آشنایی با تستهای تخصصی آزمایشگاهی

دکتر میرمجید مصلایی

دکترای علوم آزمایشگاهی

آزمایشگاه پاتوبیولوژی و ژنتیک پارسه

BCR-ABL1، سنجش کمّی (p190) جزئی

تشخیص کمی mRNA BCR-ABL1 با نقطه انفصال (breakpoint) جزئی p190

پیشینه بالینی

- نقطه انفصال t(9;22) (q34;q11) که منجر به هم‌جوشی یا فیوژن BCR-ABL1 p190 می‌گردد، در زیرمجموعه‌ای از موارد لوکمی لنفوبلاستیک حاد (ALL) و به ندرت در بیماران لوکمی میلوئیدی مزمن (CML) دیده می‌شود.
- تشخیص و پیگیری هم‌جوشی BCR-ABL1 p190 توسط PCR کمّی (qPCR)، می‌تواند در تشخیص، ارزیابی پیش‌آگهی و نظارت‌های درمانی در حال انجام مورد استفاده قرار گیرد.
- هم‌جوشیBCR-ABL1 p19 از ترانسلوکاسیون میان اگزون BCR 1 و اگزون ABL1 2 (ela2) ناشی می‌شود. این تست مختص هم‌جوشی‌های BCR-ABL1 p190 است.

موارد سفارش تست

- مورد استفاده اصلی این تست، نظارت بر سطوح mRNA هم‌جوشی BCR-ABL1 در خون کامل بیمارانی است که لوکمی فیلادلفیا مثبت با نقطه انفصال جزئی در آن‌ها تأیید شده است.

تفسیر آزمایش

- نتایج تست به صورت زیر گزارش می‌شود:
  - ✓ مثبت (تعداد نسخه BCR-ABL1 نرمال یا هنجار)
  - ✓ به صورت ضعیفی مثبت، غیرقابل سنجش
  - ✓ تشخیص داده نشده است.

محدودیت‌های تست

- نتایج این تست همیشه باید همراه با داده‌های مورفولوژیک و دیگر اطلاعات مرتبط تفسیر گردد و نباید به تنهایی برای تشخیص بدخیمی مورد استفاده قرار گیرد.
- نمونه‌هایی که بوسیله این تست منفی تشخیص داده می‌شوند ممکن است هنوز سلـــــول‌های BCR-ABL1 مثبت را در سطوح زیر محدوده تشخیص تست، داشته باشند.
- تست BCR-ABL1، mRNA را با نقاط انفصال عمده (e13a2,e14a2;p210) شناسایی نمی‌کند.

مواد و روش‌ها

- کل RNA از خون کامـل استخراج شده و به cDNA یا به عبارت کامل‌تر به (random-primed cDNA) تبدیل می‌شود.
- یک قطعه، نقطه انفصال هم‌جوشی اصلی BCR-ABL1 را پوشش داده و یک قطعه کنترلی نرمال شده درون ABL1 cDNA، به وسیله real-time PCR کمّی تکثیر می‌شود.
- نمودارهای استاندارد در هر ران کاری تولید شده و تعداد نسخه نرمال شده (NCN) /ABL1 BCR-ABL1، محاسبه می‌شود.

مراجع

1. Swerdlow SH, et al. 2008. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon, International Agency for Research, 439. France:

2. Verma D, et al. Chronic myeloid leukemia (CML) with p190 BCR-ABL: analysis of characteristics, outcomes and prognostic significance. Blood 2009;114(11):2232–5.

BCR-ABL1، سنجش کمّی (p210) عمده

تشخیص کمی BCR-ABL1 با نقطه انفصال (breakpoint) عمده p210

پیشینه بالینی

- بیماران لوکمی میلوئیدی مزمن (CML) و زیرمجموعه‌ای از موارد لوکمی لنفوبلاستیک حاد (ALL)، نقطه انفصال t(9;22)(q34;q11) را می‌پرورانند که منجر به هم‌جوشی یا فیـــــوژن انکوژن BCR-ABL1 p210 (کروموزوم فیلادلفیا) می‌گردد.
- برای بیماران CML، نتیجه بالینی درمان با مهار کننده تیروزین کیناز، تا حدود زیادی بهبود یافته است. پیگیری‌های بر پایه PCR کمی (qPCR)، برای ارزیابی نقاط عطف مهم درمان، مانند پاسخ‌های ملکولی اصلی (MMR) ضروری بوده و همچنین برای تشخیص زود هنگام ظهور مقاومت دارویی نیز مفید می‌باشد.

- مقیاس گزارش استاندارد (مقیاس بین‌المللی؛ IS) برای سطوح mRNA، BCR-ABL1 p210 توسعه یافته است که قادر به مقایسه گروه‌های داده‌های سریالی، بدون در نظر گرفتن آزمایشگاه مبدأ یا روش تست qPCR ویژه می‌باشد.
- تقریباً تمامی بیماران CML و زیرمجموعه‌ای از بیماران مبتلا به ALL با کروموزوم فیلادلفیا، هم‌جوشی p210 BCR-ABL1 را نشان می‌دهند که از ترانسلوکاسیون میان اگزون‌های 13 یا 14 BCR و اگزون 2 ABL1 (e13a2, e14a2) ناشی می‌شـود. این تست برای BCR-ABL1 mRNA با نقطه انفصال اصلی ویژه بوده که منجر به شکل p210 می‌گردد.

موارد سفارش تست

- مورد استفاده اصلی این تست، نظارت بر سطوح mRNA هم‌جوشی BCR-ABL1 در خون کامل بیماران ALL و CML با نقطه انفصال اصلی تأیید شده لوکمی فیلادلفیا مثبت، است.

تفسیر آزمایش

- نتایج تست به صورت زیر گزارش می‌شود:
  - ✓ شناسایی شده است (درصد بر مقیاس بین‌المللی)
  - ✓ به صورت ضعیفی مثبت، غیرقابل سنجش (محدودیت سنجش، 0.0069 درصد IS است.)
  - ✓ غیر قابل تشخیص
- گزارش مقیاس بین‌المللی (IS)
  - ✓ IS 100درصد، به عنوان پایه جهانی قابل کاربرد برای تمامی بیماران تعیین شده است.
  - ✓ کاهش A3log (0/1 درصد) به عنوان پاسخ عمده ملکولی (MMR) مورد توجه قرار می‌گیرد.
  - ✓ رسیدن به MMR بوسیله 18 ماه درمان با نتیجه بهتری در ارتباط است.

محدودیت‌های تست

- نتایج این تست همیشه باید همراه با داده‌های مورفولوژیک و دیگر اطلاعات مرتبط تفسیر گردد و نباید به تنهایی برای تشخیص بدخیمی مورد استفاده قرار گیرد.
- نمونه‌هایی که بوسیله این تست منفی تشخیص داده می‌شوند ممکن است هنوز ســـــــلول‌های BCR-ABL1 مثبت را در سطوح زیر محدوده تشخیص تست، داشته باشند.
- این تست mRNA BCR-ABL1 را با نقاط انفصال جزئی (ela2;p190) شناسایی نمی‌کند.

مواد و روش‌ها

- کل RNA از نمونه خون کامل اسـتخراج شده و آن را به cDNA یا به عبارت بهتر (random-primed cDNA) تصادفی تبدیل می‌کند.
- یک قطعه، نقطه انفصال هم‌جوشی اصلی BCR-ABL1 را پوشش داده و یک قطعه کنترلی نرمال شده درون ABL1 cDNA، به وسیله real-time PCR کمّی تقویت می‌شود.
- نمودارهای استاندارد در هر ران کاری تولید شده و تعداد نسخه نرمال شده (NCN) /ABL1 BCR-ABL1، محاسبه می‌شود.
- هر ران یا اجرای کاری شامل محلول‌های QC کالیبره شده توسط IS می‌شود که به داده‌های بیماران اجازه می‌دهد تا به صورت مؤثر و دقیقی بر روی IS بیان شود.

رفرانس‌ها

cytarabine for newly diagnosed chronic- 1. O'Brien SG, et al. Imatinib compared with interferon and lowdose myeloid leukemia. N Engl J Med 2003;348(11):994–1004. chronic phase

myeloid leukemia patients resistant to 2. Jabbour E, et al. Choosing the best treatment strategy for chronic and patient history. efficacy and safety of individual drugs with BCR-ABL mutations imatinib: weighing the Leukemia 2010;24(1):6–12.

tyrosine kinase inhibitor therapy in CML. 3. Hughes TP and Branford S. Monitoring disease response to Hematol Educ Program 2009:477–87. Am Soc Hematology

optimally predicts a kinase domain mutation in 4. Press RD, et al. Determining the rise in BCR-ABL RNA that 605. chronic myeloid leukemia on imatinib. Blood 2009;114(13):2598– with patients

CML therapy in Europe. Leukemia 5. Müller MC, et al. Harmonization of molecular monitoring of 2009;23(11):1957–63

آزمایش اتو آنتی‌بادی آکواپورین-4

(Aquaporin-4 Autoantibody Testing) Or NMO

برای تایید و نظارت و پیگیری اتو آنتی‌بادی‌ها در بیماران مبتلا به التهاب اعصاب نخاع شوکی بصری (Neuromyelitis Optica)

پیشینه بیماری

- ایمونوگلوبولین IgG ویژه NMO، پروتئین کانال آبی آکواپورین-4 (AQP-4) را شناسایی می‌کند. هر دو نامگذاری NMO-IgG و AQP-4 برای اشاره به اتو آنتی‌بادی‌هایی به کار می‌روند که در تشخیص افتراقی NMO از دیگر بیماری‌های التهاب طناب نخاعی عرضی (transversemyelitis diseases) اهمیت دارند.

مروری بر بیماری

- طیف ناهنجاری‌های التهاب طناب نخاعی عرضی (TM) شامل NMO، اسکلروزیس چندگانه (MS)، ضایعات گسترده طولی نخاعی، التهاب طناب نخاعی عرضی (LESCL/LETM)، MS نخاعی بینایی (OSMS)، آنسفالومیلیت منتشر (ADEM)، TM کامل حاد (ACTM)، و TM جزئی حاد (APTM) می‌شوند.
- این ناهنجاری‌ها، توسط دوره بالینی (تک‌فازی یا عود)، وجود یا گسترش ضایعاتی که در MRI مغز یا نخاع مشاهده می‌شوند، همراه با التهاب عصب بینایی یا نوریت بینایی، و وجود اتو آنتی‌بادیهای آکواپورین-4 متمایز می‌شوند.
- تمایز قطعی میان این بیماری‌ها مشکل است، زیرا همگی با علایم مشابه درد، کاهش میدان دید، ضعف عضلانی و نقص عملکرد روده‌ها و مثانه همراه هستند.
- NMO را معمولا با MS اشتباه می‌گیرند، با این حال، تمایز میان این دو بیماری بسیار حائز اهمیت است زیرا بیماران NMO پیش‌آگهی بدتری داشته و درمان‌های توصیه شده برای این ناهنجاری‌ها متفاوت است. درمان NMO معمولا شامل درمان‌های سرکوب‌گر سیستم ایمنی یا پلاسمافرز می‌شود در حالی که درمان بیماران MS شامل درمان‌های تعدیل سیستم ایمنی (immune modulation therapy)، با استفاده از کورتیکواستروئیدهایی است که تنها در طول دوره وخیم شدن التهاب، تجویز می‌شوند.
- معیارهای مورد نیاز برای تشخیص NMO شامل نوریت بینایی و میلیت حاد و همچنین معیارهای پشتیبانی کننده مهم مانند MRI منفی مغز و ضایعات گسترده طولی نخاعی که در طول 3 یا تعداد بیشتری از بخش‌های ستون فقرات گسترده شده است با حضور لوکوسیتوز در CSF (50WBC/mm یا بیشتر)، می‌شود.

مطالعه درباره شیوع بیماری

- در ارتباط با ضریب نفوذ و شیوع NMO، اطلاعات کافی در دسترس نیست.
- شیوع ATM حدود 1 تا 4 در میان 100 هزار نفر گزارش شده است؛ که کمتر از 1٪ آن با تشخیص NMO معرفی می‌شوند.
- اثرات NMO مونوفازیک در هر 2 جنس مشابه است با این حال نسبت زن به مرد برای عود NMO ، 5 به 1 گزارش شده است.

موارد درخواست آزمایش

- تایید تشخیص التهاب اعصاب نخاعی شوکی بصری NMO
- ارزیابی و پیش آگهی پیشرفت بیماری

تفسیر آزمایش

- وجود آنتی‌بادیهای آکواپورین-4 باید در ارتباط با معیارهای تشخیصی پیشنهادی برای NMO مورد استفاده قرار گیرد. نتیجه مثبت آنتی‌بادی آکواپورین-4 نباید به عنوان تنها معیار تشخیصی NMO در نظر گرفته شود.

محدودیت های تست

- حساسیت 71٪ و ویژگی 98٪ برای شناسایی آنتی‌بادی آکواپورین-4 توسط تست الایزا گزارش شده است.
- حساسیت و ویژگی برای تشخیص NMO-IgG به وسیله تکنیک IFA یا فلئورسانس غیرمستقیم، به ترتیب 73٪ و 91٪ گزارش شده است.
- تطابق نسبتا ضعیف 62٪ در میان روشهای تشخیصی الایزا و IFA برای بیماران مبتلا به NMO مشاهده شده است.

رفرانس ها

1. Wingerchuk DM. Neuromyelitis optica. Int MS J 2006;13:42–50.
2. Wingerchuk DM, et al. The clinical course of neuromyelitis optica (Devic’s syndrome). *Neurology* 1999;53:1107–14.
3. Pandit L. Transverse myelitis spectrum disorders. *Neurol India* 2009;57:126–33.
4. Jacob A, et al. Neuromyelitis optica: changing concepts. *J Neuroimmunol* 2007;187:126–38.
5. Hayakawa S, et al. Neuromyelitis optica and anti-aquaporin-4 antibodies measured by an enzyme linked immunosorbant assay. *J Neuroimmunol* 2008;196:181–7.
6. Lennon VA, et al. A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. *Lancet* 2004;64:2106–12.

آنتی‌بادی C1q IgG

برای کمک به تشخیص بیماران در خطر توسعه نفریت لوپوس

پیشینه بالینی

- بیماران مبتلا به لوپوس اریتماتوز سیستمیک (SLE) اغلب دچار مشکلات کلیوی هستند.
- اتوآنتی‌بادی‌های ضد-C1q با گلومرولونفریت فعال در بیماران مبتلا به SLE مرتبط هستند.
- سطوح اتوآنتی‌بادی‌های ضد-C1q می‌تواند در خلال التهاب کلیوی افزایش یابد.
- بیماران SLE با اتوآنتی‌بادی‌های ضد-C1q، در ریسک بالاتری برای توسعه تظاهرات بالینی شدیدتر بیماری قرار دارند.

موارد درخواست آزمایش

- بیماران SLE که در خطر توسعه نفریت لوپوس هستند.
- برای ارزیابی فعالیت سراسری بیماری SLE

تفسیر آزمایش

- 0-19 واحد: منفی
- 20-39 واحد: مبهم
- 40 واحد یا بیشتر: مثبت
- وجود اتوآنتی‌بادی‌های ضد-C1q می‌تواند با افزایش ریسک نفریت لوپوس و یا تغییر در فعالیت سراسری SLE مرتبط باشد.
- اتوآنتی‌بادی‌های ضد-C1q برای SLE اختصاصی نیستند؛ وجود این آنتی‌بادی‌ها نباید به عنوان تنها شاخص هر حالت بالینی (مثل نفریت لوپوس) تلقی شود، اما بیشتر باید در ارتباط با علائم بالینی نفریت SLE یا بدتر شدن حالت کلی مورد توجه قرار بگیرد.

محدودیت‌های تست

- تمامی بیماران SLE با نفریت لوپوس برای اتوآنتی‌بادی‌های ضد-C1q مثبت نیستند.
- ویژگی‌های عملکردی این آزمایش برای نمونه‌های غیر از سرم، تثبیت نشده‌اند.

مواد و روش‌ها

- آزمون جذب ایمنی مرتبط با آنزیم (ELISA)

آزمایشات مرتبط

- آنتی‌بادی DNA دو رشته‌ای، IgG توسط الایزا در بازتاب به آنتی‌بادی DNA دو رشته‌ای، IgG توسط IFA
- آنتی‌بادی DNA دو رشته‌ای، IgG توسط IFA

- آنتی‌بادی DNA دو رشته‌ای با تمایل بالا (HA dsDNA)، IgG
- آنتی‌بادی کروماتین، IgG
- آنتی‌بادی اسمیت، IgG
- آنتی‌بادی‌های ضد هسته (ANA)، IgG توسط الایزا در بازتاب به ANA، IgG توسط IFA
- آنتی‌بادی‌های ضد هسته (ANA)، IgG توسط الایزا در بازتاب به ANA، IgG توسط IFA و آنتی‌بادی‌های dsDNA، RNP، Smith، SSA، SSB و IgG
- آنتی‌بادی‌های هسته‌ای (ANA)، توسط IFA، IgG

منابع

in patients with lupus nephritis: a meta-analysis. 1. Yin Y, et al. Diagnostic value of serum anti-C1q antibodies 2012;21(10):1088–1097. *Lupus*.

systemic lupus erythematosus global activity but 2. Katsumata Y, et al. Anti-C1q antibodies are associated with *Arthritis Rheum*. 2011;63:2436– with nephritis: a controlled study of 126 consecutive patients. not specifically 2444.

hepatitis C infection. *Clin Exp Rheumatol*. 2006;24(2):183–185. 3. Lienesch DW, et al. Anti-C1q antibodies in patients with chronic