

استفاده از روش ایمونوفلوئور سانس در تشخیص
لویوس سیستمیک SLE

دکتر شهناز رفیعی*

میشوند. وجود اتوانتی‌کرها در بدن باعث میشود که با اتو-
آنتی‌ژنها (آنتی‌ژنهای خودی) که در جریان خون قرار میگیرند،
واکنش کرده و کمپلکس این Immune Complex درست کنند
که در فیلترهای طبیعی بدن مثل کلیه تراسب شده سبب ثابت
شدن کمپلمان (Complement Fixation) گردند. در
نهایت این عمل منجر به ضخامت ممبران بازال گلوبولهای
کلیه گردیده ضایعات کلیوی موجود در لوپوس را باعث میگردند.
تقریباً ۷۵% بیماران لویوسی ضایعات کلیوی دارند (۰۰۰).
جستجوی اتوانتی‌کرها به تشخیص بیماری کمک فراوان
میکند. و برای اندازه‌گیری آنها روشهای مختلفی مثل ژل -
دیفوزیون آگلوتیناسیون پاسیو و شوت مکمل پیشنهاد شده
است که هر یک دارای معایب و مزایایی است (۱۱).
با بکاربردن روش ایمونوفلوئور سانس که بسیار حساس
است (۱۵) 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 هیچ روش دیگری به تنهایی نمیتوان تمام این اتوانتی‌کرها
را جستجو کرد. (۱۱)
در این بررسی، ما آنتی‌کسر ضد هسته (ANA)

مقدمه - لوپوس منتشر (SLE) یکی از بیماریهای خود
ایمنی Auto Immune Disease است، از گروه Non
Organ Specific (بدون اختصاص عضوی) این بیماری تظاهرات
و علائم مختلفی دارد که در اثر ضایعات بافت هم‌بند، عروق،
پوست، سروزها و غشاهای سینوویال ایجاد میشود. دوره
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 پائسگی دیده
میشود (۰۰۰۰۰۰) هیچ محدوده جغرافیایی برای آن وجود
ندارد. گاهی ضایعات پوستی بدن با تابش شدید آفتاب و
ایجاد واکنش پوستی، شروع میشود و گاه بیماری بدن با عفونت
موضعی یا فشار روانی آغاز میگردد. تجویز داروهای مثل
املاح طلا، سولفونامید، پنی‌سیلین و غیره میتواند باعث
شروع بیماری باشد.
در جریان بیماری لوپوس اریتمای منتشر آنتی‌کرهایی
برضد بافتها و اعضاء مختلف بدن بیمار ایجاد میشود. این
آنتی‌کرها که اتوانتی‌کر (Auto Antibody) نامیده
میشوند، برضد اربیتروسیتها، گلوبولهای سفید معده، تیروئید،
پلاکت، فاکتورهای انعقادی، سیتوپلاسم، هسته و هستک ایجاد

گروه میکروشناسی و ایمونولوژی دانشکده علوم پایه دانشگاه تهران

بحث Discussion

لوپوس سیستمیک را میتوان بکمک روشهای مختلف آزمایشگاهی تشخیص داد که هر یک از این روشها عیوب و مزایایی دارند (۱۱). روش ایمونوفلوئورسانس غیرمستقیم، روش بسیار حساسی است (۹) که توسط آن میتوان اتوانتی کربهای موجود در جریان خون بیماران را باسانی بررسی کرد. با بکار بردن آنتی ژن مناسب که اکثراً سلولها و بافتها اعضا مختلف است میتوان آنتی کرب ضد تیروئید (۱۰) معده پلاکت، گلبولهای قرمز (۶) آنتی کربهای ضد فاکتورهای انعقادی سینوپلاسم (۰۰۰۰۰) ضد نوکلئول (هستک) و بالاخره ضد هسته را در بیماران مبتلا به لوپوس منتشر جستجو کرد، حال آنکه با هیچ روش دیگری به تنهایی نمیتوان تمام این اتوانتی کرها را مورد بررسی قرار داد. (۱۲)

در این مطالعه آنتی کرب ضد هسته توسط روش ایمونوفلوئورسانس مورد بررسی قرار گرفته است. این آنتی کرها تقریباً در تمام بیماران لوپوسی میتوان یافت و در مقایسه با روش جستجوی سلول LE که آزمایش باارزشی است (۰۰۰۰) میتوان گفت، از آنجا که فاکتور مواد سلول LE نوکلئوپروتئین (اسید دزوکسی ریبونوکلئیک + هیستون) است، اگر DNA هسته را بکمک دزوکسی ریبونوکلئاز جدا کنیم، سپس آنرا در مجاورت سرم بیمار قرار دهیم میبینیم که نمیتواند به تنهایی فاکتور مربوطه را جذب کند و حتماً به هیستون احتیاج دارد. (۸) با توجه باین امر که اگر آنتی کرب موجود در بدن بیمار برضد نوکلئوپروتئین نباشد، در این صورت 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 و ANA منفی باشد. (۶) از آنجا که نسبت مثبتهای ANA در لوپوس سیستمیک صدها درصد موارد بیماری بوده است (۵، ۶) با توجه بآنکه روی اغلب این بیماران از نظر بالینی و بیوپسی پوست تشخیص لوپوس سیستمیک گذاشته شده است، میتوان گفت که عملاً یک تست منفی ایمونوفلوئورسانس تشخیص SLE را رد میکند. (جدول شماره ۲)

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

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 شده اند.

وضعیت بالینی بیماران تحت نظر بوده، تشخیص بیماری علاوه بر علائم بالینی بکمک بیوپسی پوست تأیید گردیده است. سرما به نسبت $\frac{1}{25} - \frac{1}{50}$ و بالاتر رقیق شده اند. آنتی ژن - خون موش مبتلا به تریپانوزم (۱۱) و سلولهای کبد موش سالم که بوسیله میکروتوم برش داده شد. قطر برشها ۴ مومولامها در هوای اطاق خشک شدند. روش آزمایش ایمونوفلوئورسانس غیرمستقیم است (۱) آزمایش جستجوی سلول LE هم انجام گردیده است.

نتایج Results

نتایج آزمایش ایمونوفلوئورسانس غیرمستقیم برای جستجوی ANA در ۳۴ بیمار مبتلا به لوپوس سیستمیک و سایر بیماران در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. که طبق آن موارد مثبت در بیماران لوپوسی ۳۴ نفر یعنی ۱۰۰٪ بوده است از ۱۷ بیمار مبتلا به لوپوس دیسکوئید ۵ نفر مثبت یعنی ۲۹٪ از ۴ بیمار مبتلا به آرتریت روماتوئید ۲ مثبت بوده اند. در جدول شماره ۲ موارد مثبت ANA و سلول LE در بیماران مختلف باهم مقایسه شده است که طبق آن موارد مثبت سلول 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 مجموعاً از ۷۰ بیمار مورد مطالعه ۴۳ نفر زن بوده اند.

تیتراژ مورد قبول $\frac{1}{25}$ و بالاترین تیتراژ آنتی کرب $\frac{1}{800}$ است که در زن مبتلا به لوپوس حاد فعال دیده شده است. تیتراژ آنتی کرب در سایر بیماریها از $\frac{1}{400}$ تجاوز نمیکند. جدول شماره ۳ تیتراژهای مختلف آنتی کرب در بیماران مورد بررسی قرار میدهد. در روی لامهای حاصل از کبد موش پاترن Pattern های مختلف فلورسانس مورد بررسی قرار گرفت که در بیماران لوپوسی ۲۰ بیمار پاترن محیطی Peripheral Homogeneous (نفر خالدار) Speckled و بقیه یکنواخت Homogeneous بوده اند.

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

جدول شماره ۲

جدول شماره ۳
جدول مقایسه جنس، نوع بیماری و تیتراژ آزمایش ANF

توتال	تیتراژ	نوع بیماری	تعداد جنس	
			مرد	زن
۱	۱/۸۰۰	لوپوس منتشر	-	۱
۱	۱/۴۰۰	لوپوس منتشر	-	۱
۲	۱/۲۰۰	لوپوس منتشر	۱	۱
۱۹	۱/۱۰۰	لوپوس منتشر	۶	۱۳
۱۱	۱/۵۰	لوپوس منتشر	۴	۷
۱	۱/۲۰۰	لوپوس دیسکوئید	۱	-
۲	۱/۱۰۰	لوپوس دیسکوئید	-	۲
۱	۱/۵۰	لوپوس دیسکوئید	-	۱
۱	۱/۲۵	لوپوس دیسکوئید	-	۱
۱۱	منفی	لوپوس دیسکوئید	۲	۹
۱	۱/۱۰۰	آرتریت روما توئید	۱	-
۱	۱/۵۰	آرتریت روما توئید	۱	-
۲	منفی	آرتریت روما توئید	-	۲
۱	۱/۲۰۰	درما تومیوزیت	-	۱
۱	منفی	درما تومیوزیت	-	۱
۱	۱/۲۵	پانیکولیت	-	۱

فلوئورسانس را مطالعه کرد و یکمک آن تا اندازه‌ای نوع بیماری و پیش‌آگهی آنرا تعیین نمود. (۴)

مطابق گزارش Burnham (۲) فرم Speckled و نوکلئولار (هستکی) در اسکلوئودرمی بیشتر دیده می‌شود و اشکال محیطی (Peripheral) و هموزن در لوپوس سیستمیک در بررسی ما از ۳۴ بیمار مبتلا به لوپوس ۲۰ نفر پاترن محیطی، دو نفر خالدار و بقیه پاترن یکنواخت داشته‌اند.

موارد محیطی در بیمارانی که در مرحله فعالیت بیماری بوده‌اند دیده شد و فرم یکنواخت با تیتراژ پائین در بیماران در حال درمان، این با نظرات Mandy (۷) مطابقت می‌کند، که معتقد است شکل یکنواخت بیشتر در دوران نقاهت بیماری دیده می‌شود و شکل محیطی را در دوران حدت آن.

ولی از آنجا که آنتی‌کر ضدهسته در افراد سالم و در بیماریهای مختلف هم ممکن است وجود داشته باشد، رقیق کردن سرم کاملاً ضروری است. در بعضی گزارشات تیتراژ مورد قبول $\frac{1}{4}$ (۶) و در برخی دیگر $\frac{1}{10}$ مورد استفاده قرار گرفته است (۱۰، ۴) از بررسی تیتراژ آنتی‌کر می‌توان در تشخیص مرحله تقریبی و پیش‌آگهی و درمان آن استفاده کرد. (۱۱) مطابق جدول شماره ۳۰ تیتراژهای بالا همیشه در SLE دیده شده است و در سایر بیماریها بندرت از $\frac{1}{100}$ تجاوز می‌کند. بالاترین تیتراژ که $\frac{1}{800}$ است در زن مبتلا به لوپوس منتشر حاد، فعال دیده شده است. از آنجا که درمان بر روی تیتراژ آنتی‌کر مؤثر است، می‌توان از اندازه‌گیری مجدد تیتراژ آنتی‌کر اثرات درمان را بررسی کرد.

در استفاده از روش ایمونوفلوئورسانس می‌توان Pattern

References

1. Ablin, R. (1974), (Nuclear Immunofluorescent staining patterns) *Annals of Allergy*, 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 erythematosus, 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