

## Primena ID mikrogel kartica u detekciji IgA deficijencije kod pacijenata sa tumorima gastrointestinalnog trakta

Vesna Libek<sup>1</sup>, Ljiljana Sofronić Milosavljević<sup>2</sup>, Kulić<sup>1</sup>, Andrijana Ana Strugar<sup>1</sup>, Ivana Simić<sup>1</sup>, Jelena Đurđević<sup>1</sup>, Ivana Gojković<sup>1</sup>, Milena Milićević<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Služba za transfuziju krvi KBC Zemun, Beograd

<sup>2</sup>Institut za primenu nuklearne energije INEP, Beograd

### Apstrakt

Selektivna deficijencija imunoglobulina A (IgAD) predstavlja najčešću formu primarne imunodeficijencije, a definiše se odsustvom ili izraženo sniženim nivoom IgA u serumu (<7mg/dL), uz normalne vrednosti nivoa imunoglobulina G i M. Etiopatogeneza IgAD kao i njena genetsko-molekularna osnova je od posebnog značaja usled udruženosti ovog stanja sa epitelijalnim malignitetima, najpre respiratornog i digestivnog trakta. Ove studije bio je da se ispita postojanje IgAD među pacijentima sa dijagnostikovanim tumorima gastrointestinalnog trakta, kao i da se utvrdi potencijalna povezanost IgAD sa određenim tipom neoplazme. Ispitivanje je obuhvatilo 60 pacijenata oba pola sa potvrđenim malignitetom gastrointestinalnog trakta različitog tipa. Kod svih bolesnika kvalitativno je ispitivan nivo serumskog IgA i anti-IgA antitela, primenom ID mikrogel kartica (Particle Gel Immuno-Assay metoda). Koncentracija IgA u serumu je i kvantitativno određivana za svaki uzorak u referentnoj laboratoriji. Primenom kvalitativne metode ID mikrogel kartica ni u jednom od 60 uzoraka nije indentifikovan snižen nivo IgA, odnosno prisustvo anti-IgA antitela, što je i potvrđeno kvantitativnim laboratorijskim ispitivanjem. Studija je pokazala da ne postoji značajna udruženost IgA deficijencije i maligniteta gastrointestinalnog trakta, što je u saglasnosti sa dosadašnjim literaturnim podacima. Mnogobrojnim ispitivanjima registrovani su samo sporadični slučajevi karcinoma kod ovih pacijenata, zbog čega je potrebno sprovesti istraživanje na većoj populaciji bolesnika. Takođe, detaljna spoznaja genetsko-molekularnog mehanizma IgAD bi umnogome pomogla u shvatanju onkogenog uticaja ovog stanja.

**Ključne reči:** IgA deficijencija, maligniteti gastrointestinalnog trakta, ID mikrogel kartica.

## ID microgel cards in detection of IgA deficiency in patients with gastrointestinal tumors

Vesna Libek<sup>1</sup>, Ljiljana Sofronić Milosavljević<sup>2</sup>, Andrijana Kulić<sup>1</sup>, Ana Strugar<sup>1</sup>, Ivana Simić<sup>1</sup>, Jelena Djurdjević<sup>1</sup>, Ivana Gojković<sup>1</sup>, Milena Milicević<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Blood Transfusion CHC Zemun, Serbia

<sup>2</sup>Institute for Application of Nuclear Energy INEP, Belgrade, Serbia

### Abstract

Immunoglobulin A deficiency (IgAD) is the most common form of primary immunodeficiency. IgAD is characterized by absence or very low level of serum IgA (<0.7 mg/dL) and normal serum ranges of IgG and IgM. Pathogenesis of IgAD and its molecular and genetic basis is important, knowing that this immunodeficiency is related with epithelial malignancies such as respiratory and gastrointestinal tumors. Aim of this study was to investigate IgAD in patients with gastrointestinal malignancies, as well as to determine potential relation between IgAD and certain type of tumor. The research included 60 patients with confirmed gastrointestinal tumors of various types. For every patient qualitatively were tested levels of serum IgA and anti IgA antibodies, using ID microgel cards (Particle Gel Immuno Assay methods). Levels of serum IgA were also quantitatively tested in reference laboratory. Using Particle Gel Immunoassay method, there was no evidence for decrease of serum IgA or presence of anti-IgA antibodies in our group of patients. This result was confirmed with quantitative laboratory investigation. This study shows no significant relation between IgAD and gastrointestinal tumors, which is in accordance with actual literature. There have only been registered sporadic cases of carcinoma in these patients, which implies that the research should include a larger number of patients. Also, more detail cognition of molecular and genetic mechanism of IgAD would help in understanding oncogenic effect of this immunodeficiency.

**Key words:** IgA deficiency, gastrointestinal tumors, ID microgel cards.

## Uvod

Selektivna deficijencija imunoglobulina A (IgAD) predstavlja najčešću formu primarne imunodeficijencije, sa promenljivom učestalosti u zdravoj populaciji od 1:18.500 do 1:163<sup>1-3</sup>. Definiše se odsustvom ili izraženo sniženim nivoom IgA u serumu (<7 mg/dL), uz normalne vrednosti nivoa imunoglobulina G i M<sup>4</sup>. Osobe sa selektivnom IgA deficijencijom mogu da budu asimptomatični nosioci ili predisponirani za rekurentne infekcije, najčešće sinopulmonalnog i gastrointestinalnog sistema. IgA deficijencija može biti udružena i sa atopijom, astmom, kao i autoimunim poremećajima<sup>5,6</sup>.

Patogeneza IgA deficijencije leži u nemogućnosti B limfocita da maturiraju do stupnja IgA produkujuće plazma ćelije, dok je sam uzrok ovog poremećaja za sada nedovoljno definisan. Pojedine studije upućuju na familijarnu pojavu, kako autozomalno dominantnog, tako i recesivnog tipa. Opisani su sporadični slučajevi, kao i slučajevi IgA deficijencije koja je kasnije progredirala u običnu varijabilnu imunodeficijenciju (OVID). Uočena je česta pojava IgAD i OVID u okviru istih porodica, što bi moglo da ukaže na zajedničko poreklo ova dva stanja. Daljim genetskim ispitivanjem porodičnih slučajeva imunodeficijencija, ustanovljeno je prisustvo osetljivih lokusa na hromozomu 6, u okviru MHC lokusa I, II i III<sup>7</sup>. Takođe, dokazano je da mutacija na TACI genu na hromozomu 17, koji kodira za TACI receptor na B limfocitima odgovoran za njihovu maturaciju, postoji u 10-15% slučajeva OVID i u oko 5% bolesnika sa IgAD<sup>8</sup>. Uloga etiopatogeneze IgAD, kao i OVID, kao i njihova genetsko-molekularna osnova je od posebnog značaja usled sumnje na udruženost ovih stanja sa epitelijalnim malignitetima, najpre respiratornog i digestivnog trakta<sup>9</sup>. Poznato je i da kod nekih pacijenata sa IgAD može doći do razvoja anafilaktičke reakcije nakon transfuzije krvnih produkata koji sadrže IgA<sup>2,10</sup>. Stoga su dizajnirana brojna laboratorijska ispitivanja koja bi brzo i tačno odredila nivo IgA, a samim tim i mogućnost postojanja IgAD<sup>(11)</sup>. Test pasivne hemaglutinacije je tehnički zahtevan i nepraktičan za brz laboratorijski rad. Slično je i sa enzim-vezanim imunološkim testom (ELISA), koji nije pristupačan u rutinskim laboratorijama. Iz tog razloga, razvijen je test ID mikrogel karticama (particle gel immuno assay- PaGIA) za brzu detekciju IgA, kao i IgA antitela<sup>12</sup>.

Cilj ove studije bio je da se upotrebom ID mikrogel kartica testa ispita postojanje IgAD među pacijentima sa dijagnostikovanim malignitetima gastrointestinalnog trakta, kao i da se utvrdi potencijalna povezanost IgAD sa određenim tipom maligniteta.

## Materijal i metode

Ispitivanje je obuhvatilo 60 pacijenata oba pola sa dijagnostikovanim malignitetom gastrointestinalnog trakta. Najčešći tip maligniteta je bio karcinom debelog creva (40, 66.7%), zatim karcinom ezofagusa (8, 13.3%), maligniteti pankreasa (6, 10%), želuca (5, 8.3%), kao i jedan slučaj limfoma (1.7%) (Tabela 1).

Tip tumora	Zastupljenost
Tu Kolona	66.7 %
Tu Ezofagusa	13.3 %
Tu Pankreasa	10 %
Tu Želuca	8.3 %
Limfomi	1.7 %

**Tabela 1.** Zastupljenost tipova tumora gastrointestinalnog trakta u ispitivanom uzorku

Kod svih bolesnika kvalitativno je ispitivan nivo serumskog IgA i IgA antiteila, primenom ID mikrogel kartica (Particle Gel Immuno-Assay metoda). Osnovu mikrogel kartica čine obojene polistirenske granule obložene anti humanim IgA koje se inkubiraju sa plazmom pacijenta (5 min), a potom centrifugiraju (10 min). Princip testa zasniva se na aglutinaciji IgA i prisutnog anti humanog IgA u gelu, a na IgA deficijenciju bi upućivala koncentracija IgA manja od 0.5 mg/mL. U slučaju testa detekcije IgA antiteila, u gelu su prisutne granule obložene IgA, dok bi aglutinacija predstavljala prisustvo IgA antiteila u serumu, odnosno pozitivan test na IgA deficijenciju. Koncentracija IgA u serumu je i kvantitavno određivana za svaki uzorak u referentnoj laboratoriji Instituta za primenu nuklearne energije (INEP), upotrebom radioimuno-difuzione metode (RID).

### Rezultati

Primenom kvalitativne metode ID mikrogel kartica na uzorku od 60 pacijenata sa malignitetom gastrointestinalnog trakta, ni u jednom od seruma bolesnika nije identifikovan snižen nivo IgA, odnosno prisustvo anti IgA antiteila, koji bi ukazivali na IgA deficijenciju (Slika 1).



**Slika 1.** ID mikrogel kartica u detekciji IgA deficijencije

Takođe, kako su rezultati kvantitativnog ispitivanja na RID pločama svih uzoraka bili negativni ( $>0.7$  mg/dL), potvrđeno je da u našem uzorku pacijenata obolelih od maligniteta gastrointestinalnog trakta, nije bilo slučajeva sa selektivnom IgA deficijencijom (Tabela 2).

Broj seruma	Koncentracija IgA (g/L)	Broj seruma	Koncentracija IgA (g/L)
1	3.46	31	2.61
2	2.536	32	1.094
3	2.536	33	1.334
4	1.034	34	3.108
5	2.536	35	1.212
6	2.452	36	2.148
7	1.588	37	2.298
8	2.148	38	1.588
9	3.372	39	1.656
10	2.298	40	1.094
11	1.722	41	2.298
12	4.02	42	1.094
13	2.536	43	2.298
14	1.86	44	1.396
15	1.334	45	5.577
16	2.452	46	3.108
17	3.552	47	3.194
18	3.83	48	1.396
19	1.93	49	1.396
20	3.372	50	1.722
21	3.022	51	1.588
22	3.108	52	1.656
23	1.272	53	2.61
24	1.152	54	3.108
25	2.536	55	3.282
26	4.116	56	3.552
27	4.615	57	2.536
28	2.222	58	1.93
29	1.93	59	3.736
30	2.69	60	4.116

**Tabela 2.** Koncentracije imunoglobulina A (IgA) u uzorcima ispitivanih seruma

## Diskusija

Naša studija je pokazala da u odnosu na opštu populaciju, ne postoji češća udruženost IgA deficijencije i maligniteta gastrointestinalnog trakta. Međutim, u toku 20-godišnje finske prospektivne studije u kojoj su praćeni pacijenti sa IgAD, zabeležena su dva slučaja pojave maligniteta kod ovih bolesnika, testikularni karcinom i karcinom jetre<sup>13</sup>. Druga značajna studija pokazuje nešto višu frekvenciju IgAD u odnosu na druge medicinske centre u SAD, kod pacijenata Njujorškog onkološkog centra i to posebno u grupi pacijenata sa gastrointestinalnim i limfoproliferativnim tumorima<sup>14</sup>. Ipak, ovo ispitivanje je obuhvatilo samo mali broj bolesnika sa IgA deficijencijom, koja bi mogla biti uzrokovana i samim neoplastičnim procesom ili njegovim lečenjem. Novija kombinovana danska i švedska studija, takođe nije obezbedila dokaze o uticaju OVID i IgAD na razvoj različitih tipova tumora. Kod ovih pacijenata zapaženo je samo sporadično javljanje tumora gastrointestinalnog trakta i limfoma, iako bez statističke značajnosti. Takođe, nije dokazana veća učestalost pojave ovih maligniteta ni kod rođaka obolelih od OVID, odnosno IgAD<sup>15</sup>. Značajan literaturni doprinos donela je grupa švedskih autora koja se bavila merenjem lokalne sekrecije IgA kod pacijenata sa gastričnim karcinomom. Naime, iako su vrednosti nivoa serumskog IgA bile u granicama referentnih vrednosti, kod ovih pacijenata dokazan je značajno snižen nivo lokalne IgA produkcije u stomaku<sup>16</sup>.

Ipak, moguće je zaključiti da je test ID mikrogel karticama pouzdan, brz i jednostavan za laboratorijsku primenu. Kao što je pokazano u relevantnoj literaturi, i ova studija upućuje da bi eventualno utvrđivanje IgAD kod pacijenata sa neoplazmama gastrointestinalnog trakta zahtevalo studiju na većem broju ispitanika.

## Literatura

1. Clark JA, Callicot PA, Brenner NA, Bradley CA, Smith DM Jr. Selective IgA deficiency in blood donors. *Am J Clin Pathol.* 1983;80(2):210-3.
2. Sandler SG, Eckrich R, Malamut D, Mallory D. Hemagglutination assays for the diagnosis and prevention of IgA anaphylactic transfusion reactions. *Blood.* 1994;15;84(6):2031-5.
3. Sanz C, Freire C, Ordinas A, Pereira A. An enzyme-linked immunosorbent assay applicable to screen blood donors for IgA deficiency. *Haematologica.* 1999;84(10):887-90.
4. IgA Deficiency: Immunodeficiency Disorders: Merck Manual Professional. Retrieved 2008-03-01
5. Burrows PD, Cooper MD. IgA deficiency. *Adv Immunol.* 1997;65:245-76.
6. Cunningham-Rundles C. Physiology of IgA and IgA deficiency. *J Clin Immunol.* 2001 Sep;21(5):303-9.
7. Schroeder HW Jr, Schroeder HW 3rd, Sheikh SM. The complex genetics of common variable immunodeficiency. *J Investig Med.* 2004;52(2):90-103.
8. Castigli E, Geha RS. Molecular basis of common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;117(4):740-6.
9. Mueller BU and Pizzo PA: Cancer in children with primary or secondary immunodeficiencies. *J Pediatr* 126:1-10, 1996.
10. Sandler SG, Mallory D, Malamut D, Eckrich R. IgA anaphylactic transfusion reactions. *Transfus Med Rev.* 1995;9(1):1-8.
11. Salama A, Temmesfeld B, Hippenstiel S, Kalus U, Suttrop N, Kiesewetter H. A new strategy for the prevention of IgA anaphylactic transfusion reactions. *Transfusion.* 2004;44(4):509-11.
12. Ahrens N, Bombard S, Pan Q, Hammarstrom L, Kiesewetter H, Salama A. A particle gel immuno-assay (PaGIA) for detection IgA and antibodies to IgA. Cherite Campus Virchow-Klinikum.
13. Koskinen S. Long-term follow-up of health in blood donors with primary selective IgA deficiency. *J Clin Immunol.* 1996;16(3):165-70.
14. Cunningham-Rundles C, Pudifin DJ, Armstrong D, Good RA. Selective IgA deficiency and neoplasia. *Vox Sang.* 1980;38(2):61-7.
15. Mellekjaer L, Hammarstrom L, Andersen V, Yuen J, Heilmann C, Barington T, Bjorkander J, Olsen JH. Cancer risk among patients with IgA deficiency or common variable immunodeficiency and their relatives: a combined Danish and Swedish study. *Clin Exp Immunol.* 2002;130(3):495-500.

- 
16. Quiding-Järbrink M, Sundström P, Lundgren A, Hansson M, Bäckström M, Johansson C, Enarsson K, Hermansson M, Johnsson E, Svennerholm AM. Decreased IgA antibody production in the stomach of gastric adenocarcinoma patients. Clin Immunol. 2009;131(3):463-71.

Autor za korespondenciju:  
dr Ivana Simić,  
Služba za transfuziju krvi, KBC Zemun,  
Beograd, Vukova 9. Tel: 3772601  
e-mail: transfuzija.kbczemun@gmail.com