مجله دانشکده پزشکی تهران
شماره هفتم فروردین ماه ۲۵۳۷ صفحه ۱۸۶

استفاده از روش ایمونوفلوئور سانس در تشخیص لوپوس‌سیستمیک SLE

دکتر شهناز رفیعی*

مقدمه ــ لوپوس‌منتشر (S L E) یکی‌از بیماریهای‌خود ایمنی Auto Immune Disease است، از گروه Non Organ Specific(بدون اختصاص عضوی) این بیماری تظاهرات و علائم مختلفی دارد که در اثرضایعات بافت هم‌بند، عروق، پوست، سروزها و غشاهای سینوویال ایجاد میشود. دورهٔ بالینی بیماری طولانی است که با شدت و ضعف همراه است و بهبودهای موقتی در آن دیده میشود.

بیشتر در زنها و در سنین بین بلوغ و یائسگی دیده میشود (. . . . . .) هیچ محدودهٔ جغرافیائی برای آن‌وجود ندارد. گاهی ضایعات پوستی بدنبال تابش شدید آفتاب و ایجادواکنش پوستی، شروع‌میشود و گاه‌بیماری بدنبال‌عفونت موضعی یا فشار روانی آغاز میگردد. تجویز داروهایی مثل املاح طلا، سولفونامید، پنی‌سیلین و غیره میتواند باعث شروع بیماری باشد.

در جریان بیماری لوپوس اریتمای منتشر آنتی کرهایی برضد بافت‌ها و اعضای مختلف‌بدن بیمار ایجاد میشود. این آنتی‌کرها که اتوآنتی‌کر (Auto Antibody) نامیده میشوند. برضداریتروسیت‌ها، گلبولهای‌سفید معده، تیروئید، پلاکت، فاکتورهای انعقادی، سیتوپلاسم، هسته و هستک ایجاد میشوند. وجود اتوآنتی‌کرها در بدن‌باعث میشود که با اتوآنتی‌ژنها (آنتی‌ژنهای‌خودی) که درجریان‌خون قرارمیگیرند، واکنش کرده و کمپلکس ایمن Immune Complex درست‌کنند که در فیلترهای‌طبیعی بدن مثل کلیه تراسب شده سبب‌ثابت شدن کمپلمان (Complement Fixation) گردند. در نهایت این عمل منجر به ضخامت مامبران بازال گلومرولهای کلیه‌گردیده ضایعات‌کلیوی‌موجود در لوپوس‌راباعث‌میگردند. تقریبا" ۷۵% بیماران لوپوسی ضایعات کلیوی دارند (. . .).

جستجوی اتوآنتی‌کرها به تشخیص بیماری کمک فراوان میکند. و برای اندازه‌گیری آنها روشهای مختلفی مثل ژل ــ دیفوزیون آگلوتیناسیون پاسیو و ثبوت مکمل پیشنهاد شده است که هریک دارای معایب و مزایایی است (۱۱).

با بکاربردن روش ایمونوفلوئور سانس که بسیار حساس است (۱۰) و استفاده از آنتی‌ژن مناسب که از سلولها و بافتهای اعضاء مختلف بدن بدست میآید، میتوان انواع آنتی‌کرها را شناخت و مقدار آنها را تعیین کرد. حال آنکه با هیچ‌روش دیگری به تنهائی نمیتوان تمام این اتوآنتی‌کرها را جستجو کرد. (۱۱)

در این بررسی، ما آنتی‌کر ضد هسته (ANA)

گروه‌میکروبشناسی و ایمونولوژی دانشکده علوم پایه دانشگاه‌تهران

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2023-05-30]

۱۷ نفر لوپوس دیسکوئید، ۴ نفر آرتریت روماتوئید، ۲ نفر درماتومیوزیت و بقیه مبتلا به سایر انواع بیماریهای کلاژن بودند که در جدول ۱ نشان داده شده‌اند.

وضعیت‌بالینی بیماران تحت‌نظر بوده، تشخیص‌بیماری علاوه برعلائم بالینی بکمک بیوپسی پوست تأئید گردیده است. سرمها به نسبت $\frac{1}{25}$ ـ $\frac{1}{50}$ و بالاتر رقیق شده‌اند.

آنتی‌ژن ـ خون موش مبتلا به تریپانوزم (۱۱) و سلولهای کبد موش سالم که بوسیله میکروتوم برش داده شد. قطر برشها ۴ مووولامها در هوای اطاق خشک شدند.

روش آزمایش ایمونوفلوئور سانس غیرمستقیم است (۱)

آزمایش جستجوی سلول LE هم انجام گردیده است.

نتایج Resulta

نتایج آزمایش ایمونوفلوئورسانس غیرمستقیم برای جستجوی ANA در ۳۴ بیمار مبتلا به لوپوس سیستمیک وسایر بیماران در جدول شماره‌ٔ ۱ نشان داده شده است. که طبق آن موارد مثبت در بیماران لوپوسی ۳۴نفر یعنی ۱۰۰%بوده است از ۱۷بیمار مبتلا به لوپوس دیسکوئید ۵نفر مثبت یعنی ۲۹% از ۴ بیمار مبتلا به آرتریت روماتوئید ۲ مثبت بوده‌اند. در جدول‌شماره‌ٔ ۲ موارد‌مثبت ANA و سلول LE در بیماران مختلف باهم مقایسه شده است که طبق آن موارد مثبت‌سلول LE در لوپوس سیستمیک ۸۰% موارد و در لوپوس دیسکوئید صفر% است.

تعداد زنان مبتلا به لوپوس ۲۳ نفر و تعداد مردان ۱۱ نفراند. گروه سنی بیماران از ۷ تا ۶۰ سال است مجموعا" از ۷۰ بیمار مورد مطالعه ۴۳ نفر زن بوده‌اند.

تیتر مورد قبول $\frac{1}{25}$ و بالاترین تیترآنتی کر $\frac{1}{800}$ است که در زن مبتلا به لوپوس حاد فعال دیده شده است. تیتر این آنتی‌کرد رسایر بیماریها از $\frac{1}{200}$ تجاوز نمیکند. جدول شماره‌ٔ ۳ تیترهای مختلف آنتی‌کررادر بیماران مورد بررسی قرارمیدهد. در روی لامهای حاصل از کبد موش‌پاترن Pattern های مختلف‌فلوئورسانس مورد بررسی قرارگرفت که‌در بیماران‌لوپوسی ۲۰بیمار پاترن‌محیطی Peripheral ۲۰نفر(خالدار) Speckled وبقیه‌یکنواخت Homogeneous بوده‌اند.

بحث Discussion

لوپوس سیستمیک را میتوان بکمک روشهای مختلف آزمایشگاهی تشخیص داد که هریک از این روشها عیوب و مزایایی دارند (۱۱). روش ایمونوفلوئور سانس غیرمستقیم، روش بسیار حساسی است (۹) که توسط‌آن میتوان اتوآنتی کرهای موجود درجریان خون بیماران را بآسانی بررسی کرد.

با بکاربردن‌آنتی‌ژن‌مناسب که اکثرا" سلولها و بافتها اعضاء مختلف است میتوان آنتی‌کرضد تیروئید (۱۰) معده پلاکت، گلبولهای‌قرمز (۶) آنتی‌کرهای‌ضدفاکتورهای‌انعقادی سیتوپلاسم (.....) ضد نوکلئول (هستک) و بالاخره ضد هسته را در بیماران مبتلا به لوپوس منتشر جستجو کرد، حاا آنکه با هیچ‌روش دیگری به تنهائی نمیتوان تمام این‌اتوآنتی کرها را مورد بررسی قرار داد. (۱۲)

در این‌مطالعه آنتی‌کر ضدهسته توسط‌روش‌ایمونوفلوئور سانس مورد بررسی قرار گرفته است. این آنتی‌کرها تقریبا" در تمام بیماران لوپوسی میتوان یافت و در مقایسه با روش جستجوی‌سلول LE که‌آزمایش باارزشی‌است (....) میتوان گفت، از آنجاکه فاکتور موادسلول LE نوکلئو پروتئین (اسید دزوکسی ریبونوکلئیک + هیستون) است، اگر DNA هسته را بکمک دزوکسی ریبونوکلئاز جدا کنیم، سپس‌آنرا در مجاورت سرم بیمار قرار دهیم میبینیم که نمیتواند به تنهایی فاکتور مربوطه را جذب کند و حتما" به هیستون احتیاج دارد. (۸)

با توجه باین امر که اگر آنتی‌کر موجود در بدن بیمار برضد نوکلئوپروتئین نباشد، در این‌صورت سلول LE منفی خواهد شد و شاید بهمین دلیل است که نسبت موارد مثبت سلول LE در بیماران لوپوسی، ۸۰% موارد بوده است و در هیچ موردی دیده نشده است که سلول LE مثبت وANA منفی باشد. (۶) از آنجاکه نسبت‌مثبتهای ANA درلوپوس‌سیستمیک صددرصد موارد بیماری بوده است (۵، ۶) با توجه بآنکه روی‌اغلب این‌بیماران ازنظر بالینی وبیوپسی پوست تشخیص لوپوس سیستمیک گذاشته‌شده است، میتوان گفت که عملا" یک تست منفی ایمونوفلوئورسانس تشخیص SLE را رد میکند. (جدول شماره‌ٔ ۲)

تیتر مورد قبول آنتی‌کردر آزمایشهای ما $\frac{1}{25}$ است و نظرات مؤلفین مختلف در انتخاب این تیتر متفاوت است

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2023-05-30]

جدول شماره ۱

نتایج ANA در ۷۰ بیمار مورد بررسی

نام بیماری	تعداد بیماران	موارد مثبت
لوپوس سیستمیک	۳۴	۳۴
لوپوس دیسکوئید	۱۷	۵
آرتریت روماتوئید	۴	۲
درماتومیوزیت	۲	۱
اسکلرودرمی	۱	۱
پاسیکولیت	۱	۱
اریتم ندوزا	۲	۰
گلرمرولونفریت	۴	۰
لوسمی	۱	۰
بیماریهای دیگر	۴	۰

مقایسه آزمایش ANF و سلول LE

نام بیماری	تعداد بیماران	مثبت		تعداد بیماران	سلول	مثبت
		تعداد	درصد		تعداد	درصد
لوپوس سیستمیک	۳۴	۳۴	۱۰۰	۲۵	۲۰	۸۰
لوپوس دیسکوئید	۱۷	۵	۲۹	۱۷	۰	۰
آرتریت روماتوئید	۴	۲	۵۰	۴	۴	۱۰۰

جدول شماره ۲

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2023-05-30]

جدول شماره ۳

جدول مقایسه جنس، نوع بیماری و تیتر آزمایش ANF

تعداد جنس		نوع بیماری	تیتر	توتال
زن	مرد			
۱	—	لوپوس منتشر	۱/۸۰۰	۱
۱	—	لوپوس منتشر	۱/۴۰۰	۱
۱	۱	لوپوس منتشر	۱/۲۰۰	۲
۱۳	۶	لوپوس منتشر	۱/۱۰۰	۱۹
۷	۴	لوپوس منتشر	۱/۵۰	۱۱
—	۱	لوپوس دیسکوئید	۱/۲۰۰	۱
۲	—	لوپوس دیسکوئید	۱/۱۰۰	۲
۱	—	لوپوس دیسکوئید	۱/۵۰	۱
۱	—	لوپوس دیسکوئید	۱/۲۵	۱
۹	۲	لوپوس دیسکوئید	منفی	۱۱
	۱	آرتریت روماتوئید	۱/۱۰۰	۱
—	۱	آرتریت روماتوئید	۱/۵۰	۱
۲	—	آرتریت‌روماتوئید	منفی	۲
۱	—	درماتومیوزیت	۱/۲۰۰	۱
۱	—	درماتومیوزیت	منفی	۱
۱	—	پانیکولیت	۱/۲۵	۱

ولی‌از آنجاکه آنتی‌کر ضدهسته در افرادسالم ودر بیماریهای مختلف هم ممکن است وجود داشته باشد. رقیق کردن سرم کاملا" ضروری است. در بعضی گزارشات تیتر مورد قبول $\frac{1}{4}$ (۶) و در برخی دیگر $\frac{1}{10}$ مورد استفاده قرار گرفته است (۴، ۱۰) از بررسی‌تیترآنتی‌کر میتوان‌در تشخیص مرحله تقریبی و پیش‌آگهی و درمان آن استفاده کرد. (۱۱) مطابق جدول شماره۳ تیترهای بالا همیشه در SLE دیده شده‌است و در سایر بیماریها بندرت از $\frac{1}{100}$ تجاوز میکند. بالاترین تیتر که $\frac{1}{800}$ است در زن مبتلا به لوپوس منتشر حاد، فعال دیده شده است. از آنجا که درمان برروی تیتر آنتی‌کر موءثر است، میتوان از اندازه‌گیری مجدد تیترآنتی‌کر اثرات درمان را بررسی کرد.

دراستفاده‌از روش‌ایمونوفلوئورسانس‌میتوان Pattern فلوئورسانس را مطالعه‌کرد و بکمک آن تا اندازه‌ای‌نوع‌بیماری و پیش‌آگهی آنرا تعیین نمود. (۴)

مطابق گزارش Burnham (۲) فرم Speckled و نوکلئولار (هستکی) در اسکلرودرمی بیشتر دیده میشود و اشکال‌محیطی (Peripheral)وهموژن‌درلوپوس‌سیستمیک دربررسی‌ما از ۳۴بیمار مبتلابه لوپوس ۲۰نفر پاترن محیطی، دو نفر خالدار و بقیه پاترن یکنواخت داشته‌اند.

مواردمحیطی در بیمارانی‌که در مرحلهٔ فعالیت‌بیماری بوده‌اند دیده شد و فرم یکنواخت با تیتر پائین در بیماران در حال درمان، این با نظرات Mandy (۷) مطابقت میکند، که معتقداست شکل یکنواخت بیشتر در دوران نقاهت‌بیماری دیده میشود و شکل محیطی را در دوران حدت آن.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2023-05-30]

References

1. Ablin, R. (1974), (Nuclear Immunofluorescent staining patterns) Annals of Alergy, 13: 102–4
2. Burnham, T. (1975), (Antinuclear Antibodies) Arch. Dermatol. 111: 203–7
3. Burnham, T. (1968), (The Immunofluorescent Tumor Imprint Technic) The Amr. J. of Clin. Path. 50: 683–8
4. Dorsch, C. (1969), (Significance of nuclear immunofluorescent patterns) Ann. Rheum. Dis. 28: 313-9
5. Kolarzowska, B. (1970), (Immunofluorescent appearance of antinuclear antibodies) Pol. Tyg. Lak. 25:9–12
6. Mandema, E. (1961), (Quantitative observation on antinuclear factors in SEL) J. Lab. and Clin. Med. 58: 337-52.
7. Mandy, M.A. (1969), (Nuclear Immunofluorescent a guid to treatment in SLE) Lancet 2: 848
8. McDuffie, F.C. (1969), (Immunologic factor in LE cell formation) Mayo Clin. Proc. 44: 620–9
9. Paul, E. (1973), (Comparing serologic data) Arth. and Rheum. 16: 701
10. Sharnk, A. (1963), (Discoide lupus erythematosis, correlation of clinical features with serum auto antibody pattern)
11. Thivolet, J. (1965), (Recherch quantitative simultanee des anticorps antinucleaires) Ann. de I Institut Pasteur 109: 817-30
12. Watnab, N. (1969). (Specificity and reactivity of cytoplasmic and nuclear antibody in SLE sera) Arth. Reum. 12: 173–80

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2023-05-30]