بررسی میزان سرمی ایمونوگلوبولینهای IgG,IgM,IgA,IgE و شمارش لنفوسیتهای B(CD22+)

(در بیماران مبتلا به بیماری بهجت در ایران)

دکتر مجید ریانی، متخصص ایمنولوژی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی -درمانی تهران
دکتر احمد مسعود، استادگروه ایمنولوژی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی -درمانی تهران
دکتر فریدون دواچی، استادگروه روماتولوژی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی -درمانی تهران

STUDY OF IMMUNOGLOBULINS IgG, IgM, IgA AND IgE LEVELS IN SERUM AND ENUMERATION OF B (CD22+) CELLS IN IRANIAN PATIENTS WITH BEHCET'S DISEASE

ABSTRACT

The Behcet disease (BD) is a systemic inflamatory disease of unknown etiology. Evidences suggest that at least some of the clinical aspects of the BD may be due to autoimmune responses, these includes elevated leveles of immunoglobulins(Igs) and immune complexes.

To clarify the molecular basis of the changes in the level of different classes of Igs in BD, we have detected the amount of IgG,IgM,IgA,IgE and number of B-cells (CD22+) in 68 patients with BD, 28 patients controles (PC) and 30 normal controls(NC) . The amount of IgA(P=0.0007) , IgM(P<0.000001) and IgE (P=0.005) shows a significant changes in BD to compared with the NC.But IgG levels don't show any difference. The number of B-cells(CD22+) have not show any changes in BD in compared to NC and PC.

It seems that the elevation of different Igs levels in the serum of patients may be due to unknown polyclonal stimulations then the elevetion of Igs caused the CIC formation and complement activation which followed by tissue damages in BD patients.

چکیده

بیماری بهجت یک بیماری سیستمیک بااتیولوژی نامشخص می‌باشد ولی شواهد، سیستم ایمنی را در پاتوژنز بیماری دخیل دانسته است. بطوریکه ممکن است پاسخ‌های اتوایمیون، افزایش میزان ایمونوگلوبولین‌ها و ظهور کمپلکس‌های ایمنی باعث بروز علائم بالینی در این بیماری گردد.در مطالعات ما مقادیر سرمی ایمونوگلوبولینهای مختلف نظیر IgE,IgM,IgG,IgA و شمارش لنفوسیتهای B(CD22+) در ۶۸ بیمار مبتلا به بیماری بهجت، ۲۸ بیمار مبتلا به دیگر بیماریهای کلاژن و ۳۰ فرد طبیعی اندازه‌گیری شده است که نتایج حاکی از افزایش قابل توجه مقادیر IgE(P=۰/۰۰۵),IgM(P<۰/۰۰۰۰۰۱),IgA(P=۰/۰۰۰۷) در بیماران بهجت در مقایسه با افراد طبیعی می‌باشد.در تعداد سلولهای B(CD22+) هیچگونه تغییری مشاهده نشد.لذا می‌توان چنین استنباط نمود که تحریکات ناشناخته و پلی‌کلونال سلولهای B خاص، موجب افزایش غلظت سرمی IgE,IgM,IgA در این بیماران شده که به نوع خود موجب تشکیل CIC و فعال سازی کمپلمان و ایجاد ضایعات نسجی در بیماری بهجت می‌گردد.

مقدمه

بیماری بهجت (BD) یک بیماری سیستمیک غیر معمول است که اساساً توسط ضایعات دهانی عودکننده (recurrent aphthous)خمهای تناسلی واوئیت (uveitis) و ضایعات سیستمیک متنوع دیگر مشخص می‌گردد.به علت عدم وجود

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-18]

تستهای آزمایشگاهی قابل اعتماد، تشخیص بیماری بهجت بسیار مشکل است .

اتیولوژی بیماری بهجت نامشخص است ولی محققین، سیستم ایمنی را در پاتوژنز بیماری دخیل می‌دانند(۲،۱).در تحقیقاتی که توسط Lehner(1978,1977) انجام شد، ضایعات مفصلی، جلدی، عصبی و عروقی در بیماران بهجت را به علت وجود ایمیون کمپلکسهای محلول (circulating immune complexcs=CIC) در جریان خون اعلام نمودند (۳) که می‌توانند طی فرآیند خاصی در بافتهای مختلف رسوب نمایند (۴).لازمه تشکیل CIC، تولید ایمونوگلوبولینهای مختلف در مقیاس نسبتاً زیاد می‌باشد.با مطالعه ایمونوگلوبولینها و اندازه‌گیری میزان آنها در سرم بیماران بهجت شاید بتوان تا اندازه‌ای تغییرات پاتولوژیک بیماری را بررسی و ارزیابی نمود.همچنین پیشنهاد شده است که IgE نیز در ایمونوپاتوژنز بیماری بهجت دخیل می‌باشد (۳).به طوری که در ضایعات دهانی وخون محیطی بیماران مبتلا به بهجت لنفوسیتهای دارای گیرنده IgE,IgD یافت شده است (۵).

در مورد تغییرات لنفوسیتهای B در این بیماران گزارشاتی در دست است که حاکی از افزایش تعداد سلولهای Bکه به طور خود بخودی ایمونوگلوبولین ترشح می‌کنند، می‌باشد (۶).با مشاهده نتایج ضد و نقیض تصمیم گرفتیم تا غلظت سرمی IgA,IgE,IgM,IgG و همچنین تعداد سلولهای B را در بیماران مبتلا به بهجت تعیین نمائیم و نتایج حاصله با افراد کنترل سالم و بیمار مقایسه آماری نمائیم.

بیماران و روش کار

کلیه آزمایشات ایمونولوژیک در گروه ایمونولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران بر روی نمونه خون بیماران انجام گردید.نمونه گیری از خون محیطی ۹۶ بیمار مشکوک به بیماری بهجت که برای اولین بار به بخش روماتولوژی بیمارستان شریعتی مراجعه نموده بودند، انجام گرفت.بیماری بهجت در ۶۸ نفر از افراد فوق پس از انجام معاینات بالینی تأیید گردید.۳۵ نفر از بیماران زن و ۳۳ نفرشان مرد بودند، سن متوسط آنها ۲۶/۱ سال (۵۹-۱۹ سال) بود.از ۲۸ بیمار باقی مانده ۱۶ نفر مبتلا به آفتوز دهانی و تناسلی و ۱۲ نفر مبتلا به اووئیت بودند. در واقع بیماری بهجت نداشتند.لذا به عنوان گروه کنترل بیمار، مورد مطالعه قرار گرفتند.مشخصات بیماران در جدول شماره ۱۱ ارائه می‌گردد.کلیه آزمایشات به طور همزمان نیز بر روی ۳۰ فرد طبیعی انجام گردید.کلیه بیماران و افراد طبیعی از نظر سابقه آلرژی و عفونتهای انگلی مورد بررسی قرار گرفتند که همگی فاقد هر گونه آلرژی و یا بیماری انگلی بودند.علائم کلی بیماران مبتلا به بیماری بهجت در این مطالعه در جدول شماره ۲ ارائه می گردد.

روش تهیه سرم

پس از انعقاد نمونه های خون دردمای ۲۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه، توسط سانتریفوژ (دور ۲۵۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه) سرمها جداگردید و تمام نمونه ها در فریزر ۲۰ درجه سانتیگراد جهت انجام آزمایشات متعدد منجمد شدند.در اندازه‌گیری میزان IgM,IgG,IgA از تکنیک ایمونودیفوزن شعاعی (single radial immunodiffussion) (۷).و در تعیین میزان IgE از روش ELISA استفاده شد. واحد اندازه‌گیری در مورد IgM,IgG,IgA میلی گرم به ازای دسی لیتر (mg/dl) و در مورد IgE از واحد بین المللی (IU/ml) بود.

روش تهیه سلول

پس از گرفتن نمونه های خون در لوله های محتوی هپارین (۵۰۰۰ U/ml)، با استفاده از فایکل، گلبولهای سفید خون جدا گردید.جهت شمارش لنفوسیتهای B از منوکلونال آنتی بادی حاوی Anti-CD22 استفاده شد (۷).شمارش سلولها با استفاده از میکروسکوپ فلورسانس، لام توما و شمارشگر دستی انجام گردید.

روش آماری

نتایج به صورت mean ± SD اعلام گردید، روش آماری که در این مطالعه جهت مقایسه نتایج به کار برده شده است روش آزمون t دانشجویی (t-student) بوده است.

جدول شماره (۱): مشخصات و تشخیص نهایی بیماران مشکوک به بیماری بهجت

تشخیص نهایی	مرد	زن	جمع
بیماری بهجت	۳۳	۳۵	۶۸
آفتوز دهان و تناسلی	۶	۱۰	۱۶
اووئیت	۴	۸	۱۲
جمع	۴۳	۵۳	۹۶

نتایج

نتایج تعیین میزان غلظت IgE,IgM,IgG,IgA در سرم بیماران مبتلا به بهجت با افراد طبیعی در جدول شماره ۴ و با بیماران کنترل در جدول شماره ۵ و شمارش درصد لنفوسیتهای B (CD22+) در بیماران مبتلا به بهجت در مقایسه با افراد کنترل بیمار و افراد طبیعی در جداول ۶و۷ ارائه می‌گردد.

غلظت IgA در سرم بیماران مبتلا به بهجت به میزان قابل توجهی بالاتر از IgA افراد طبیعی (P=۰/۰۰۰۷) می‌باشد اما در مقایسه با میزان IgAدر بیماران کنترل تفاوتی را نشان نمی دهد.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-18]

غلظت IgMدر سرم بیماران افزایش قابل توجه ($P<0/000001$) در مقایسه با افراد طبیعی نشان می‌دهد ولی در مقایسه با بیماران کنترل تفاوتی مشاهده نمی گردد.

جدول شماره (۲): علائم کلی بیماران مبتلا به بیماری بهجت در این مطالعه

علائم بیماری بهجت در ۶۸ بیمار	تعداد	درصد
علائم مخاطی :		
۱- آفتوز دهانی	۶۴	۹۴/۱
۲- آفتوز تناسلی	۴۳	۶۳/۲
علائم پوستی		
۱- فولیکولیت	۴۷	۶۹/۱
۲- ارینم گرهی	۱۴	۲۰/۵
علائم چشمی :		
۱- اووئیت قدامی	۲۹	۴۲/۶
۲- اووئیت خلفی	۱۳۱	۴۵/۶
۳- واسکولیت رتین	۱۷	۲۵/۰
۴- کاتاراکت	۴	۵/۹
۵- کنژونکتویت	۱	۱/۵
۶- پان اووئیت	۱۰	۴/۷
علائم عصبی :		
۱- علائم مرکزی	۲	۳/۰
۲- سردرد	۲	۳/۰
علائم مفصلی :		
۱- آرترالژی	۷	۹۰/۲
۲- منوآرتریت	۷	۱۰/۲
۳- اولیگوآرتریت	۲	۳/۰
۴- پلی آرتریت	۱۷	۲۵/۰
۵- اسپوندیلیت	۲	۳/۰
علائم دیگر :		
۱- فلبیت	۶	۸/۸
۲- پریکاردیت	۱	۱/۵
۳- اورکیت	۳	۴/۵
۴- ادم اندام تحتانی و واریس	۱	۱/۵
۵- تورم دو زانو	۱	۱/۵
۶- تورم مچ پا	۱	۱/۵

جدول شماره (۳): علائم پاراکلینیکی بیماران بهجت

علائم پاراکلینیکی	تعداد	درصد
تست جلدی مثبت	۳۰	۴۴/۱۱
HLA-B5 مثبت	۲۸	۴۱/۱۷
HLA-B27 مثبت	۹	۱۳/۲

جدول شماره (۴): نتایج حاصله از تعیین میزان غلظت، IgM,IgE,IgG در بیماران بهجت، کنترل و افراد طبیعی

Igs	بیماران بهجت	کنترل طبیعی	بیماران کنترل
IgG	۱۴۷۰+۳۷۴	۱۴۴۸+۳۲۸	۱۴۴۷+۴۳۱/۷۵
IgA	۳۶۹+۱۵۷/۵	۲۵۵/۳+۱۲۷/۵	۳۶۶/۳۵+۱۲۲/۸
IgM	۲۷۴+۱۱۴	۱۴۷+۷۳/۸	۲۶۸+۸۰/۸۶
IgE	۱۵۱/۲۷+۱۳۶/۶	۷۷/۶۳+۶۱	۱۳/۵/۱+۱۳۰/۴۳

جدول شماره (۵) : مقایسه آمار و نتایج تعیین میزان IgG, IgA, IgE IgM, در بیماران بهجت با افراد طبیعی

مقدار P	ایمونوگلوبولین
غیر معنی‌دار	IgG
I P=۰/۰۰۰۷	IgA
I P<۰/۰۰۰۰۰۱	IgM
I P=۰/۰۰۵	IgE

جدول شماره (۶) : مقایسه آماری و نتایج میزان IgG, IgM. IgE,IgA, در بیماران بهجت با بیماران کنترل

نتایج آماری	ایمونوگلوبولین
غیر معنی‌دار	IgG
غیر معنی‌دار	IgA
غیر معنی‌دار	IgM
غیر معنی‌دار	IgE

جدول شماره (۷) : نتایج و مقایسه اماری شمارش لنفوسیتهای (CD 22+)B در بیماران بهجت با افراد طبیعی

نتیجه اماری	کنترل طبیعی	بیماران بهجت	
غیر معنی‌دار	۱۱±۳	۳۹±۲/۳۴	B(CD22+)

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-18]

جدول شماره (۸) : نتایج و مقایسه آماری شمارش لنفوسیتهای B(CD22+) در بیماران بهجت با کنترل بیمار

نتیجه آماری	کنترل بیمار	بیماران بهجت	
non significant	۱۱۰۳/۶۲	۱۰/۳۹۰۲/۳۴	B(CD22+)

غلظت سرمی IgEدر بیماران بهجت افزایش قابل توجه (P=۰/۰۰۵) در مقایسه با افراد طبیعی نشان می دهد در حالی که با میزان IgE سرمی بیماران کنترل تفاوتی مشاهده نمی‌گردد. در میزان IgGهیچگونه تغییری در بیماران مبتلا به بهجت و بیماران کنترل در مقایسه با افراد طبیعی وجود ندارد.

بحث

درسال ۱۹۶۳ Oshima و همکاران او آنتی بادیهایی را بر علیه مخاط انسانی در ۴۲ درصد از ۴۰ بیمار مبتلا به بهجت مشخص نمودند (۸).سالها بعد O,Duffy افزایش IgAو IgM را گزارش نمود.در این گزارش کاهش قابل توجهIgA ترشحی در بزاق ۲ بیمار مبتلا به بیماری بهجت جالب توجه بود(۸).چنین گفته می‌شود که IgA ترشحی در دفاع میزبان در سطوح مخاطی اهمیت زیادی دارد و به همین جهت حدس زده می‌شود که به علت نقص در میزان IgA ترشحی و اتصال آن، به عوامل آنتی ژنیک ویروسها قادرند از سطوح مخاطی حفره دهانی عبور کرده، باعث ایجاد بیماری بهجت شوند(۸).

درسال ۱۹۷۲ Lehner افزایشی را در میزان IgM،IgG،IgA در زمان عود بیماری بهجت اعلام نمود که پیشنهاد کننده افزایش فعالیت لنفوسیتهای B بود.(۲).

نتایج حاصله از مطالعات ما حاکی از افزایش غلظت سرمی IgM،IgAو IgE در بیماران مبتلا به بهجت در مقایسه با افراد طبیعی می‌باشد ولی غلظت IgG سرمی تغییری را نشان نمی‌دهد.از طرف دیگر هیچگونه تفاوتی در غلظت ایمونوگلوبولینهای فوق بین بیماران بهجت و بیماران کنترل وجود ندارد.در مطالعات ما افزایش میزان IgE سرمی در بیماران بهجت مشاهده می‌گردد.در مطالعه دیگری میزان IgE سرمی در بعضی از بیماران افزایش نشان می‌دهد (۹).با مشاهده افزایش در میزان IgE در این بیماران این فرضیه قوت گرفت که ممکن است IgE در ایمونوپاتوژنز ضایعات بیماری شرکت داشته باشد (۱۰).به طوری که با مطالعات بافت‌شناسی ضایعات اولیه مخاطی و جلدی در بیماران، ارتشاح mast cells نیز مشاهده شده است (۱۱).

در مطالعات ما تعداد سلولهای B هیچگونه تغییری را نشان نمی‌دهد در حالی که گزارشاتی حاکی از افزایش تعداد لنفوسیتهای Bکه به طور خود بخودی ایمونوگلوبولین ترشح می‌کنند، وجود دارد.از طرفی کاهش در پاسخ دهی سلولهای B به میتوژنهای غیر وابسته به T مشاهده می‌گردد.همچنین سلولهای B موجود در تمام بیماران مبتلا به بیماری بهجت به فعال کننده‌های پلی کلونال وابسته به سلول T نظیرPWM پاسخ نمی‌دهند.این مشاهدات نشانگر ناهنجاری سلولهای B می‌باشد (۱۰).در مطالعات اخیر صحبت از ناهنجاری در فعال سازی سلول B و ایمونورگولاسیون مستقیم مربوط به سلولهای T است که می‌تواند در پاتوژنز بیماری بهجت دخیل باشد (۶).افزایش سطح سرمی ایمونوگلوبولینها و تولید آنتی بادیهای اتوراکتیو و حضور CIC در بعضی از بیماران مبتلا به فرم فعال بیماری بهجت می‌تواند مربوط به ناهنجاریهای سلول B باشد. و از طرفی در این بیماری پلی کلونال اکتیواسیون سلولهای B نیز مشاهده می‌گردد (۵) در بیماریهای دیگر نظیر SLE مشخص شده که یک نقص اولیه در سلول B همراه با کاهش فعالیت سوپرسوری سلولهای T ممکن است منجر به ایجاد و بقاء فعالیت بی‌نهایت پلی کلونال سلولهای B گردد (۱۰).

آیا پلی کلونال اکتیواسیون سلولهای B در بیماران بهجت به علت افزایش فعالیت سلولهای T-helper و یا کاهش فعالیت سوپرسوری و یا اکتیواسیون مستقیم سلولهای B می‌باشد؟ علت معلوم نیست (۶).علت یا علل به وجود آورنده بیماری بهجت یک راز است اما کاهش سلولهای در حال استراحت (Resting B) و وجود سلولهای B نسبتاً فعال شده در بیماران مبتلا به فرم فعال بیماری بهجت می‌تواند نشانگر تحریک بیش از حد سلولهای B درin vivo باشد که توسط بعضی از محرکها صورت می‌گیرد.به طوری که سلولهای B بطور کامل به سلولهای ترشح کننده ایمونوگلوبولین تمایز پیدا می‌کنند.در بیماران مبتلا به فرم فعال بیماری، ترکیب افزایش فعالیت سلولهای B و نقص در سرکوب ایمنی ممکن است منجر به فعال سازی پلی کلونال سلولهای B گردد(۶).

همانطور که گفته شد، در مطالعات ما مقدار IgG تغییری را نشان نمی‌دهد حال آنکه IgAو IgM بیش از حد طبیعی تولید شده است.ما نمی‌دانیم که تولید این دو نوع ایمونوگلوبولین از نوع ترشحی و یا سرمی است یا خیر.می‌تواند قابل تامل باشد.آیا بیماری مربوط به نقطه خاصی از بدن است ولی ضایعات آن به صورت منتشر بروز می‌نماید و یا بر عکس.مراکز متعددی مبتلا به ضایعات پاتولوژیک می‌گردند که سیستم تولید آنتی‌بادی را تحریک می‌کنند. در واقع تولید آنتی‌بادیهای فوق به هیچ وجه محافظت کننده نیستند و شاید نتیجه یک عکس العمل ساده پاتولوژیک خاصی باشد که به شکل پلی کلونال و انتخابی بر روی سلولهایB خاصی اثر می‌کنند.یکی از مواردی که ایمونوگلوبولینها می‌توانند شرکت فعال داشته باشند، ایجاد CIC می‌باشد قابل به ذکر است که از ۶۸ بیمار مورد مطالعه،

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-18]

۳۷ بیمار CIC بالا را نشان داده‌اند که ۲۰ نفر IgE بالا (۵۴٪) و ۶ نفر IgG بالا (۱۶٪)، ۱۱ نفر IgA بالا (۳۰٪) و ۱۵ نفر IgM بالا (۴۰٪) را نشان می دهند که موید شرکت آنتی‌بادیها در ایجاد CIC و شرکت CIC در پاتوژن بیماری بهجت باشد که خیلی از گرفتاریها از جمله و اسکولیت و اریتم گرهی، آرتریت واووئیت ناشی از افزایش ایمونوگلوبولینها و متعاقب آن تشکیل CIC می‌باشد.(۴).با بهره‌گیری از تکنیک ایمونوفلورسانس، رسوب IgMو IgG در دیواره عروق ضایعات این بیماران مشاهده شده است (۸).

به طور خلاصه می توان چنین استنباط نمود که تحریکات ناشناخته و پلی‌کلونال اکتیواسیون سلولهای B خاص، موجب افزایش غلظت سرمی IgE،IgM،IgAو شده است به طوری که به نوبه خود سبب تشکیل CIC و دامن زدن به فعال سازی کمپلمان و ایجاد ضایعات نسجی در بیماران مبتلا به بیماری بهجت می‌گردد.

مراجع

1 Aphthous stomatitis.. Behcet"s syndrome symposium.J. Oral. at"ology 1978: 7:341-440.

2. Scully C.Lehner.T. Serum salivary and lacrimal immunoglobulins in B.S and recurrent oral ulcers. Behcet's syndrome. London. Academic Press: 1979; 77-90.

3. Lehner T. Damaged membrane fragments and immune complexes in the blood of patients with Behcets syndrome. Clin.Exp.Immunol 1978: 34 : 206-212.

4. Mannik M. Mechanism of tissue deposition of immune complexes.J. of Rheumato. (suplement 13).1987;14:35-42.

5. Scully C. Immunoglobulins G.M.A.D and E in Behcet's. syndrome. Clinica. Chimica Acta.1982: 120 : 237-242.

6. Suzuk N. Abnormal B-cell function in patients with B.D. Arth.and Rheumatism 1986: 29(2) : 212-219.

7. Rogers.R.S. Recurrent aphthous stomatitis: clinical characteristics and evidence for an immunopathogenesis.J.Invest.Dermatol 1977; 69:499-507.

8. Reynold.C. et al: Behcet's disease. International J of Dermato 1984: 23(1) : 25-32.

9. Lenher T. Behcet's syndrome and autoimmunity. Brith. Med. J 1967; 1: 455-467.

10. Haim S.The pathogenesis of lesion in Behcet disease.Dermatologica 1979: 158:31-37.

11. Lenher.T. Pathology of recurrent oral ulceration in B. S.ight.electron and fluorescence microscopy.J.Oral. Pathol 1969; 97:481-494.

12. Dilsen. N.Koniee M.Ovul.C. Behcet's disease. Amsterdam: Excerpta Medica: international congress series 1979: 4o7.

13. Rose. NR SRID for immunoglubolins and complements. Mannual of clinical laboratory immunology.3th edition. 1988. 139. 146-148 .178- 179. 182.

14. Stuart J et al: Behcet's disease of Am Acad of Dermatol 1988. 19 (5). part 1. 767-779.

* * *

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2024-09-18]