosittelemme vasta-ainetesteistä Keliakiapaketti- tutkimusta, joka sisältää IgA- ja IgG-luokan gliadiinivasta-ainetestin lisäksi IgA-luokan endomysium- ja kudostransglutaminaasivasta-ainetestit. Hoidon seurantaan kannattaa valita vasta-ainetesti, joka parhaiten primaarivaiheessa mittasi keliakiapotilaan suolinukan vauriota. Vasta-aineet normalisoituvat muutaman kuukauden/ yhden vuoden gluteenivapaan dieettihoidon aikana.

KELIAKIATUTKIMUS

(Sis. gliadiini-, 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

Gliadiinivasta-aineet määritetään ELISA- menetelmällä, jossa antigeenina on kaupallinen alkoholiliukoinen gliadiinifraktio.

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

3-4 kertaa viikossa.

Tulos käytävissä

Noin 7 vrk:n kuluttua.

Vastaustapa/viitearvot

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

Gliadiinivasta-ainetulos ilmoitetaan ELISA- yksiköissä (EU/ml), jotka saadaan siten, että potilasnäytteen antamaa tulosta verrataan positiiviseen referenssinäytteeseen.

Viitearvot

Lapset	S-AGAAbA	S-AGAAbG
normaali	alle 0.20	alle 15.00
matala positiivinen	0.20 - 0.40	15.00 - 30.00
positiivinen	yli 0.40	yli 30.00
Aikuiset		
normaali	alle 0.20	alle 10.00
matala positiivinen	0.20 – 0.30	10.00 - 20.00
positiivinen	yli 0.30	yli 20.00

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

Transglutaminaasivasta-aineet vastataan yksikköinä (U/ml).

Viitearvot:

normaali	alle 20 U
matala positiivinen	20-30 U
positiivinen	yli 30 U

Tulkinta

Gliadiinivasta-aineet

Positiivisen rajaksi on valittu vasta-ainepitoisuus, jonka ylittävä arvo todetaan n. 5%:lla terveistä henkilöistä. Riippuen viitearvojen ylärajan valinnasta testin herkkyys ja spesifisyys keliakialle ja dermatitis herpetiformikselle vaihtelevat eri tutkimuksissa huomattavasti. Lapsilla testin herkkyys keliakialle on parempi kuin aikuisilla.

Koholla oleva gliadiinivasta-ainetulos ei aina merkitse keliakiaa ja useilla keliakiapotilailla gliadiinivasta-ainetestistä voi antaa normaalin tuloksen.

Endomysiumvasta-aineet (IgA)

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-aineet (IgA)

Kudostransglutaminaasivasta-ainetestin tulos korreloi hyvin endomysiumvasta-ainetestin kanssa. Positiivisia IgA- luokan vasta-aineita esiintyy 95%:lla hoitamattomaa 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. Lähetteestä tulisi ilmetä todettu IgA- puutos, jolloin vasta-aineseulonta tehdään monovalentilla anti-IgG antiseerumilla.

S- GLIADIINIVASTA-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 ELISA- menetelmällä käyttäen antigeenina kaupallista gliadiinia.

Suoritetaan

2-3 kertaa viikossa.

Tulos käytävissä

Noin 7 vrk:n kuluttua.

Vastaustapa/viitearvot

Tulos ilmoitetaan ELISA- yksikköinä (EU/ml). Positiivisen rajaksi on valittu vasta-ainepitoisuus, jonka ylittävä arvo todetaan n. 90%:lla keliakikoista, n. 5%:lla terveistä henkilöistä ja 10-30%:lla potilaista, joilla epäillään keliakiaa, mutta joilla suolen limakalvo on terve.

Viitearvot:

Lapset	S-AGAAbA	S-AGAAbG
normaali	alle 0.20	alle 15.00
matala positiivinen	0.20 - 0.40	15.00 - 30.00
positiivinen	yli 0.40	yli 30.00
Aikuiset:		
normaali	alle 0.20	alle 10.00
matala positiivinen	0.20 - 0.30	10.00 - 20.00
positiivinen	yli 0.30	yli 20.00

Tulkinta

Gliadiini on gluteiinien fraktio, jota kohtaan syntyy vasta-aineita keliakiassa ja dermatitis herpetiformiksessa. Gluteenittoman dieetin aikana nämä vasta-aineet vähenevät. Erityisesti IgA- luokan vasta-aineilla ja niiden muutoksilla on merkitystä. Hoitamattomassa keliakiassa IgA- ja IgG- luokan vasta-aineet ovat positiiviset yli 90%:lla sekä lapsi- että aikuispotilaista. IgA- luokan vasta-aineen määrä laskee 3 - 6 kk:n gluteenittoman dieetin jälkeen merkittävästi. Dermatitis herpetiformiksessa IgA- ja IgG- luokan vasta-aineet ovat kohonneet n. 50%:lla potilaista.

Virhelähteet

Muu suolivaurio, atoopikot, maitoproteiini-allergia, 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

4-5 kertaa viikossa.

Tulos käytettävissä

3-7 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 käytävissä

7- 14 vrk kuluttua.

Vastaustapa

Tulos ilmoitetaan yksikköinä (U/ml).

Viitearvot:

S-tTGAbA:

Negatiivinen	alle 20
Matala positiivinen	20- 30
Positiivinen	yli30

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

10 ml sitraattivertaa tai EDTA vertaa. Näytteenottoputket voi valmistaa itse käyttäen 1.5 ml 3.8% steriiliä Na-sitraattia / 10 ml vertaa. Näyte lähetetään huoneenlämmössä (näyte säilyy 2-3 vrk huoneenlämpötilassa). Näytteen voi myös pakastaa. Pakastettu näyte ei saa sulaa kuljetuksen aikana.

Menetelmä

PCR-immunofluorometrinen. Kattaa keliakialle altistavat DQA1*05, DQB1*02 ja DQB1*0302 alleelit.

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 nestetyypellä OCT:n (optimal cutting tissue compound) sisään: Laita tippa OCT:ta alumiinifolion päälle ja jäädytä nopeasti nestetyypessä. Laita biopsiapala (yksi pala yhteen blokkiin) OCT:n päälle villukset ylöspäin, lisää tippa OCT:ta ja jäädytä nestetyypessä. 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 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- 215 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

1-3 kertaa 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 - → +++.

Viitearvot/Tulkinta

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

Löydös	Viitearvo ¹	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 ²	Liittyy aktiiviseen keliakiaan, erityisesti lisääntyminen kryptissa.

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

² kryptissa positiivinen tai epiteelillä +++ liittyneenä soluväli- ja basaalimembraanin positiivisuuteen.

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.

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.

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.

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.

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).