

الفحوصات المخبرية للأخطاء المناعية الخلقية

Laboratory Investigation of Inborn Errors of Immunity

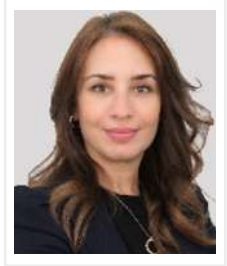
ملخص

لقد أسهم التحقيق المخبري في الأخطاء المناعية الخلقية (IEI) بشكل كبير في تعزيز قدرتنا على كشف هذه الأعواز في مراحل مبكرة وبدرجة أعلى من الدقة، مما أدى إلى علاجات أكثر فعالية وتحسن في مآل المرضى. تشكل الفحوصات الأولية، مثل تعداد الدم الكامل، وقياس مستويات الغلوبولينات المناعية، والاختبارات المصلية بعد التلقيح، أدوات أساسية للتقييم الأولي. وقد تشمل الفحوصات الأولية الإضافية، حسب السياق السريري، قياس IgE، ودراسة مكونات المتممة (C3، C4، CH50، AP50)، بالإضافة إلى الاختبارات الوظيفية مثل اختبار زرقة التترازوليوم (NBT) أو اختبار ثنائي هيدرو الرودامين (DHR)، والتي تُساعد على كشف أعواز مناعية محددة. ومن المهم التأكيد على أن النتائج الطبيعية في الفحوصات الأولية لا تنفي وجود خلل مناعي. أما فحوصات الخط الثاني، فتشمل تقنيات متقدمة مثل التوصيف المناعي للمفاوي، الذي يسمح بالكشف عن اضطرابات في الفئات الفرعية للخلايا للمفاوية، وفي التعبير عن الواسمات السطحية، وفي الوظيفة الخلوية. كما تساهم اختبارات تكاثر الخلايا للمفاوية في تقييم كفاءة الاستجابة المناعية. ويستلزم التفسير الدقيق لهذه الفحوصات مراعاة المظاهر السريرية وسن المريض والسياق الإثنائي. وعلى الرغم من أن تقنيات التسلسل الجيني عالية الإنتاجية قد أحدثت ثورة في هذا المجال، فإن الفحوصات البيولوجية تظل ضرورية، ليس فقط لتوجيه اختبار الجينات المرشحة، بل أيضاً لتأكيد الأثر الوظيفي للطفرات المكتشفة. ومن خلال دمج الفحوصات الأساسية والمتقدمة، يمكن للأطباء اعتماد مقارنة تشخيصية شاملة، تُسهم في التعرف المبكر على الأخطاء المناعية الخلقية، وتحقيق رعاية أكثر دقة وتكيفاً مع كل حالة.

الكلمات المفتاحية: الأخطاء المناعية الخلقية، الفحوصات المخبرية، الفحوصات الأولية، الفحوصات المتخصصة، التوصيف المناعي، الوظيفة الخلوية.

Abstract

The laboratory investigation of inborn errors of immunity (IEI) has significantly enhanced our ability to detect these disorders earlier and with greater accuracy, leading to more effective treatments and improved patient outcomes. First-line laboratory tests, such as complete blood count, immunoglobulin quantification, and post-vaccination serologies, serve as essential tools for initial assessment. Depending on the clinical context, additional first-line tests may include IgE measurement, complement studies (C3, C4, CH50, AP50), and functional assays such as the nitroblue tetrazolium (NBT) or dihydrorhodamine (DHR) tests, which help uncover specific immune deficiencies. Importantly, normal findings in initial screening tests do not exclude the presence of an immunodeficiency. Second-line investigations involve more advanced techniques, such as lymphocyte phenotyping, which allows for the identification of abnormalities in lymphocyte subsets, surface marker expression, and cellular function. Lymphocyte proliferation assays further contribute to evaluating immune cell response. Accurate interpretation of these tests requires careful consideration of the clinical presentation, the patient's age, and the infectious context. While high-throughput genetic sequencing technologies have revolutionized the field, biological investigations continue to be essential,



إيمان بن مصطفى

أستاذة علم المناعة
معهد باستور تونس - قسم
علم المناعة
كلية الطب - جامعة تونس
المنار، تونس

not only for guiding genetic testing of candidate genes but also for validating the functional consequences of identified mutations. By integrating both basic and specialized tests, clinicians can establish a comprehensive diagnostic approach that facilitates earlier recognition and more personalized management of patients with inborn errors of immunity.

Keywords: Inborn Errors of Immunity (IEI), laboratory investigations, primary screening, specialized tests, immunophenotyping, cellular function.

مقدمة

هناك عدة عوامل قد تؤثر الشك في وجود عوز مناعي (Immunodeficiency)، وتستدعي إحالة المريض إلى أخصائي مناعة لإجراء الفحوصات اللازمة. وتُعدّ الفحوصات المخبرية، إلى جانب التقنيات الحديثة، أدوات بالغة الأهمية في الكشف عن هذه الاضطرابات، مما يساهم في مساعدة المريض وتحسين جودة حياته. تتمثل الاستراتيجية التشخيصية لأمراض ضعف المناعة الأولية (Primary Immunodeficiencies)، (PIDs) في مرحلتين أساسيتين: الفحوصات الأولية وفحوصات الخط الثاني.

الفحوصات الأولية

تُعدّ الفحوصات الأولية أدوات أساسية، بسيطة وفعالة، لتوجيه الشك نحو احتمال وجود عوز مناعي خلقي (Inborn Error of Immunity, IEI) قبل إحالة المريض إلى أخصائي في علم المناعة. وتشمل هذه الفحوصات:

- تعداد الدم الكامل مع التعداد التفريقي (Complete Blood Count with Differential).
- قياس مستويات الغلوبولينات المناعية (IgG, IgA, IgM).
- تقييم الأجسام المضادة النوعية وإنتاجها بعد التلقيح (Specific Antibody Responses).

تعداد الدم الكامل

يحظى تعداد الدم الكامل بأهمية سريرية كبيرة، إذ يُتيح تقييم عدد الخلايا للمفاويات (Lymphocytes)، والعدلات (Neutrophils)، والصفائح (Platelets)، ومستوى الهيموغلوبين (Hemoglobin). ويجب تفسير صيغة الكريات

قياس الغلوبولينات المناعية واستجابة الأجسام المضادة

أما قياس الغلوبولينات المناعية فيجب تفسيره وفق القيم المرجعية الخاصة بالعمر، لا سيما في مرحلة الطفولة المبكرة. إذ يُساعد القياس الكمي لمستويات IgG و IgA و IgM في تشخيص أعواز الأجسام المضادة (Antibody Deficiencies)، وقد ترتفع هذه المستويات في بعض الأمراض مثل الداء الحبيبي المزمن (Chronic Granulomatous Disease) أو التكاثر للمفاوي بالمناعة الذاتية (Autoimmune Lymphoproliferation).

وبالنسبة لتقييم الأجسام المضادة النوعية، يُوصى باختبار استجابات ما بعد التلقيح (Post-vaccination Antibody Testing) كمؤشر نوعي على فعالية الاستجابة المناعية التكيفية، على أن يُؤخذ توقيت التلقيح الأخير وآخر جرعة معززة من اللقاح بعين الاعتبار عند تفسير النتائج.

فحوصات إضافية أولية بحسب السياق السريري

إلى جانب الفحوصات الأساسية، قد تستدعي بعض الحالات السريرية إجراء تحاليل إضافية ضمن الفحوصات الأولية، ومنها:

- قياس إجمالي IgE: يُعد مفيداً في حالات الاشتباه بمتلازمة جوب-باكلي (Job-Buckley Syndrome)، حيث يُظهر المرضى عادة مستويات مرتفعة من IgE مصحوبة بفرط اليوزينيات وعداوى جلدية متكررة.
- قياس مكونات المتممة (Complement): تُستخدم في تقييم حالات العدوى المتكررة بالجراثيم المغلفة، مثل المكورات السحائية والمكورات الرئوية والمستدمية النزلية. ويُوصى

البيضاء (Leukocyte Formula) استناداً إلى القيم المطلقة (Absolute Counts) مع أخذ عمر المريض بعين الاعتبار، خصوصاً فرط اللمفاويات الفيزيولوجي (Physiological Lymphocytosis) لدى الرضع. فمثلاً، من المتوقع أن يكون لدى حديثي الولادة أكثر من 3000 خلية لمفاوية/مم³. وقد يُظهر تعداد الدم ما يلي:

- نقص اللمفاويات (Lymphopenia): يستدعي البحث عن عوز المناعة الخلوية المعتمد على الخلايا التائية.
- تكاثر اللمفاويات (Lymphocytosis): قد يدل على متلازمات التكاثر اللمفاوي مع أمراض المناعة الذاتية (Autoimmune Lymphoproliferative Syndromes).
- نقص العدلات (Neutropenia): إذا كانت مزمنة، ولم تُكتشف أجسام مضادة ذاتية، يُوصى حينها بالبحث عن أسباب وراثية عبر فحص النخاع العظمي والفحوصات الجينية.
- تكاثر العدلات (Neutrophilia): قد يعكس اضطراباً في هجرة الكريات البيضاء (Leukocyte Adhesion Defects).
- فقر الدم (Anemia) و/أو نقص الصفيحات (Thrombocytopenia): قد يكون ناتجاً عن أمراض مناعية ذاتية مرافقة لعوز مناعي.
- فرط اليوزينيات (Eosinophilia): قد يشير إلى متلازمة جوب-باكلي (Job-Buckley Syndrome).

كما يجب إجراء مسحة دموية محيطية (Peripheral Blood Smear) بالتزامن مع تعداد الدم، إذ قد توفر معلومات رئيسية، مثل وجود أجسام جولي (Howell-Jolly Bodies) التي تشير إلى غياب الطحال (Asplenia)، أو صغر حجم الصفيحات في متلازمة ويسكوت-ألدريتش (Wiskott-Aldrich Syndrome).

في تشخيص القابلية الوراثية للإصابة بأمراض المتفطرات (Mycobacterial Diseases)، لا سيما عند الاشتباه في متلازمة القابلية المندلية للإصابة بالمتفطرات غير السلية (Mendelian Susceptibility to Mycobacterial Disease, MSMD). ويتم ذلك عبر تحفيز الخلايا للمفاوية بعدة محرضات، ثم قياس إفراز الإنترفيرون-غاما أو فسفرة STAT1/STAT4 داخل الخلايا. ووفقاً للنمط الخلوي أو الإفراز الناتج، يمكن توجيه الشك نحو خلل في أحد مكونات هذا المحور، وبالتالي الاشتباه في الجين المسبب للعوز. ومن بين الأدوات السريعة، يُستخدم قياس مستوى IFN- γ في بلازما المريض، والذي يُسهم في كشف حالات العوز الكامل في IFN- γ R1 أو IFN- γ R2 لدى الأطفال الصغار، وهي من أخطر أشكال خلل هذا المسار. ورغم أهميتها، أصبحت هذه الاختبارات تُجرى بشكل نادر ومُوجه، وتُستخدم أساساً في الحالات الحادة والطارئة، حيث يكون التشخيص السريع ضرورياً لاتخاذ قرارات علاجية عاجلة. كما تُستخدم لاحقاً لتأكيد الأثر الوظيفي لطفرات جينية جديدة تم اكتشافها.

الخاتمة

تُعَدُّ الفحوصات المخبرية حجر الزاوية في تشخيص الأخطاء المناعية الخلقية، إذ تُساعد في كشف العيوب المناعية، وتحديد الآليات المرضية المحتملة، وتوجيه الفحوصات الجينية، فضلاً عن تقديم الاستشارة الوراثية المناسبة للعائلات. لكن هذه الفحوصات تتطلب تفسيراً دقيقاً للنتائج في ضوء السياق السريري، والعمر، والتاريخ المرضي. ومع تطور تقنيات مثل التدفق الخلوي (Flow Cytometry) وتسلسل الجينوم عالي الإنتاجية (High-Throughput Sequencing)، أصبح التشخيص أكثر دقة، مما يُمكن من بدء العلاج في مرحلة مبكرة وتحسين جودة حياة المرضى وتقليل المضاعفات. ولا ينبغي استبعاد وجود عوز مناعي خلقي بناءً فقط على نتائج طبيعية في الفحوصات الأولية؛ إذ تبقى الفحوصات البيولوجية ضرورية لتوجيه الدراسة الجينية من جهة، ولتأكيد الطفرات وراثياً ووظيفياً من جهة أخرى.

(Markers): ويُقصد بها البحث عن غياب أو خلل في تعبير جزيئات سطحية محددة على الخلايا للمفاوية. ويُعَدُّ نقص التعبير عن جزيئات معقد التوافق النسيجي من الصنف الثاني (HLA class II deficiency) مثالاً بارزاً على ذلك، إذ تكون هذه الجزيئات غائبة تماماً عن سطح الخلايا للمفاوية والكريات البيض وحيدات النواة، سواء في الحالة القاعدية أو بعد التحفيز بالمُحرضات الميوتوجينية مثل الفيتوهيماجلوتينين (PHA)، ويُعَدُّ هذا النمط من الاضطراب شائعاً في شمال إفريقيا.

تقييم الوظيفة الخلوية: ويشمل على سبيل المثال تحليل فسفرة STAT3 بعد التحفيز بالإنترلوكين 6 (IL-6) في حالات الاشتباه بمتلازمات مرتبطة بمسار STAT3، أو تقييم مقاومة الخلايا للمفاوية للموت المبرمج (Apoptosis Resistance) باستخدام الوسم Annexin V، حيث يُظهر المريض في هذه الحالة نسبة متقاربة من الخلايا المبرمجة للموت بين اللمفاويات المحفزة وغير المحفزة، مما يُشير إلى وجود خلل في آلية الموت الخلوي المبرمج، وهو ما يُلاحظ عادة في متلازمات التكاثر للمفاوي المناعي الذاتي (Autoimmune Lymphoproliferative Syndromes).

اختبار تكاثر اللمفاويات

على الرغم من العدد الطبيعي للخلايا للمفاوية والفئات الفرعية المختلفة، قد يكون العوز المناعي الأولي مرتبطاً بخلل نوعي (Qualitative Defect) وليس كميّاً. ويمكن تقييم وظيفة الخلايا للمفاوية T في المختبر من خلال اختبار تكاثر اللمفاويات، الذي يقيس قدرة هذه الخلايا على التحول إلى أرومة لمفية (Lymphoblasts) والتكاثر بعد التحفيز بواسطة محرضات ميتوجينية (Mitogens) أو مستضدات محددة (Antigens). ويتم الكشف عن التكاثر باستخدام إدماج واسم مشع مثل الثيميدين ثلاثي التريتيوم (3H-thymidine)، أو عبر تقنية تتبع انقسام الخلية باستخدام صبغة (Carboxyfluorescein Succinimidyl) CFSE (Ester)، وهي طريقة كمية حديثة أكثر أماناً ودقة.

استكشاف المحور IL-12 / IFN- γ

تُستخدم الاختبارات الوظيفية المرتبطة بمحور الإنترلوكين 12/الإنترفيرون-غاما (IL-12/IFN- γ)

بإجراء قياس كمي للمكونين C3 و C4، إلى جانب تقييم النشاط الوظيفي عبر اختبارات CH50 و AP50، مما يسمح بتحليل المسارات الثلاثة للمتممة: الكلاسيكي، البديل، والمشارك. يساعد تفسير هذه النتائج في توجيه التشخيص بسهولة.

• اختبار الانفجار التأكسدي (Oxidative Burst Test) لكريات الدم البيضاء متعددة النوى: يُجرى عند الاشتباه بالداء الحبيبي المزمن (Chronic Granulomatous Disease)، خصوصاً في حال تكرار العدوى البكتيرية والفطرية، لا سيما الناتجة عن المكورات القيقية أو الأسبرجيلوس. يتم تقييم وظيفة العدلات من خلال اختبار NBT شبه الكمي بواسطة المجهر الضوئي أو اختبار DHR الكمي باستخدام تقنية التدفق الخلوي (Flow Cytometry)، والذي يُعَدُّ أكثر دقة في تأكيد التشخيص.

فحوصات الخط الثاني (الفحوصات المتخصصة)

في حال وجود خلل في الفحوصات الأولية، أو حتى إذا كانت طبيعية ولكن مع اشتباه سريري قوي، يُوصى بإجراء فحوصات الخط الثاني. وتشمل هذه الفحوصات التوصيف المناعي للخلايا للمفاوية باستخدام تقنية التدفق الخلوي واختبار تكاثر اللمفاويات (Lymphocyte Proliferation Assay) والاختبارات الوظيفية لتقييم الأعواز في المحور IL-12/IFN- γ .

تقنية التدفق الخلوي:

يشكّل التوصيف المناعي للخلايا للمفاوية باستخدام التدفق الخلوي أداة مركزية لفهم الخلل المناعي النوعي. ويشمل هذا التقييم:

تحليل النسب المئوية والقيم المطلقة للفئات الفرعية للمفاوية (T و B و NK)، باستخدام أنابيب TruCount™ عبر تقنية التدفق الخلوي. ويجب تفسير النتائج استناداً إلى القيم المرجعية العمرية، نظراً لوجود فرط لمفاويات فيزيولوجي طبيعي خلال مرحلة الطفولة، لا سيما في الخلايا للمفاوية B.

دراسة تعبير الواسمات السطحية (Surface