

Granulocyt funktionsundersökningarGäller för
Klinisk immunologi och transfusionsmedicin LU

Klinisk immunologi, Cellulär immunologi och cytokiner

Granulocyt funktionsundersökningar (Oxidativ burst och CD18)

Indikation/medicinsk information

Misstanke om nedsatt granulocytfunktion hos patienter med återkommande infektioner och/eller misstänkt immundefekt.

Nedsatt förmåga hos fagocyter (granulocyter och monocyter) att producera syreradikaler (oxidativ burst) eller fagocytera kan ses vid kronisk autoimmuna sjukdomar, AIDS, hög ålder eller i samband med svåra infektioner.

Patienter med kronisk granulomatös sjukdom (CGD) har mycket låga nivåer eller inte mätbara nivåer av syreradikaler i fagocyter. Kronisk granulomatös sjukdom är en sällsynt sjukdom (prevalens ca 1/250 000) som ger symtom inom de första levnadsåren i form av allvarliga infektioner orsakade av t.ex S. aureus, Burkholderia cepacia, Serratia marcescens, Nocardia och Aspergillus. Sjukdomen är genetisk betingad och vilket leder till utebliven produktion av H₂O₂, som krävs för intracellulärt avdödande av fagocyterade bakterier. Mutationer i olika gener som kodar för proteiner i NADPH-oxidaset kan ge upphov till sjukdomen. Defekten är X-bunden i ca 60% av fallen, och i de övriga är ärftlighetsgången autosomalt recessiv. Vid X-bundet bärarskap av mutation kan kvinnor uppvisa två subpopulationer av granulocyter där den ena populationen har nedsatt oxidativ burst medan den andra har normal oxidativ burst. Diagnos bekräftas med genetisk analys.

Nedsatt oxidativ burst kan ses också vid genetiska sjukdomar som myeloperoxidase-brist (MPO-brist) och svår glucose- 6-phosphate dihydrogenase-brist (G6PD-brist). Vid MPO-brist finns det låga nivåer eller nedsatt funktion av enzymet myeloperoxidase som utför bildandet av hypoklorit (HOCl) nedströms om NADPH-oxidaset. MPO-brist kan ge ökad risk för Candida infektioner, men brukar inte associeras med allvarliga infektioner om inte andra sjukdomar finns som diabetes mellitus eller immunbristsjukdomar. Många genetiska mutationer i genen G6PD har påvisats vilket resulterar i glucose- 6-phosphate dihydrogenase-brist (G6PD-brist). Vid G6PD-brist har patienter låga nivåer av enzymet som deltar i bildandet av NADPH, vilket orsakar hemolytisk anemi och vid svår brist kan enzymbristen i granulocyter medföra symptombild som vid mild CGD.

Vid Leukocyte adhesion deficiency-1 (LAD1) föreligger abnorm syntes av proteinet CD18. CD18 är en delkomponent i olika receptorkomplex på leukocyter och uttrycks på bland annat monocyter, makrofager, granulocyter, NK-celler och vissa lymfocyter. CD18 uttrycks i kombination med CD11a, CD11b och CD11c på leukocyternas yta och dessa molekylkomplex kallas också integriner. CD18 associerad till CD11a betecknas LFA-1 (förkortning av "leukocyte function associated antigen-1") och är en receptor för adhesionsmolekylerna ICAM-1 och ICAM-2. CD18 i komplex med CD11b har funktion som receptor för fragment av komplement proteinet C3 och betecknas därför också komplementreceptor 3 (CR3). CD18 i komplex med CD11c bildar en liknande struktur, komplementreceptor4/CR4.

Ärftlighetsgången för CD18-brist är autosomalt recessiv och genen finns på kromosom 21. Detta innebär att heterozygoter för bristen inte uppvisar symptom. Patienterna med LAD1 har leukocyter som uppvisar nedsatt cellmobilitet, adhesion och fagocytos. Symtomen omfattas bland annat av svårläkta hudinfektioner, parodontit, intestinala fistlar, sepsis och dessutom

Anvisning

Granulocyt funktionsundersökningarGäller för
Klinisk immunologi och transfusionsmedicin LU

Klinisk immunologi, Cellulär immunologi och cytokiner

massiv leukocytos. Antalet adhesionsmolekyler på leukocyter varierar från <0,1% till ca 10% av det normala, och därmed varierar också sjukdomens svårighetsgrad.

Metod

Oxidativ burst är ett kvantitativt flödescytometriskt test (FagoFlowEx) som mäter granulocyters förmåga att producera syreradikaler efter stimulering med E.coli-bakterier. När granulocyterna fagocyterar E.coli aktiveras NADPH-oxidase till produktion av syreradikalintermediärer och bildning av hypokloritjoner som oxiderar dihydrorhodamine 123 till fluorescerande rhodamine 123 vilket detekteras av flödescytometer. Förmågan till oxidativ burst mäts i enheten stimuleringsindex (SI) och procentandelen granulocyter som genomgår oxidativ burst anges.

Fagoflows stimuleringsindex (SI) är MFI-kvoten mellan MFI för positiva granulocyter som är stimulerade med E. coli och MFI för negativa granulocyter i det ostimulerade provet.

CD18-uttryck på granulocyter mäts med flödescytometri och anges i enheten MFI (medel fluorescens intensitet)

Referensintervall

Oxidativ burst (granulocyter E.coli)

SI: 13,6-50,3

Andel aktiverade: 99,25-99,9 %

CD18-uttryck på granulocyter

MFI: 2,0-5,8

Referensintervallet för Oxidativ burst baseras på analys av 20 st friska vuxna individer under 2022. Referensområdet anges som värden mellan 2,5 till 97,5 percentilen.

Referensintervallet för CD18 är baserat på analys av blodgivare (10 st), senast verifierat 2017

Referenser

1. [Roos D, de Boer M](#). Molecular diagnosis of chronic granulomatous disease. [Clin Exp Immunol](#). 2014 Feb;175(2):139-49.
2. Yu HH, Yang YH, Chiang BL. Chronic Granulomatous Disease: a Comprehensive Review. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology* (2021) 61:101–113. <https://doi.org/10.1007/s12016-020-08800-x>
3. Jeraiby M, Sidi Yahya K, Depince-Berger AE, Lambert C: Microbicidal activity measured by flow cytometry: Optimization and standardization for detection of primary and functional deficiencies. *J Immunol Methods*. 2016 Sep 29. doi:10.1016/j.jim.2016.09.010
4. Klebanoff SJ, Kettle AJ, Rosen H, Winterbourn CC, Nauseef WM. Myeloperoxidase: a front-line defender against phagocytosed microorganisms. *J Leukoc Biol*. 2013 Feb;93(2):185-98. doi: 10.1189/jlb.0712349.
5. [Harris ES](#)¹, [Weyrich AS](#), [Zimmerman GA](#). Lessons from rare maladies: leukocyte adhesion deficiency syndromes. [Curr Opin Hematol](#). 2013 Jan;20(1):16-25. doi: 10.1097/MOH.0b013e32835a0091.