عنوان دوره آموزشی :

تفسیر تست های ANTI CCP – RF – CRP

تاریخ نگارش

بهار ۱۳۹۵

بسم الله الرحمن الرحيم

گروه هدف:

رشته شغلی آزمایشگاه

اهداف آموزشی:

کنترل کیفی ، دستگاهها ، تجهیزات و روشهای آزمایشگاهی ، ایمونولوژی و سرم شناسی CRP، RF و-ANTI CCP

روش و نحوه اجرای آموزش:

مدت دوره : ۱۵ ساعت

اجرای آموزش: کتابخواتی

نوع آزمون: کتابخوانی

روش آزمون: الکترونیک

فهرست

مقدمه: ۵

آرتریت روماتوئید ۶

آزمایش آرا . لاتکس (R.A.Latex Test) ۱۹

تفسیر آزمایش تشخیص فاکتور روماتوئید ۲۳

آنتی بادی های ضدپپتیدهای حلقوی سیترولینه (Anti Ccp)(Anti Cyctic Citrullinated Peptide) ۲۶

CCP ANTIBODIES ۲۹

آزمایش ANTI-CCP ۳۱

پروتئین های مرحله حاد بیماری ۳۳

سی – راکتیوپروتئین ۳۵

سرعت رسوب گلبول های قرمز (ESR) Erythrocyte Sedimentation Rate ۴۲

تست‌های آزمایشگاهی برای بیماری‌های اتوایمیون ۵۰

بیماری لوپوس ۵۲

مقدمه:

بیماریهای خود ایمنی روماتیسمی را بطور کلی می‌توان به دو گروه دسته‌بندی نمود: بیماریهایی که طبیعت آنها سیستمیک و منتشر است (نظیر لوپوس اریتماتوس منتشر، سندروم شوگرن، اسکرودرما، آرتریت روماتوئید ، واسکولیت اتوایمون، بیماری مختلط بافت همبند و انواع سندرومهای همپوشان).

نوع دوم آنهایی هستند که یک بافت یا اندام مشخص درگیر بیماری هستند (نظیر بیماری تیروئید اتوایمون، میاستنی گراو و بیماریهای پوستی خاص مانند پمفیگوئید بولوس).

تشخیص آزمایشگاهی این بیماری‌ها بدلیل تولید انواع اتوآنتی‌بادی‌ها که بعضاً بصورت مشترک در بیماریهای مختلف تولید می‌شوند کار ساده‌ای نیست و عدم اطلاع یا استفاده نا صحیح از تستهای تشخیصی اغلب باعث تشخیص اشتباه می‌گردد. امروزه در سیستم مراقبت‌های بهداشتی جاری دنیا، بسیار مهم است که تست مناسب برای تشخیص بیماریها درخواست و انجام گردد، نه فقط به منظور کاهش هزینه‌های بیماران بلکه از نقطه نظر آزمایشگاهی به منظور افزایش کارآیی و کاهش بار کاری پرسنل آزمایشگاهها و جلوگیری از هدر رفتن مواد و کیتها. در این مقاله مروری داریم بر تستهای تشخیصی بیماریهای خود ایمنی روماتیسمی و آلگوریتم تشخیصی آنها بعلاوه بحثی در مورد ارزش و کاربرد فناوریهای جدید آزمایشگاهی.

بیماری‌های سیستمیک:

تظاهرات بالینی بیماریهای خودایمن منتشر در عین حال که بسیار پیچیده هستند اما بر اساس رهنمودهای پذیرفته شده‌ای تقسیم‌بندی شده‌اند. شایعترین بیماری‌های خودایمن منتشر عبارتند از:

لوپوس اریتماتوس منتشر

سندروم شوگرن

اسکرودرما،

آرتریت روماتوئید

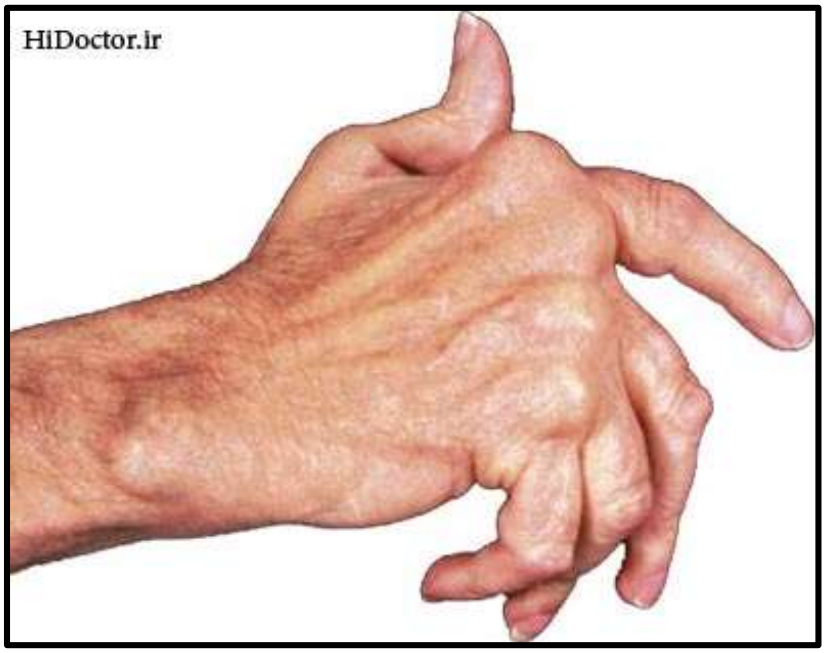
واسکولیت اتوایمون

بیماری مختلط بافت همبند.

تظاهرات بالینی این بیماری‌ها بشدت متغیر بوده ممکن است تشدید شده و در برخی موارد با سایر بیماریهای خودایمن تشابـهاتی داشته باشد که در مورد اخیر از اصطلاح سندرومهای همپوشان (Overlap Syndromes) استفاده می‌شود .. همانگونه که انتظار می‌رود این سمپتومها طیف وسیعی را از نظر شدت شامل می‌شوند؛ ممکن است بسیار خفیف تا شدید و یا حتی کشنده باشند. درحالی‌که هیچ مکانیسم واحد پاتولوژیکی برای این بیماری‌ها وجود ندارد اما از یک جنبه مشترک هستند و آن تولید اتوآنتی‌بادی‌هایی است بر علیه آنتی‌ژنهایی که اختصاص به هیچ اندامی ندارند، این اتوآنتی‌بادی‌ها ممکن است بر علیه آنتی‌ژن‌های تغییر شکل‌یافته و یا دست نخورده سلول‌های هسته‌دار و یا برعلیه پروتئینهای سرم باشند. اینکه این اتوآنتی‌بادی‌ها مولد بیماری هستند و یا متعاقب تخریب بافتی و انتشار عناصر درون سلولی به محیط و یا در اثر هر دو مکانیسم تولید می‌شوند کاملاً روشن نمی‌باشد .

آرتریت روماتوئید

آرتریت روماتوئید یکی از بیماریهای اتو ایمیون میباشد که باعث التهاب غشای اطراف مفاصل و در نتیجه باعث بروز علائمی مانند درد مفاصل و تغییرات شکل مفاصل و در نهایت کاهش حرکات بدن میشود . این بیماری در زنان ۲-۳ برابر بیشتر از مردان بوده و اغلب در سنین بین ۴۰-۶۰ سالگی اتفاق میافتد . در این بیماری گلبولهای سفید خون از گردش خون به مایع مفصلی آمده و به غشای اطراف مفاصل حمله کرده و در نتیجه باعث التهاب این غشا می شوند . در اثر این التهاب پروتئین هایی آزاد میشود .



علت دقیقی برای این بیماری هنوز مطرح نشده است ولی گفته می شود زمینه های ژنتیکی به همراه فاکتورهای محیطی مانند سیگار کشیدن ، سبک

زندگی و ویروسها در ایجاد این بیماری مهم میباشند . علائم بالینی این بیماری شامل درد مفاصل ، التهاب مفاصل ، دستان قرمز و ورم کرده ، تورم و در مفاصل در صبح به مدت حداقل ۳۰ دقیقه ،تب و کاهش وزن میباشد . در اغلب موارد این بیماری در مراحل اولیه چندین مفصل کوچک را به صورت همزمان و اغلب در دست ، کمر و گردن درگیر میکند .

تشخیص :

در تشخیص این بیماری از تستهای مختلفی استفاده میشود که شاید مهمترین این تستها تست RF میباشد . تست RF که تست سرولوژی استاندارد برای تشخیص RA به شمار میرود فقط ۹۵ – ۹۰٪ Specifity دارد (تنها در روش ELISA ، نه روشهای ضعیف تر دیگر مثل آگلوتیناسیون، نفلومتری و ...) اما RF نوع Igm نه اختصاصی و نه جهت تشیخص RA کاملاً حساس می باشد .

با توجه به اینکه تشخیص این بیماری در مراحل اولیه در کنترل بیماری و جلوگیری از پیشرفت علائم میباشد بنابراین استفاده از تستهای دقیق تری که امکان تشخیص بیماری را در مراحل ابتدایی فراهم کند بسیار ضروری میباشد . تستی که به این منظور استفاده میشود تست Anti-CCP آنتی بادی ضد پروتئین های حلقوی سیترولینه شده میباشد .

سیستم آتو آنتی بادی ضد CCP یک گروه از اتو آنتی بادیها هستند که واکنش گسترده بر علیه پروتئینهای حاوی آرژینین که به سیترولین تغییر یافته اند ، نشان میدهد . این اتو آنتی بادی ها شامل : آنتی پری نوکلئر فاکتور (APF) ، آنتی کراتین آنتی بادی (AKA) ، آنتی فیلاگرین آنتی بادی (AFA) و آنتی CCP از نوع IgG می باشند . نتایج تحقیقات مختلف بیانگر این نظریه است که سیترولینه شدن پروتئینها در داخل فضای ملتهب موضع که مبتلا به RA می باشد ممکن است در اثر آپوپتوزیس (مرگ برنامه ریزی شده و تدریجی سلول) باشد .

علائم و نشانه ها

شخصی که دچار آرتریت روماتوئید می شود، هنگام صبح تا چند ساعت دچار خشکی مفصل بوده و حرکت دادن مفاصل برای او ناراحت کننده است .

ورم مفاصل در این افراد بیشتر در مفاصل کوچک و متوسط دست و پا دیده می شود مفاصل تا علت التهاب و ضخیم شدن غشای مفاصل و تجمع مایع در مفصل ، گرم و متورم و دردناک می شوند . این وضعیت به مرور زمان باعث تخریب و تغییر شکل مفصل شده و استخوان و غضروف داخل مفصل را تدریجاً دچار خوردگی میکند . سیر بالینی و شدت بین بیماری در بیماران مختلف متفاوت است . در بعضی افراد بیماری خفیف است و یا سیر آهسته ای دارد . اما در بعضی بیماران بیماری به سرعت پیشرفت می کند و خیلی زود ناتوان می شوند .

شروع آرتریت روماتوئید در ۷۰-۵۰ درصد موارد بی سر و صدا است و بروز آن هفته ها و ماهها به طول می انجامد : درد در این بیماری ماهیت التهابی دارد و در حال استراحت تشدید می شود . مفصل ها معمولاً به صورت قرینه درگیر آرتریت روماتوئید می شوند و بیماری به صورت درد، تورم ، گرمی ، حساسیت و محدودیت حرکتی ظاهر می شود .

عوامل و محرک ها:

عوامل دقیق ابتلا به آرتریت روماتوئید تا امروز بطور کامل مشخص نشده اند . اما تاثیر وراثت ، عفونت ، اضطراب و جنسیت در بسیاری از بیماران مشاهده شده است . جدیدترین یافته های پژوهشگران اینستیتو کارو لینسکای سوئد این موضوع را تایید می کند که علاوه بر بیشتر بودن تعداد مبتلایان زن نسبت به مرد، این بیماری در زنان دردناکتر است و حتی در مواردی که علائم بیماری یکسان نیست، زنان بیش از مردان از این بیماری درد می کشند. بر اساس نتایج تحقیقات این دانشمندان تاثیرات مثبت روش های درمانی استاندارد نیز در مردان بهتر از زنان است. زمینه ی مستعد ژنتیک و وجود سابقه ی خانوادگی ابتلا به آرتریت روماتوئید از عوامل مشاهده شده ی این بیماری است . زمینه ی ژنتیک این شرایط را فراهم می آورد که تعادل طبیعی سیستم ایمنی تحت تاثیر فاکتورهای محیطی به هم بخورد و بدن علیه اجزای سلولی خود آنتی بادی بسازد که در نتیجه موجب پدیده های التهابی میشوند .

از عوامل محیطی، نقش عفونت ها و از عوامل فردی ، تاثیر اضطراب و فشار روانی در تحریک آرتریت روماتوئید همواره مورد بحث بوده است .

در فردی که از جنبه های ژنتیک ، مستعد ابتلا به این بیماری باشد و تحت استرس قرار گیرد، احتمال فعال شدن آرتریت روماتوئید بیشتر است . هر چه استرس های روحی و مشکلات اجتماعی بیمار بیشتر شود، حملات طولانی تر و شدت آن بیشتر می باشد . تشخیص آرتریت روماتوئید عموماً با مشاهده ی علائم بالینی میسر است یافته های آزمایشگاهی غیر اختصاصی هستند و هیچگونه تست آزمایشگاهی وجود ندارد که بتوانیم به تنهایی بطور قطعی بر اساس آن بیماری روماتوئید را تشخیص داد .

با این حال نوعی ایمونوگلوبین در خون وجود دارد که فاکتور روماتوئید خوانده می شود . (RF) وجود این ماده ممکن است در جریان آرتریت روماتوئید مثبت شود . اما منفی بودن آن نیز نمی تواند این بیماری را رد کند . با این حال فاکتور رو ماتوئید در بسیاری بیماران مبتلا به این بیماری وجود دارد و به نظر می رسد در بیمارانی که فاکتور روماتوئید مثبت دارند بیماری سنگین تر است .

این فاکتور در ۵-۲ درصد افراد سالم جامعه بخصوص افراد مسن مثبت است . بنابراین وجود RF در خون فرد به تنهایی نشانه ی چیزی نیست و در مقابل نیز امکان دارد در یک فرد مبتلا ، RF مثبت نباشد . در آزمایش خون بیماری مبتلا به آرتریت روماتوئید معمولاً کم خونی شایع است که به عنوان نشانه ای از فعال بودن بیماری شناخته می شود .

چند تست و مارکر بیماری های التهابی نیز وجود دارد که در بررسی وجود التهاب ، تشخیص و بررسی فعال بودن بیماری نقش دارند . مفاصلی که درگیر آرتریت روماتوئید می شوند، بطور معمول مفاصل کوچک دست ، مخصوصاً بندهای دوم و سوم انگشتان ، مچ دست و پاها ، شانه ، زانو و آرنج است . در این میان ، مچ دست یکی از شایع ترین مفاصلی است که در جریان بیماری، مبتلا شده و در عین حال هر مفصلی ممکن است گرفتار آرتریت روماتوئید شود .

آرتریت روماتوئید یکی از علل نشانگان تونل کارپ است . این نشانگان به علت فشار روی عصب در مچ بروز می کند و با درد و احساس سوزش در انگلشتان یک و دو و سه و نیمی از انگشت چهارم همراه است .

نقش رژیم غذایی در بیماری

در بیماران مبتلا به رماتیسم مفصلی ، پوکی استخوان بیشتر دیده می شود . بنابراین لازم است که این افراد رژیم غذایی خاصی را دنبال کنند .

رژیم غذایی مناسب و با کیفیت مقدار مناسبی کالری و مواد پروتئینی وارد بدن بیمار می کند . این رژیم غذایی شامل لبنیات مانند شیر و ماست است تا ویتامین D و کلسیم مورد نیاز بدن تامین شود .

وجود ماهی و روغن ماهی در وعده های غذایی هفتگی به تناوب لازم است . مصرف سبزی و میوه برای تامین ویتامین های مختلف ضروری بوده و اگر رژیم غذایی به میزان کافی دارای پروتئین و کربوهیدارت باشد ، شخص دیگر نیازمند مصرف قرص های تقویتی نیست . تغذیه مناسب در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید به منزله ی درمان است . از آنجائیکه این افراد مستعد چاقی، دیابت و افزایش فشار خون هستند ، باید میزان نشاسته و چربی در غذایشان کم باشد و بر وزن خود کنترل داشته باشند . زیرا با افزایش وزن فشار بر مفاصل نیز بیشتر می شود . آرتریت روماتوئید جزو دسته بیماریهای مزمن است و هر چه زودتر نسبت به درمان و کنترل آن اقدام شود، نتیجه بهتری بدست می آید .

در میان افرادی که بیماری آنها در مرحله ی فعال است ، ۱۰ درصد افراد بطور کامل بهبود می یابند و ۳۰-۲۰ درصد وارد مرحله ی حادی می شوند . در این مرحله بیمار نباید فعالیت سنگین داشته باشد . زیرا منجر به افزایش درد و التهاب می شود . با این حال در مرحله ای که بیماری فعال نشده و تحریک پذیری مفاصل بسیار بالا نیست، ورزش سبک مانند قدم زدن در جای هموار ، موجب می شود قدرت عضلانی و حرکت مفصل تا حد امکان حفظ شده و خشکی مفصل کاهش یابد .

فردی که دچار آرتریت روماتوئید است باید بین فعالیت و استراحت و ورزش تعادل برقرار کند . ضعف و خستگی زودرس از نشانه های روماتیسم مفصلی هستند که ممکن است با تب و بی اشتهایی نیز همراه باشند

التهاب ناشی از عملکرد دستگاه ایمنی در این بیماری گاهی چشم و رگ های خونی را درگیر می کند بنابراین با توجه به عوارض داروهای ضد التهاب، فرد بیمار بهتر است حداقل هر شش ماه یک بار برای معاینه ی چشم به پزشک مراجعه کند .

درمان :

از آنجاکه التهاب می تواند منجر به تخریب مفاصل درگیر و در نتیجه بد شکلی آنها شود ، درمان دارویی آرتریت روماتوئید با هدف کاهش و رفع التهاب انجام می گیرد . داروهای مورد نیاز برای این بیماریها داروهایی

هستند که تنظیم کننده و تعدیل کننده ی سیستم ایمنی بدن هستند . این داروها در طولانی مدت عوارضی مانند پوکی استخوان و شکستگی های استخوانی را به دنبال دارند .

هدف از درمان در این بیماری ، کنترل درد و حفظ توانایی فرد برای کار و زندگی است . اولین داروهایی که در این زمینه کاربرد دارند ، دسته داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی مانند آسپرین ، ایبوبروفن ، ایندومتاسین هستند . البته در دوز خاص و تحت نظر پزشک مورد استفاده قرار می گیرند . زیرا ممکن است منجر به عوارض گوارشی مانند خونریزی معده شوند . تزریق داخل مصرفی آمپولهای کورتون از درمان های مناسب و موثر برای آرتریت روماتوئید است و استفاده ی هر شش ماه آنها موثر است . تزریق مفصلی تنها زمانی کمک کننده است که تعداد مفصل درگیر کم باشد و البته بیش از سه تزریق در سال نباید انجام شود .

اگر چه تاکنون اقدامات پژوهشی قابل ملاحظه ای برای فهم علت آرتریت روماتوئید و پیامدهای آن انجام شده اما همچنان علت زمینه ای آن ناشناخته است . پزشکان معتقد هستند که مانند بسیاری بیماری های دیگر، در صورت وجود ارتباط خوب بین پزشک و بیمار، حمایت خانواده و مصرف به موقع داروها، ناتوانی بیمار حتی در موارد حاد کاهش پیدا می کند و بیمار می تواند با کیفیت بهتری زندگی کند .

تعریف مکانیسم ایمونولوژیک :

مکانیسم ایمونولوژیک ضایعات بافتی در این بیماری جزء واکنش های افزایش حساسیت تیپ ۳ (TYPE III) محسوب می شود که در نتیجه تشکیل کمپلکس Igg و اتو آنتی بادی ضد آن و رسوب در مفاصل سینوویوم (Synovium) و فعال شدن راه کلاسیک سیستم کمپلمان ، ضایعات بافتی بوجود می آیند . در سرم حدود ۸۸ - ۶۰ درصد بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید ، اتو آنتی بادی igm به نام فاکتور روماتوئید (Rheumatoid Factor) .R.F برضد ناحیه FC مولکول های igg انسان و خرگوش ظهور می کند . این دسته بیماران را اصطلاحاً سرم مثبت (Seropositive) می گویند که بوسیله روش های متداول آزمایشگاهی تشخیص داده می شوند تقریباً تمام بیمارانی که دارای فاکتور روماتوئید از کلاس IgM می باشند دارای فاکتور روماتوئید از کلاس IgG و سایر کلاس ها نیز می باشند . بعضی بیمارانی که ظاهراً سرمشان فاقد فاکتور روماتوئید است ، چنانکه سرم آنها را از روی ستون کروماتوگرافی ژل (GEL) مانند سفادکس (Sephadex G-200) همراه با بافر اسیدی عبور دهیم می توان فاکتور روماتوئید کلاس Igm را از سرم شان جدا کرد . به نظر می رسد ناحیه ای که آنتی بادی به آنتی

ژن متصل می شود (Antigen Combining Sites) بوسیله IgG خودی پوشیده شده و در نتیجه فاکتور روماتوئید در سرم این بیماران قابل تشخیص نمی باشد ولی پس از عبور از روی ستون کروماتوگرافی این مولکول ها از یکدیگر جدا می شوند . فاکتور روماتوئیدی که بدین صورت از سرم جدا می شود به نام فاکتور روماتوئید نهفته (Hidden R.F.) نامیده می شود .

حدود ۲۰٪ بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید ، با روش های متداول آزمایشگاهی ، فاکتور روماتوئید در سرم شان تشخیص داده نمی شود و اصطلاحاً آنها را سرم منفی (Seronegative) می گویند . فاکتور روماتوئیدی در سرم اکثر این گروه بیماران از کلاس های IgG منومر IgM (۷۵ IgM) ، IGA و یا IGE می باشد و با عبور سرم از روی ستون کروماتوگرافی ژل همراه با بافر اسیدی هم نمی توان موفق به جدا کردن فاکتور روماتوئید در این دسته از بیماران گردید .

ظهور فاکتور روماتوئیدی از کلاس IgG در سرم و افزایش آن ، دلالت بر پیشرفت بیماری ، از کلاس IgA نشان دهنده بروز ضایعات مفصلی و ۵۰ درصد بیمارانی که ضایعات واسکولیت در این بیماری دارند دارای فاکتور روماتوئیدی از کلاس IgE می باشند .

فاکتور روماتوئید کلاس IgM در اکثر بیماران از نوع پلی کلونال است . به عبارت دیگر ، شاخص های ایدیوتایپ این فاکتور ، هتروژن است . فاکتور روماتوئید منوکلونال IgM ، در بیماران مبتلا به Cryoglobulinemia Mixed Essential و Macroglobulinemia Waldenstroms شناسائی شده است . تاکنون سه گروه شاخص های ایدیوتایپ منوکلونال به نامهای ، Bla ، Wa و Po شناخته شده که اکثراً از نوع WA می باشند .

در بعضی از بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید ، علاوه بر فاکتور روماتوئید پلی کلونال ، دارای نوع منوکلونال گروه WA نیز هستند . هنوز اهمیت و ارتباط شاخص های ایدیوتایپ فاکتور روماتوئید ، با بیماری ها شناخته نشده است .

فاکتور روماتوئیدی ممکن است بر علیه شاخص های آلوتیپ Igg بوجود آید . در این صورت آنرا Rheuniatoid Agglutinant یا به اختصار سرم Ragg گویند .

علل بیماری :

تاکنون علت واقعی بیماری آرتریت روماتوئید شناخته نشده است ولی عوامل زیر زمینه را برای ایجاد بیماری و یا تشدید بیماری مستعد می کنند :

۱) عامل ژنتیک : افرادی که دارای آنتی ژن سازگاری بافتی Hla-Dr4 و Hla-D4 می باشند مستعد این بیماری هستند زیرا که این آنتی ژنها در این بیماران شایع است . به علاوه مبتلایان به آرتریت روماتوئید که دارای این آنتی ژنهای سازگاری بافتی می باشند در مقایسه با مبتلایانی که فاقد این آنتی ژنها هستند به شکل شدیدتر بیماری مبتلا می گردند . بیشتر افراد مذکری که بعد از سن هشت سالگی مبتلا به آرتریت روماتوئیدی می شوند دارای HLA-B27 می باشند .

۲) عامل هورمونی : این بیماری به نسبت ۳ به ۱ در زنان به علت وجود هورمون های استروژنی بیشتر از مردان و بخصوص در سنین ۴۵ – ۳۵ سالگی بروز می کند .

۳) عامل روان – تنی (Psychosomatic) : افسردگی و فشارهای روحی (Stress) موجب تشدید بیماری می شود .

۴) عامل ویروسی : در سطح سلول های لمفوسیت B ، گیرنده برای ویروس (Epstein-Barr Virus) به طور طبیعی به نام CR2 یا CD21 وجود دارد . این ویروس برای سلول های لمفوسیت B خاصیت میتوژنی دارد و به عبارت دیگر موجب تحریک پلی کلونالی این سلول ها می شود . ویروس EBV قادر است که در محیط کشت ، سلول های لمفوسیت B را وادار به ترشح فاکتور روماتوئید نماید . به نظر می رسد که در افراد طبیعی ، سلول های لمفوسیت کمکی " CD4 + TCELLS " با ترشح انترفرون گاما از فعالیت ویروس جلوگیری می کنند ولی در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید به علت نقصی که در این دسته از سلول ها می باشد ، انترفرون گاما ترشح نشده و در نتیجه ویروس EBV ، لمفوسیت های را وادار به ترشح فاکتور روماتوئید می نماید .

در سرم تعداد قابل ملاحظه ای از بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید نوعی آنتی بادی رسوبی (R.A. Precipitin Antibody) پیدا کرده اند که با هسته سلول های انسانی لمفوبلاست سرطانی (Lymphobtastic Cellline) آلوده به ویروس EBV ، واکنش نشان می دهد . از آنجائی که این آنتی بادی در

سرم تعدادی از افراد سالم نیز دیده شده است ، بنابراین نقش این ویروس در بیماری زائی آرتریت روماتوئید هنوز مورد تردید می باشد .

یادآوری می شود که تاکنون میکروارگانیسم های Mycoplasma Hominis ، Streptococcus Aglactiace و Clostridium Perfringens به عنوان عامل بیماری آرتریت روماتوئید معرفی شده ولی تاکنون هیچیک از آنها تائید نشده اند . اخیراً نیز نقش سایر ویروس ها خصوصاً Parvovirus B19 در اتیولوژی این بیماری مطرح شده است .

۵) عامل آلرژیک : این عامل نیز ممکن است در تظاهرات بیماری دخالت کند زیرا که در مواردی دیده شده که آلرژن های غذائی موجب تشدید بیماری شده اند .

۶) عامل تغذیه ای : بررسی های انجام شده نشان داده است که تظاهرات بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید با خوردن روغن ماهی تخفیف می یابد . روغن ماهی احتمالاً تولید پروستاگلاندینها را کاهش می دهد .

پروستاگلاندینها و لوکوترینهای مترشحه از سلول های التهابی ، نقش عمده ای در ایجاد التهاب دارند . اخیراً با تغذیه از کلاژن تیپ دو (Typell Collagen) مرغ برای کاهش ضایعات آرتریت روماتوئید استفاده می شود .

کلاژن تیپ دو ، ماده اصلی غضروف را تشکیل می دهد و به علاوه در سینوویوم (Synovium) نیز وجود دارد .

حدود ۵۰ درصد مبتلایان به آرتریت روماتوئید ، در مایع مفصلی دارای پلاسموسیت های تولید کننده آنتی بادی ضد کلاژن تیپ دو می باشند . به نظر می رسد که در صورتی که مقدار و دفعات تغذیه با کلاژن تیپ دو درست انجام شود ، سبب افزایش سلول های مهار کننده CD8 + TS CELL شده و از طریق دهان نسبت به کلاژن تیپ دو ایجاد تحمل (Oral Tolerance) می شود . حکمای قدیم ایران نیز احتمالاً خوردن سوپ پای مرغ را بر همین اساس برای درمان بیماری های مفصلی تجویز می کردند .

۷) تولید IgG غیر طبیعی : تئوری های زیادی در مورد تولید IgG غیرطبیعی توسط سلول های لمفوسیت B در ناحیه سینوویال مطرح شده است ولی تاکنون عامل هیچیک از این تئوری ها اثبات نشده است . در افراد سالم حدود ۱۴٪ مولکول های IgG فاقد قند گالاکتوز در ناحیه FC می باشند ، ولی در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید این نسبت ۶۰٪ می باشد . بنابراین احتمال دارد نقص در گلیکوزیلاسیون (Glycosylation) موجب تولید IgG غیرطبیعی شود و در نتیجه سیستم ایمنی میزبان بر علیه آن تحریک شده و سبب ایجاد فاکتور

روماتوئید می شود . مولکول های IgG غیرطبیعی به صورت پلی مر و یا به صورت کمپلکس با فاکتور روماتوئیدی ، سیستم کمپلمان را فعال کرده و در نتیجه واکنش های التهابی در حفره سینوویال مفاصل آغاز می شود .

غربالگری بر اساس مارکرهای مختلف خونی

تست آزمایشگاهی که بتواند به تنهایی آرتریت روماتوئید را مشخص کند وجود ندارد اما سابقه و معاینات فیزیکی بیمار به کمک تعدادی از تست های ازمایشگاهی پزشک را در تشخیص نهایی کمک می کند .

ظهور اتوآنتی بادی (Rheumatold Factor – Rf) اولین و عمومی ترین تستی است که به صورت غیراختصاصی برای غربالگری اولیه بیماران استفاده می شود .

Crp – Creactive Protein : این تست نیز یک تست عمومی برای غربالگری است . در این بیماران جواب این تست مثبت است اما اختصاصی نیست .

Esr Erythrocyte Sedimcntation Rate : در این بیماران مقدار ESR افزایش دارد که مانند دیگر بیماری های التهابی است .

Ferritin : مانند دیگر بیماری های التهابی سطح سرمی آن افزایش می یابد .

CBC : جهت بررسی پارامترهای خونی .

آنالیز مایع مفصلی

کرایو گلویونین ها

تست هایی که برای بررسی عوارض جانبی ناشی از درمان مورد استفاده قرار می گیرند عبارتند از :

Kidney function tests

Livea and muscie enzyme tests cpk-aidoias

Bone Density Tests Osteoporosis برای بررسی تحلیل استخوانی)

تست های اختصاصی به ترتیب اهمیت عبارتند از :

۱ - Anti Ccp Ab Anti Cyclic Citrullnated Peptide Antibody : اخیراً مارکر سرمی جدیدی به نام ANTI-CCP با ویژگی بیش از ۹۵٪ و حساسیت ۸۰٪ برای آرتریت روماتوئید مورد استفاده قرار می گیرد . برای

تشخیص این مارکر سرمی الایزا استفاده می شود و وجود آنتی بادی بر علیه Citrirullinated Peptide Cyctic در خون بررسی می گردد . این اتوآنتی بادی توسط سیستم ایمنی در پاسخ به تحریک ناشی از وجود سیترولین در ساختمان پروتئین های بدن تولید می شود (سیترولین اسید امینه ای است که از دامیناسیون ارژنین به وجود می آید و وجود آن در ساختمان پروتئین ها غیرطبیعی است) .

طبق نظر Acr Amencan Colteague Of Romathuiogy در حدود ۹۵٪ بیماران با Anti-Ccp مثبت در آینده علائم آرتریت روماتوئید را نشان خواهند داد .

موارد کاربرد Anti-Ccp :

تشخیص RA در مراحل اولیه التهاب سینوویوم

افتراق RA از سایر آرتریت های التهابی

افتراق RA از سایر بیماری های همبند مانند SLE

تأئید تشخیص RA در بیمارانی که RF منفی می باشند (Seronegative Rf)

آنتی بادی ANTI-CCP نباید به عنوان آزمایش غربالگری مورد استفاده قرار گیرد .

۲ - Anti-Mcv-Ab Anti Mutated Citrillinated Vimeritin : این تست نیز همانند ANTI-CCP به دوش آلایزا و با حساسیت ۷۲٪ و اختصاصیت ۹۹/۷٪ در سال های اخیر مورد استفاده قرار می گیرد و دارای شباهت های بسیاری با ANTI-CCP می باشد و به موازات هم به عنوان تست اختصاصی دیگر در تشخیص RA کاربرد دارد .

۳ - Ds-Dna Double-Stranded Dna Ana Antinuclear Antibody : همانند سایر بیماری های اتوایمیون امکان مثبت شدن این ۲ تست نیز وجود دارد .

۴ - تغییرات میزان اجزای کمپلمان (C4-C3-CH50) : در این بیماری میزان C4 ، C3 و CH50 پایین می آید.

یافته های عمده آزمایشگاهی ایمونولوژیک دربیماران مبتلابه آرتریت روماتوئید:

۱) فاکتور روماتوئید : تشخیص فاکتور روماتوئید در سرم و یا در مایع مفصلی متداولترین و ساده ترین راه متمایز کردن بیماری آرتریت روماتوئید از سایر بیماری های مزمن التهابی آرتریتی (Chronic Inflammatory Arthritides) می باشد .

۲) آنتی بادی های ضد هسته (ANA) Antinuclear Antibodies : این آنتی بادی ها در سرم ۲۸ – ۱۴ درصد بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید پیدا می شود . آنتی بادی های ضد هسته معمولاً در سرم بیماران پیشرفته یافت می شود ولی تظاهرات بیماری در بیمارانی که از نظر ANA مثبت یا منفی هستند با یکدیگر تفاوتی ندارند .

۳) کمپلکس های ایمنی (Immune Complexes) : سرم بیمارانی که از نظر کرایوگلبولین های مختلط (Mixed Cryoglobulins) مثبت می باشند ، دارای مقادیر زیادی ایمیون کمپلکس هستند . در این بیماران ، تظاهرات خارج مفصلی (Extra-Articular) خصوصاً التهاب عروق یا واسکولیت (Vasculitis) شایع می باشد . از طرف دیگر ، بروز واسکولیت دلالت بر وجود کمپلکس های ایمنی متشکل از فاکتور روماتوئیدی کلاس IgG و IgM ۷۵ همراه با IgG خودی در سرم بیمار می کند .

۴) کمپلمان : مقدار کمپلمان سرم (C3 ، C4 ، CH50 و AH50) در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید معمولاً طبیعی یا افزایش می یابد . بر عکس در بیمارانی که واسکولیت بروز می کند مقدارش کم می شود زیرا که کاهش مقدار کمپلمان معمولاً همراه با افزایش بیش از حد فاکتورهای روماتوئیدی و کمپلکس های ایمنی می باشد . کاهش مقدار کمپلمان در مایع سینوویال خصوصاً در بیمارانی که سرم مثبت (Seropositive) هستند از مشخصات عمده این بیماری می باشد . مقدار کمپلمان در مایع سینوویال مبتلایان به استئوآرتریت (Osteoarthritis) حدود یک سوم کمپلمان سرم می باشد ، و این کاهش دلالت بر مصرف موضعی کمپلمان دارد . بهتر است که مقدار کمپلمان مایع مفصلی و سرم را در یک زمان اندازه گیری کرد تا بتوان نتیجه آزمایش را مقایسه و تفسیر نمود .

سایر یافته های آزمایشگاهی ایمونولوژیک دراین بیماران به قرار زیر می باشد :

اتوآنتی بادی های دیگری معمولاً در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید یافت می شوند . در سرم حدود ۶۰٪ این بیماران آنتی بادی های ضد کلاژن دیده می شود . کمپلکس های کلاژن و آنتی کلاژن را در سلول های سینوویال به وسیله تکنیک ایمونوفلوئورسانس می توان مشاهده نمود . در سرم نیمی از بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید ، آنتی بادی های سرد (Cold-Reacting-Antibodies) بر ضد لمفوسیت ها دیده می شود .

کرایوگلوبولین های مختلط در مایع مفصلی و سرم بعضی از این بیماران دیده شده است. حدود ۵٪ مبتلایان به آرتریت روماتوئید دارای آنتی بادی رآژین سفیلیسی می باشند .

حدود ۵۸/۸ – ۴۲ درصد بیمارانی که سرم مثبت (Seropositive) هستند به آنتی ژن دی نیتروکلروبنزن (Dncb) حساس نمی شوند و با تست پوستی نسبت به این آنتی ژن واکنش نشان نمی دهند و در نتیجه آنرژیک (Anergic) هستند . آزمایش ASO (Anti-Streptolysin "O") در حدود ۳۰٪ بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید افزایش تیتر نشان می دهد .

الکتروفورز سرم بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید ممکن است افزایش پلی کلونال در منطقه گاماگلوبولین و آلفا – ۲ – گلوبولین و بر عکس کاهش آلبومین را نشان دهد .

آزمایش های متداولی که برای تشخیص بیماری آرتریت روماتوئید انجام می شود شامل اندازه گیری سرعت رسوب گلبول های قرمز (ESR) Erythrocyte Sedimentation Rate که در این بیماران تقریباً با وخامت بیماری افزایش می یابد ، ظهور و افزایش پروتئین (CRP) C-Reactive Protion ، تغییرات مقدار اجزای کمپلمان (C4 و C3) و ظهور اتوآنتی بادی های فاکتور روماتوئیدی و آنتی بادی های ضد هسته می باشند .

روش های تشخیص فاکتور روماتوئید

اولین بار سیسیل (Cecil) و همکاران در سرم بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید ماده ای را کشف کردند که با ایمونوگلوبولین واکنش نشان می داد . این یافته به وسیله والر (Waaler) و پژوهشگر دیگری به نام روز (Rose) و همکاران ، مستقلاً کشف و تأئید گردید . این محقین آزمایش را به نام روز – والر برای تشخیص آنتی گاماگلوبولین یا فاکتور روماتوئید در سرم پایه ریزی کردند که تا مدتها متداول بود . در این آزمایش از گلبول های قرمز گوسفند که با IgG خرگوش ضد آن ، حساس شده بود (IgG Rabbit Anti-Sheep R.B.C) به عنوان آنتی ژن استفاده می کردند . از آنجائی که گلبول های قرمز طول عمر کوتاهی دارند ، امروزه روش دیگری متداول

است که به نام روش R.A.-LATEX می باشد ، و اولین بار توسط سینگر (SINGER) و پلوتز (Plotz) ابداع گردید . در این روش آنتی ژنی که به کار می برند IgG طبیعی انسان می باشد که به ذرات پلی استیرن (Polystyrene) لاتکس با پیوند اشتراکی (Covalence) متصل شده است . روش روز – والر اختصاصی تر از روش لاتکس می باشد ولی حساسیت آن برای تشخیص فاکتور روماتوئیدی ، کمتر از روش لاتکس می باشد . به عبارت دیگر روش روز – والر بیشتر در بیماری آرتریت روماتوئید مثبت می شود و مثبت کاذب کمتری دارد ولی روش لاتکس ممکن است در بیماری های دیگر نیز مثبت شود . . از آنجائی که هر دوی این روش ها بر اساس آگلوتیناسیون پاسیو می باشند ، معمولاً فاکتور روماتوئید از کلاس IgG که پنتامر می باشد در سرم قابل تشخیص است .

مشکل تشخیص فاکتورهای روماتوئیدی کلاسهای IgG ، IgM ۷۵ ، IgA و IgE با روش های متداول به دلایل زیر می باشد :

۱) این فاکتورها دو ظرفیتی هستند و تشکیل شبکه آگلوتیناسیون با آنتی ژن های درشت مانند لاتکس و گلبول های قرمز گوسفند متصل IgG به در مقایسه با فاکتور روماتوئیدی IgM بسیار مشکلتر است .

۲) فاکتور روماتوئیدی کلاس IgG که در حقیقت یک اتوآنتی بادی بر ضد FC مولکول های IgG می باشد ، تمایل زیادی به پلی مر شدن و متصل شدن به یکدیگر را دارند . در نتیجه تشخیص مولکول های به هم چسبیده فاکتور روماتوئیدی با روش های متداول میسر نمی باشد . اگر بوسیله آنزیم پپسین این مولکول ها را از یکدیگر جدا کنند آنگاه تشخیص فاکتور روماتوئیدی امکان پذیر خواهد بود . این کار در آزمایشگاههای تشخیص بالینی میسر نخواهد بود .

امروزه روش های حساستری مانند الیزا (ELISA) ، رادیوایمونواسی (RIA) ، توربیدیمتری و نفلومتری برای تشخیص و اندازه گیری روماتوئیدی ابداع شده است .

آزمایش آرا . لاتکس (R.A.Latex Test)

مواد و وسایل لازم :

۱) آنتی ژن – شامل IgG انسانی که به ذرات لاتکس توسط مؤسسه سازنده چسبیده شده است . این آنتی ژن باید در ۲ تا ۸ درجه سانتی گراد یخچال نگهداری شود و هرگز منجمد نشود . حساسیت این ذرات برای تشخیص حداقل فاکتور روماتوئید در سرم با استاندارد سرم سازمان بهداشت جهانی آزمایش شده و در بروشور مؤسسه تولید کننده نوشته شده است .

۲) سرم کنترل مثبت .

۳) سرم کنترل منفی .

۴) بافر نمکی گلیسین PH = 8.2 (Glycine Bufferd Saline) - برای تهیه این بافر در یک بالن حجمی ۲ لیتری مقدار ۱۵ گرم هیدروکلریدگلیسین و ۲۰ گرم نمک طعام اضافه کرده و حجم آنها را به نزدیک ۲ لیتر با آب مقطر برسانید . سپس PH آنرا با اضافه کردن حدود ۳ تا ۴ میلی لیتر سود سوزآور (Naoh) یک مولار در ۸/۲ تنظیم کنید . در پایان حجم نهائی بافر را با آب مقطر به ۲ لیتر برسانید . این بافر را باید در یخچال ۲ تا ۸ درجه سانتی گراد نگهداری کرده و در صورت آلودگی و یا کدر شدن آنرا دور ریخت . در صورت لزوم جهت جلوگیری از آلودگی می توانید ۰/۱ درصد سدیم از ید به آن اضافه کنید .

۵) لام شیشه ای که به چند قسمت خط کشی شده است . چنانکه زمینه لام مشکی باشد ، آگلوتیناسیون ذرات لاتکس واضح تر نمایان می شود . بقایای صابون و مواد پاک کننده نباید روی لام باشد زیرا ممکن است در آزمایش مداخله کند .

۶) اپلیکاتور چوبی .

۷) بن ماری ۵۶ و ۳۷ درجه سانتی گراد .

۸) لوله های آزمایش به ابعاد ۱۲ * ۷۵ میلی متر .

۹) پی پت سرولوژی یک و دو میلی لیتری به تقسیمات ۰/۱ سی سی .

الف : روش آزمایش کیفی سریع بر روی لام :

۱) ابتدا سرم بیمار را به مدت ۳۰ دقیقه در حرارت ۵۶ درجه سانتی گراد بن ماری قرار داده تا کمپلمان آن غیرفعال شود .

۲) سپس ۰/۱ میلی لیتر سرم حرارت دیده را با ۱/۹ میلی لیتر بافر نمکی گلیسین رقیق کرده تا تیتر ۲۰ : ۱ از سرم حاصل شود .

۳) در سه نقطه لام یک قطره درشت (۰/۰۵ میلی لیتر) از سرم رقیق شده بیمار ، سرم کنترل مثبت و منفی قرار دهید .

۴) به هر یک از قطرات سرم های فوق ، یک قطره آنتی ژن لاتکس اضافه کرده و با اپلیکاتورهای چوبی جداگانه آنها را مخلوط و به اندازه دایره ای به قطر ۲/۵ سانتی متر پهن کنید . توجه کنید ابدا درجه حرارت سرم و آنتی ژن به اندازه محیط آزمایشگاه برسند و قبل از مصرف آنتی ژن ، ذرات لاتکس را با تکان ملایم به صورت یکنواخت درآورید .

۵) نتیجه آگلوتیناسیون را در عرض یک تا حداکثر سه دقیقه در زیر نور چراغ مطالعه بخوانید . چنانکه هیچ آگلوتیناسیونی مشاهده نشد بصورت منفی (Negative) ، و در صورتی که آگلوتیناسیونی دیده شد به صورت مثبت (Positive) و شدت آن را به ترتیب از کم ، تا حداکثر گزارش نمائید .

ب) روش آزمایش کمی در لوله :

روش انجام آزمایش کمی اندازه گیری فاکتور روماتوئیدی با آنتی ژن کارخانه های مختلف ، اختلاف جزئی با یکدیگر دارند . ذیلاً با استفاده از آنتی ژن لاتکس – گلوبولین شرکت هایلند (Hyaland Co.) اندازه گیری کمی فاکتور روماتوئید شرح داده می شود :

۱) در یک جا لوله ای ۱۰ خانه ای دو ردیفی ، در یک ردیف ده لوله و در ردیف دیگر نه لوله آزمایش به اندازه ۱۲ * ۷۵ میلی متر قرار دهید .

۲) با یک پیپت دو سی سی مقدار ۱/۹ سی سی از بافر نمکی گلیسین به لوله شماره یک و ده ، ردیف اول و لوله شماره یک ردیف دوم بریزید . سپس به سایر لوله های ردیف اول و دوم مقدار یک سی سی از این بافر بریزید .

۳) مقدار ۰/۱ سی سی سرم بیمار حرارت داده را به لوله شماره یک ردیف اول اضافه کرده و پس از مخلوط با بافر ، مقدار یک سی سی آنرا به لوله شماره ۲ و همین طور تا لوله شماره ۹ یک سی سی به لوله بعدی از لوله قبلی منتقل نمائید . از لوله شماره ۹ یک سی سی بدور بریزید .۴) مقدار ۰/۱ سی سی از سرم کنترل منفی به بافر لوله شماره ده ردیف اول اضافه کرده و پس از مخلوط کردن ، مقدار یک سی سی آنرا دور بریزید .

۵) مقدار ۰/۱ سی سی از سرم کنترل مثبت را به لوله شماره یک ردیف دوم اضافه کرده پس از مخلوط با بافر ، مقدار یک سی سی از آنرا به لوله شماره دو و سپس همینطور تا لوله شماره نه یک سی سی از لوله قبلی به لوله بعدی اضافه کنید . از لوله شماره نه یک سی سی دور بریزید تا حجم نهائی تمام لوله ها در دو ردیف یک سی سی بشود .

۶) رقت هر یک از لوله های دو ردیف به قرار زیر است :

رقت	شماره لوله
۱ : ۲۰	۱
۱ : ۴۰	۲
۱ : ۸۰	۳
۱ : ۱۶۰	۴
۱ : ۳۲۰	۵
۱ : ۶۴۰	۶
۱ : ۱۲۸۰	۷
۱ : ۲۵۶۰	۸
۱ : ۵۱۲۰	۹
کنترل منفی	۱۰

۷) سپس به تمام لوله های آزمایش با قطره چکان سرشیشه ، یک قطره آنتی ژن لاتکس گلبولین اضافه کنید .

۸) جا لوله ای را با دست تکان داده تا به خوبی سرم و آنتی ژن مخلوط شوند و سپس آنرا به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۷ دجه سانتی گراد قرار دهید .

۹) تمام لوله ها را در دور ۹۰۰ تا ۱۰۰۰ در دقیقه به مدت یک دقیقه سانتریفوژ کنید .

۱۰) لوله ها را به ترتیب در جا لوله ای قرار داده و جا لوله ای را به آرامی تکان داده تا رسوب لوله ها پراکنده شود .

۱۱) آگلوتیناسیون یا عدم آگلوتیناسیون را به طور ماکروسکوپی در هر یک از لوله ها مشاهده و تیتر نهائی سرم را یادداشت نمائید . حداکثر رقت سرمی که ایجاد آگلوتیناسیون واضحی نماید تیتر واقعی سرم است .

لوله شماره ده کنترل منفی است و باید به صورت سوسپانسیون یکنواخت مشاهده شود . در صورتی که ذرات متراکم و مجزا در این لوله دیده شود ، باید آزمایش را تکرار کرد.

لوله های ردیف دوم ، کنترل مثبت هستند و باید حداقل در ۳ لوله اول (رقت ۸۰ : ۱) آگلوتیناسیون مشاهده شود . اگر در این لوله ها آگلوتیناسیون دیده نشد باید آزمایش را تکرار کرد . اگر با تکرار آزمایش باز هم در لوله های کنترل ، جواب صحیحی حاصل نشد ، احتمالاً آنتی ژن فاسد است و آنتی ژن دیگری را باید مصرف کرد .

تبصره : بعضی از شرکت های سازنده آنتی ژن لاتکس – گاماگلوبولین پیشنهاد کرده اند که پس از رقیق کردن سرم ها در لوله های آزمایش ، با هر کدام از این رقت ها مانند روش کیفی یک قطره برداشته و آزمایش را روی لام انجام دهید . رقیق ترین لوله ای از سرم که مثبت شود تیتر فاکتور روماتوئید آن سرم می باشد .

تفسیر آزمایش تشخیص فاکتور روماتوئید

تجربه نشان داده است روش کیفی و سریع روی لام برای تشخیص فاکتور روماتوئیدی ، وقتی که نمونه سرم فاقد این فاکتور است ، بهتر از روش لوله جواب می دهد ، در صورتی که در تیتر پایین فاکتور روماتوئیدی ، روش لوله بهتر جواب می دهد .

وقتی که تیتر فاکتور روماتوئیدی سرم بالا باشد هر دو روش لام و لوله خوب جواب می دهند . اگر تیتر فاکتور روماتوئیدی سرم کمتر از ۲۰ : ۱ باشد منفی قلمداد می شود . تیتر ۲۰ : ۱ تا ۴۰ : ۱ مشکوک یا مثبت ضعیف و تیتر ۸۰ : ۱ و بالاتر مثبت می باشد . تیتر بالای فاکتور روماتوئیدی حدود ۳۲۰ : ۱ یا بالاتر معادل ۳۰۰ واحد بین المللی در میلی لیتر سرم در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید با ظهور گره های زیرپوستی (Subcutaneous Nodules) و ضایعات خارج مفصلی بخصوص واسکولیت و همچنین سندروم شوگران دیده می شود .

از آنجائی که حدود ۲۰٪ بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید با روش های موجود آزمایشگاهی فاکتور روماتوئیدی در سرم آنها تشخیص داده نمی شود ، بنابراین منفی شده این آزمایش دلالت بر سالم بودن قطعی شخص نمی باشد . حدود نیمی از مبتلایان به آرتریت روماتوئید که بیماری آنها در حال فروکش کردن (

Remission) است ، فاکتور روماتوئید در سرم آنها ناپدید می شود ، در صورتیکه ۲۵ درصد بقیه ، دارای تیتر بالائی هستند .

حدود ۴ – ۱ درصد سرم افراد طبیعی از نظر فاکتور روماتوئیدی با روش لاتکس مثبت می شوند ، در صورتی که این نسبت با روش روز – والر فقط یک درصد می باشد . به همین دلیل است که حساسیت روش لاتکس بیشتر از روز – والر است .

در افراد مسن ۶۵ سال فاکتور روماتوئیدی در سرم حدود ۲۰٪ آنها و ۷۵ سال بیش از ۴۰ درصد با روش لاتکس مثبت می شوند . در یک گزارش ادعا شده است که یک پنجم افراد سالمی که فاکتور روماتوئید آنها مثبت ضعیف تشخیص داده شده و چهار پنجم افراد سالمی که مثبت قوی هستند ، در عرض ۵ سال مبتلا به آرتریت روماتوئید می شوند . بستگان بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید ، ۷ بار بیشتر از افراد طبیعی ، فاکتور روماتوئید در آنها مثبت است و بستگان درجه یک بیمارانی که به فرم شدید بیماری آرتریت روماتوئید مبتلا هستند ۳ برابر افراد دیگر به این بیماری مبتلا می شوند . از آنجائی که در بعضی وضعیتهای حاد واکنشهای ایمنی مانند منونوکلئوز عفونی یا بیماران کهنسال (Geriatrics) ممکن است مقدار فاکتور روماتوئید افزایش قابل ملاحظه ای پیدا کند ، بنابراین تفسیر بالینی یک آزمایش مثبت باید با احتیاط صورت بگیرد .

اگر تیتر فاکتور روماتوئید خیلی بالا باشد ، تفسیر آزمایش آسانتر از زمانی است که تیتر آن بین ۲۰ : ۱ تا ۸۰ : ۱ می باشد . در ابتدای بیماری آرتریت روماتوئید تیتر این فاکتور پایین است ولی اغلب ۳۲۰ : ۱ تا ۶۴۰ : ۱ بوده و بعضی اوقات ممکن است تا خیلی بالاتر نیز برود . البته ممکن است مقداری از فاکتور روماتوئیدی کلاس IgM به صورت نهفته باشد و در نتیجه تیتر واقعی این فاکتور در سرم معلوم نشود . فاکتور روماتوئیدی نه تنها در سرم و مایع مفصلی بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید پیدا می شود بلکه ممکن است در سرم سایر بیماری ها نیز دیده شود .

در کرایوگلبولین های خون محیطی بعضی بیماران نوعی آنتی گاماگلبولین دیده می شود که به آن فاکتور روماتوئیدی سرد (Cold Reactive R.F.) می گویند و در ۴ درجه سانتی گراد رسوب می کند (Cryoprecipitate) . این نوع فاکتور روماتوئیدی در بیماران Systemic Lupus Erythematosus

(S.L.E.) ، سندرم شوگران ، منونوکلئوز عفونی و سرطان سلول های سیستم ایمنی وقتی که همراه با واسکولیت باشد ، دیده شده است . فاکتور روماتوئیدی سرد در بیماری آرتریت روماتوئید نیز بوجود می آید .

تشخیص فاکتور روماتوئید در سرم با روش لاتکس اگر چه به دلائل سهولت ، سرعت و کم هزینه بودن آن بسیار متداول است ولی دارای معایب یا مشکلات ذیل نیز می باشد :

۱ - در ماههای اولیه بیماری آرتریت روماتوئید ممکن است فاکتور روماتوئید در سرم دیده نشود ولی در مایع مفصلی ملتهب وجود داشته باشد .

۲ - تقریباً فقط فاکتور روماتوئید از کلاس IgM با این روش شناسائی می شود .

۳ - حدود ۲۰ درصد بالغین مبتلا به این بیماری با روش لاتکس ، سرم منفی (Seronegative)و فقط کمتر از ۲۵ درصد نوجوانان مبتلا به آرتریت روماتوئید (Juvenile Ra) ، سرم مثبت (Seropositive) خواهند شد .

۴ - روش آزمایش کیفی یا سریع روی لام ، یک روش غربالی (Screen Test) است . بررسی های انجام شده نشان داده است که جواب های آن همیشه قابل تکرار (Reproducible) و دقیق نمی باشند . در این روش ، نوع آنتی ژن شرکت سازنده ، تجربه فردی که این آزمایش را انجام می دهد و سایر تمهیداتی که برای انجام آزمایش باید رعایت کرد ، دخالت دارند .

۵ - گاهی ممکن است ، آزمایشاتی که از لاتکس استفاده می شود ، به دلائل زیر مثبت کاذب شوند :

الف) حرارت دادن ناقص سرم بیمار برای غیرفعال کردن کمپلمان ، بویژه وقتی که مقدار Clq سرم بالا باشد . گاهی وقتی که مقدار Clq سرم بالا است ، باعث آگلوتینه شدن ذرات لاتکس شده و در نتیجه به طور کاذب آزمایش مثبت می شود . در اینگونه موارد بندرت تیتر فاکتور روماتوئیدی سرم از ۳۲ : ۱ بالاتر می رود .

ب) بالا بودن غیرطبیعی چربی خون .

ج) بالا بودن مقدار کرایوگلبولین های سرم .

د) خون بیمار باید کاملاً منعقد شود و سپس سرم آن برای آزمایش جدا شود . پلاسما و سرمی که دارای فیبرینوژن باشد ، گاهی می تواند سبب آگلوتیناسیون کاذب ذرات لاتکس گردد .

هـ) اگر PH بافر و یا آنتی ژن ، کمتر از PH = 8.2 باشد ، می تواند ایجاد آگلوتیناسیون کاذب نماید . نقطه آیزوالکتریک (Isoelectric Point) گاماگلبولین برابر PH = 6.6 می باشد . در این PH ، مولکول های گاماگلبولین به یکدیگر چسبیده و به صورت آگلوتیناسیون کاذب نمایان می شود .

تبصره : گاهی تشخیص IgM اختصاصی علیه یک آنتی ژن مثلاً توکسوپلاسما در سرم یک بیمار ، به دلیل همراهی با فاکتور روماتوئیدی کلاس IgM بسیار مشکل و ممکن است بطور کاذب ، IgM ضد توکسوپلاسما مثبت شود ، زیرا همانطوریکه می دانیم ، فاکتور روماتوئیدی علیه می باشد . حال اگر در سرم بیمار IgG اختصاصی علیه آنتی ژن توکسوپلاسما باشد ، به آنتی ژن روی لام متصل می شود . در این صورت فاکتور روماتوئیدی کلاس IgM نیز در این سرم به IgG متصل شده و باعث مثبت کاذب شدن آزمایش می گردد . این وضعیت در تشخیص عفونت های مادرزادی ممکن است بوجود آید ، زیرا که در سرم نوزادان ، گاهی فاکتور روماتوئید کلاس IgM دیده می شود . در اینگونه موارد ، ابتدا باید عدم وجود فاکتور روماتوئیدی کلاس IgM در نمونه سرم اثبات شود و سپس آزمایش تشخیص IgM اختصاصی علیه آنتی ژن مورد نظر انجام گیرد .

آنتی بادی های ضدپپتیدهای حلقوی سیترولینه (Anti Ccp)(Anti Cyctic Citrullinated Peptide)

آرتریت روماتوئید (RA) شایعترین بیماری التهابی مفاصل به شمار میرود . که بطور متوسط حدود ۱٪ جمعیت جوامع مختلف را مبتلا می کند .

RA یک بیماری اتوایمیون با مشخصه اصلی تخریب پیشرونده در مفاصل می باشد . دلایل متعددی وجود دارد که نشان می دهد با تشخیص زودرس و شروع به موقع درمان های مؤثر امروزی ، می توان از تخریب مفاصل و ناتوانی ناشی از آن جلوگیری کرد .

یکی از تستهای با ارزشی که در چند سال اخیر مطالعات زیاد ، اهمیت آن را در تشخیص زودرس RA نشان داده است آنتی بادی های ضد پپتیدهای حلقوی سیترولینه anti (ccp anti cyclic citrullinated peptide) می باشد . (Anti Ccp) (Anti Cyctic Citrullinated Peptide)

سیستم اتوآنتی بادی ضد CCP یک گروه از اتوآنتی بادی ها هستند که واکنش گسترده بر علیه پروتئین های حاوی آرژینین که به سیترولین تغییر یافته اند ، نشان می دهد . این اتوآنتی بادی ها شامل : آنتی پری نوکلئر

فاکتور (APF) ، آنتی کراتین آنتی بادی (AKA) ، آنتی فیلاگرین آنتی بادی (AFA) و آنتی CCP از نوع IgG می باشند .

نتایج تحقیقات مختلف بیانگر این نظریه است که سیترولینه شدن پروتئینها در داخل فضای ملتهب موضع که مبتلا به RA می باشد ممکن است در اثر ایوپتوزیس (مرگ برنامه ریزی شده و تدریجی سلول) باشد .

انجام تست ANTI CCP به روش الایزا انجام می شود که در این صورت ۹۸٪ Specificity در سرم خون بیماران با RA قطعی (Definite Or Established) و ۹۶٪ اختصاصیت در سرم خون بیماران با Ra Eariy (کمتر از یکسال از شروع علایم بیماری) نشان می دهد .

البته RF که تست سرولوژیک استاندارد برای تشخیص RA به شمار می رود فقط ۹۵ – ۹۰٪ Specificity دارد (تنها در روش ELISA ، نه روشهای ضعیف تر دیگر مثل آگلوتیناسیون ، نفلومتری و . . .) . اما RF نوع IgM نه اختصاصی و نه جهت تشخیص RA کاملاً حساس می باشد .

بنابراین تعیین آنتی بادی های ANTI-CCP امکان تشخیص بهتر Early Ra را از سایر پلی آرتریت های التهابی (NON-RA) فراهم می کند .

اگرچه حساسیت تست آنتی بادی CCP کمتر از ۶۸٪ RF در مقابل ۸۰٪ می باشد ، اما آنتی بادی های ضد CCP در سرم خون بیماران RA که RF منفی باشند ، یافت می شود .

در کاربردهای کلینیکی ترکیب آزمایش ANTI-CCP و RF حساسیت سرولوژیک تشخیص RA را بهبود می بخشد . ANTI-CCP IU/ML 75 در سرم ، مثبت تلقی می شود .

سیستم اتوآنتی بادی های ضد CCP ، با RA نوع مخرب (Erosive) و سیر بیماری خیلی شدید ارتباط فراوان دارد بنابراین، سیستم یاد شده می تواند در تصمیم گیری کلینیکی برای درمان RA ، تعیین کننده باشد .

نکته ظریف تر اینکه ANTI-CCP در تعیین افراد مبتلا به RA حتی سالها قبل از شروع علایم و سینوویت مخرب می توان بکار برد (البته در حدود یک سوم موارد بصورت Predictor هستند) .

مسلماً این پیشگویی ابتلا به RA ، همراه در ترکیب با ارزیابی جهت سایر ریسک فاکتورهای پیدایش RA یعنی زمینه مساعد ژنتیک ، سابقه فامیلی مثبت و وجود سایر اتوآنتی بادی ها مؤثرتر خواهد بود .

تحقیقات اخیر نشان می دهد اگر طول مدت بیماری RA کوتاهتر باشد ، با درمان سطح آنتی CCP بیشتر کاهش می یابد .

آنتی بادی های ضد CCP توسط ارزیابی آنزیمی با استفاده از مواد واکنش ایمنی متصل به آنزیم شناسایی می شوند (ELISA) .

حلقوی شدن پپتیدهای سیترولینی در روش ELISA با دقت بیشتری ساختارهای اپی توپهای طبیعی را تقلید می کند و این ویژگی عملکرد شاخص های این آزمایش را به حد اعلا ارتقاء می دهد . اخیراً ، نسل سوم این آزمون (CCP-2) در سرتاسر جهان استفاده می شود .

ارتباط کلینیکی در مقایسه با RF ، آنتی بادی های ضد CCP ، برای تشخیص RF بیشتر اختصاصی می باشند (۹۵٪ - ۹۰٪) همراه با حساسیتی مشابه (۸۵٪ - ۷۵٪) ، نشان داده شده است بیمارانی که نهایتاً به سمت RA پیشرفت می کنند ، ممکن است قبل از آن در بعضی از موارد چند سال قبل علائم آنتی بادی های ضد CCP داشته باشند . بنابراین پیشنهاد می شود که از آنتی بادی های ضد CCP ، برای تشخیص زودتر بیماران با RA از بین بیماران با پلی آرتریت تشخیص داده نشده استفاده شود . مشابه RF ، بیماران با RA با تیترهای بالای آنتی بادی های ضد CCP ، بیشتر به بیماری شدید و همراه با یک پیش آگهی بد ، مانند آسیب مفصلی رادیوگرافیک دچار می شوند . استفاده از آنتی بادی های ضد CCP ممکن است مکمل استفاده از RF باشند .

آنتی CCP در ابتدا به عنوان آنتی بادی پپتیدی ضد حلقوی سیترولینی شناخته شده و توسط تبدیل به آمینو اسید ارنی تین به آرژنین بوجود می آید . این آنتی بادی در اوایل سیر آرتریت روماتوئید در خون اکثر بیماران دیده می شود به طوری که حضور آنتی بادی سیترولینی در خون بیماران نشانه محتمل بودن RA .

بنابراین آنتی CCP خصوصاً در موارد منفی شدن تست های خونی معمولی و نیز تیتراژ منفی یا پائین فاکتور روماتوئیدی در التهابات نامعلوم مفصلی بسیار مهم است .

خیلی از بیماران با RA زودرس به دلیل نداشتن RR از تشخیص دور می مانند ، بنابراین افزایش آنتی CCP در موارد منفی بودن RF بسیار تشخیصی است . این امر بسیار مهم است ، چرا که درمان تهاجمی زودرس RA جهت جلوگیری از تخریب مفصلی بسیار مهم است . گاهی مقادیر آنتی CCP سال ها قبل از شروع با این آرتریت یا افزایش باند آن دیده می شود .

احتمالاً آنتی CCP مستقیماً با پاتوژنی سیتی RA رابطه دارد . پروتئین های سیترولینی در بافت سینوویالی ملتهب RA ایی دیده شده و ممکن است یک مکانیسم هومورال را برای تخریب مفصلی نشان دهنده ی مثبت شدن آنتی نشانه شدیدتر و مخرب تر بودن بیماری است . همچنین یک شاخص برای بیماری پیشرونده است .

عده ای بیماران RA ایی آنتی CCP مثبت را از بیماران RA ایی آنتی CCP منفی جدا می کنند ، به طوری که گروهی اولی پیش آگهی بدتری دارند . بیماران RA ایی آنتی CCP مثبت دارای چندین مفصل متورم و تخریب هر چه بیشتر رادیولوژیکی مفاصل هستند .

CCP ANTIBODIES

بخش انجام دهنده : ایمونولوژی

نوع نمونه قابل اندازه گیری : سرم

حجم نمونه مورد نیاز : ۰ . ۵ ML

شرایط نمونه گیری : نیاز به ناشتایی با شرایط خاصی نمی باشد .

ملاحظات نمونه گیری :

۱ - در هنگام نمونه گیری دقت نمایید تا نمونه بدون همولیز تهیه گردد .

۲ - حدود ۲۰ – ۱۵ دقیقه خون گرفته شده را در دمای اتاق نگه دارید تا خون لخته شود .

۳ - خون لخته شده را به خوبی سانتریفیوژ نمایید و سرم شفاف و بدون همولیز تهیه کنید .

موارد عدم پذیرش نمونه :

۱ - از ذوب و فریز کردن مکرر نمونه بپرهیزید . این امر ممکن است منجر به کاهش در فعالیت اتوآنتی بادی گردد.

۲ - سرم هایی که در معرض حرارت بالا قرار گرفته اند را استفاده نکنید .

۳ - از پذیرش نمونه های شدیداً همولیز شده و لیپمیک و یا کدر اجتناب نمایید .

۴ - لوله های فاقد برچسب یا اتیکت و یا نمونه هایی که برچسب آن با لیست کاری مطابقت ندارد پذیرش ننمایید.

شرایط نگهداری :

۱ - نمونه سرم در دمای یخچال (ترجیحاً) و فریزر تا سه هفته پایدار است .

۲ - پس از ذوب کردن نمونه ، بخوبی آنرا قبل از سنجش مخلوط کنید تا نمونه ای همگن داشته باشید .

۳ - از در معرض قرار دادن معرفهای آزمون در مقابل گرما ، نور خورشید یا نور شدید در مدت نگهداری یا حین کار اجتناب نمایید .

۴ - از آلودگی معرف ها حد امکان اجتناب گردد و پس از مصرف معرف ها آن را در دمای یخچال نگه دارید .

کاربردهای بالینی :

۱ - ارزیابی بیماران مشکوک به آرتریت روماتوئید (RA) و کمک به تشخیص زود هنگام آن .

۲ - پایش میزان پیشرفت بیماران RA .

۳ - افتراق بین بیماری RA از سایر بیماری های التهابی بافت همبند که ممکن است علائم بالینی مشابهی داشته باشند .

روش مرجع EIA :

روش ارجح ELISA :

سایر روشها :

مقادیر مرجع : منفی : 5 U/ML> مثبت : 5 U/ML<

تفسیر : نتایج مثبت به احتمال قوی مؤید ابتلا به بیماری RA می باشد . این تست دارای حساسیت ۷۸ درصدی (با ۵ درصد نتایج مثبت کاذب در گروه کنترل سالم) و اختصاصیت ۹۸ درصدی می باشد . ANTI-CCP همچنین در حدود ۴۰٪ از بیماران با RF منفی ، یافت شده است . نتایج مثبت بالا ANTI-CCP به احتمال زیاد نشان دهنده یک دوره مخرب یا فرسایشی بیماری RA می باشد . سطوح ANTI-CCP ممکن است با شدت فعالیت بیماری در RA مرتبط باشد اما مطالعات بیشتری جهت اثبات آن مورد نیاز است . با انجام تست RF و ANTI-MCV همراه با تست ANTI-CCP اختصاصیت به بالای ۹۹ درصد افزایش می یابد . ANTI-CCP در ارزیابی روماتیسم پالیندرومیک نیز کاربرد دارد .

عوامل مداخله گر :

- نتایج مثبت پپتید آنتی سیکلیک سیترولینه (ANTI-CCP) ممکن است در برخی بیماران مبتلا به لوپوس آریتماتوی سیستمیک و یا دیگر بیماری های خود ایمنی یافت همبند مشاهده گردد (تقریباً ۱۰ درصد موارد) .
- هموگلوبین بالای 4 Mg/ML ، پیلیدوبین بالای 0.2 Mg /ML ، تری گلیسیرید بالای 15 Mg /ML ، فاکتور روماتوئید (RF) بالای 200 IU/ML و توتال پروتئین بالای 120 MG/ML ممکن است در نتایج آزمون تداخل نمایند .
- درمان ضد روماتیسمی را نباید صرفاً بر اساس نتایج مثبت ANTI-CCP آغاز نمود و نیز تغییر در درمان بیماری نباید صرفاً بر اساس سطح ANTI-CCP باشد .
- تستهای ANTI-MCV و RF نیز همراه با تست ANTI-CCP جهت تشخیص بیماری RA مورد استفاده قرار می گیرند .
- پپتید آنتی سیکلیک سیترولینه را می توان سالها قبل از شروع بیماری RA و بندرت پس از پیشرفت بیماری مشاهده کرد . بنابراین حضور آن در سرم نشان دهنده این است که این پپتید تنها در نتیجه التهاب ایجاد نمی گردد .

آزمایش ANTI-CCP

مقدمه : آنتی بادی های ANTI-CCP ویژگی بسیار بالایی برای روماتوئید آرتریت به خصوص در شروع بیماری دارند . در تشخیص آرتریت روماتوئید خصوصاً در مراحل اولیه ارزشمند است از اختصاصیت بسیار بالایی (۹۷٪) و حساسیت متوسط آرتریت روماتوئید برخوردار است . هنگامی که از ANTI-CCP و فاکتور روماتوئید (RF) به طور همزمان استفاده گردد اختصاصیت تا ۹۹٪ افزایش می یابد .

روش : آلایزا

محتویات کیت :

۱ - استانداردها ۶ ویال

۲ - محلول Wash ۱ویال

۳ - ۱ S.B ویال

۴ - کنژوگه ۱ ویال

۵ - سوسترا ۱ ویال

۶ - STOP یک ویال

۷ - CUTOFF یک ویال

۸ - پلیت ۹۶ تستی

۹ - کنترل مثبت یک ویال

۱۰ - کنترل منفی یک ویال .

شرایط نگهداری ، محلول ها ، کیت را در دمای ۲ – ۸ سانتی گراد نگهداری کنید تا تاریخ ثبت شده در روی جعبه قابل مصرف می باشد .

آماده سازی محلول ها :

۱ - محلول شستشو را به نسبت ۱ به ۵۰ با آب مقطر رقیق کنید محلول آماده شده تا ۱۵ روز در یخچال قابل نگهداری و استفاده است

۲ - رقیق سازی نمونه : ۸۰۰ لاندا آب مقطر استریل + ۲۰۰ لاندا سرم بیمار .

نمونه : سرم .

لوازم مورد نیاز : سمپلر (۱۰ – ۱۰۰ – ۲۰۰) لاندا – تایمر – آب مقطر استریل – کیت CCP .

شرایط نگهداری سرم : در ۴ درجه ی سانتی گراد تا ۴۸ ساعت ماندگار است . برای ارسال یا نگهداری طولانی مدت در منهای۲۰ سانتی گراد منجمد می شود .

روش انجام آزمایش :

کیت و محلول WASH را یک ساعت قبل از شروع آزمایش در دمای اطاق قرار دهید .

۱ - ۱۰۰ لاندا از استانداردها و سرم رقیق شده (Serum Diluent) را داخل چاهک ها بریزید . ۲۰ – ۱۰ ثانیه تکان دهید . سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اطاق انکوبه کنید .

۲ - سه بار با محلول Wash شستشو دهید ۱۰۰ لاندا کنژوگه اضافه کنید مجدداً ۳۰ دقیقه انکوبه کنید .

۳ - سه بار با محلول Wash مجدداً شستشو دهید . ۱۰۰ لاندا TMB (سو بسترا بریزید) ۳۰ دقیقه در محیط تاریک و دمای اطاق انکوبه کنید .

۴ - ۱۰۰ لاندا STOP اضافه کنید در طول ۴۵۰ نانومتر قرائت نمائید .

روش محاسبه : Positive > Negative > ۱۵ .

پروتئین های مرحله حاد بیماری

(Acute – Phase Proteins)

پروتئینهائی که در اثر صدمات ضایعات بافتی ، نکروز ، التهاب ، عفونتها ، اعمال جراحی و یا سرطانها در مرحله حاد (Acute Phase Proteins Response) و در پلاسما و سرم خون انسان و حیوانات خونگرم پیدا می شوند و یا آنکه مقدار آنها تغییر می کند بنام پروتئین های واکنش مرحله حاد نامیده می شوند .

نقش اکثر این پروتئینها ، کاهش ضایعات التهابی در بافتها می باشد ولی در بعضی شرایط نیز باعث تشدید ضایعات التهابی می شوند . مجموعه این اعمال سبب دفع عامل التهاب ، خارج کردن و از بین بردن قطعات بافتی صدمه دیده و در نهایت ترمیم بافتی می باشد .

مکانیزم سنتز ، کنترل و کار بیشتر این پروتئینها هنوز بخوبی شناخته نشده است . این دسته پروتئینها از نظر منشأ ساختمان و کار ، با یکدیگر مشابه نیستند ولی بیشتر آنها از جنس گلیکوپروتئین می باشند . این پروتئین ها اکثراً در کبد سنتز می شوند ولی میزان ترشح آنها در سرم تحت تأثیر مستقیم و غیرمستقیم سیتوکین های مترشحه از سلول های سیستم ایمنی و مواد واسطه ای است که از بافت ضایعه دیده و یا دچار التهاب ترشح می شوند .

موادی که از سلول های کمکی TH CELLS و سلول های سفید بیگانه خوار تک هسته ای منوسیت (ماکروفاژ) و چند هسته ای (نوتروفیل) ترشح می شوند موجب تحریک و سنتر پروتئین های فاز حاد در سلول های کبدی می شوند . برای مثال این مواد شامل اینترلوکین (Interleukin) یک و شش ، پروستاگلاندین ها ، آنزیم های لیزوزوم (Lysosomes) ، فاکتور نکروز دهنده تومور (TNF-A) Tumor Necrosis Factor ، اینترفرون – گاما و غیره می باشند .

تحقیقات اخیر نشان داده است که هورمون های غدد هیپوفیز ، آدرنال و جنسی نیز در سنتر در سلول های کبدی نقش مهمی را بعهده دارند . سؤالی که تاکنون بی جواب مانده ، آنست که آیا هر یک از سلول های کبدی به تنهائی فقط یک پروتئین خاص را سنتز می نماید و یا هر کدام از این سلول ها می تواند در یک زمان ، چند نوع از پروتئین های فاز حاد را سنتز کند . اگر چه سلول های کبدی بعنوان منبع اصلی سنتز پروتئین های فاز حاد شناخته شده اند ولی فقط کبد نیست که قادر به این کار می باشد . بعنوان مثال ماکروفاژها تعدادی از اجزای کمپلمان و همچنین لکوسیتها ، آلفا یک – اسید گلیکوپروتئین Alpha-1-Acid (Orosomucoid) Glycoprotein را که از پروتئین های مرحله حاد بیماری ها می باشند سنتز و در سرم ترشح می کنند .

در بعضی بیماری های التهابی ، علاوه بر افزایش مقدار پروتئین های مرحله حاد ، تعداد گلبول های سفید ، سرعت رسوب گلبول های قرمز و حرارت بدن نیز افزایش پیدا می کنند .

ظهور ، افزایش یا کاهش مقدار هر یک از پروتئین های مرحله حاد در طول یک بیماری متفاوت و مستقل از یکدیگر می باشند ، بطور مثال C-Reactive Protein (Crp) و آلفا یک – اسید گلیکوپروتئین ، ۶ تا ۸ ساعت پس از یک ضایعه در سرم پیدا می شوند و پس از ۴۸ تا ۷۲ ساعت به حداکثر می رسند ، در صورتیکه هاپتوگلوبین (Haptoglobin) ، سرولوپلاسمین (Ceruloplasmin) و آلفا یک – آنتی تریپسین ، قبل از ۱۲ تا ۲۴ ساعت قابل تشخیص نبوده و در عرض ۷۲ تا ۹۶ ساعت پس از ضایعه به حداکثر می رسند .

در طول ضایعه بافتی مقدار CRP و آلفا یک – اسیدگلیکوپروتئین همچنان بالا باقی می مانند ولی به مجرد ترمیم بافت مقدار آنها به سرعت کاهش یافته و دیگر در سرم قابل اندازه گیری نمی باشند . در بعضی از افراد ممکن است مقدار پروتئین های فاز حاد کمتر از مقدار طبیعی و یا افزایش قابل ملاحظه ای نشان ندهد . این مسئله علل مختلف دارد ، از جمله نقص ژنتیکی ، مصرف بعضی از داروها ، بیماری عضوی و نوزادان می باشند . از بین پروتئین

های فاز حاد ، اندازه گیری CRP بعلت افزایش سریع آن در آغاز ضایعه بافتی و کاهش سریع آن به مجرد بهبودی ، بهترین راه تشخیص ضایعات بافتی است . بنظر می رسد تا حدی رابطه ای بین شدت ضایعه و مقدار پروتئین های فاز حاد در جریان خون برقرار باشد .

سی – راکتیوپروتئین

C-Reactive Protein (CRP)

اولین بار در سال ۱۹۳۰ فرانسیس (Francis) و تایلت (Tillett) نشان دادند که اگر سرم افرادی را که مبتلا به پنومونی حاد باشند با پلی ساکارید سی (C) پیکر میکروب پنوموکوک مخلوط کنند ، منجر به ایجاد ذرات رسوبی می شود . این محققین با مطالعه بیشتر مشاهده نمودند که در سرم بیماران مبتلا به بیماری های التهابی و نیز بعضی از عفونتها ، پروتئینی وجود دارد که می تواند با کپسول میکروب پنوموکوک تیپهای ۱۶ ، ۲۷ ، ۲۸ و گاهی بعضی از تیپهای دیگر واکنش نشان داده و سبب متورم شدن این میکروب ها شود .

این ماده پروتئینی را که در مرحله حاد بیماری ها در سرم ظاهر می شود بنام (CRP) C-Reactive Protein نامگذاری نمودند . واکنش این پروتئین با پلی ساکارید " سی " کپسول میکروب پنوموک در مجاورت یون کلسیم صورت می گیرد . CRP قادر است به بعضی باکتریها ، قارچها ، انگلها و حتی بعضی از سلول های خودی مانند لکوسیتها متصل شود .

از آنجائیکه پلیمر CRP به تنهائی سیستم کمپلمان را از راه کلاسیک فعال می نماید ، می تواند بطور غیرمستقیم باعث عمل اوپسونیزاسیون و یا لیز سلولها شود . بعلاوه بطور مستقیم نیز با چسبیدن به میکرواورگانیسم ها و لکوسیتها عمل اوپسونیزاسیون را تسریع می کند . بنابراین پروتئین CRP با دارا بودن خاصیت اپسونین ، نقش مهمی در خارج کردن ذرات خارجی از جریان خون (Clearing) دارد .

تحقیقات نشان داده است که این پروتئین در دفاع بدن بر علیه عفونتهای پنوموکوکی نقش مهمی را ایفاء می کند و به همین دلیل بنظر می رسد که قبل از بوجود آمدن آنتی بادی اختصاصی بر ضد میکروب ، CRP فعالیت دارد . این پروتئین در سرم و مایعات بدن افراد سالم (مانند مایع پریتوان ، مایع پلور ، مایع سینوویال و غیره) به مقدار بسیار کم گزارش شده است .

در واکنش های التهابی مقدار این پروتئین بطور ناگهانی تا حدود ۳۰۰۰ مرتبه در عرض ۶ تا ۴۸ ساعت افزایش می یابد . بنظر می رسد مولکول CRP از پنج جزء درست شده (Pentameric) که بوسیله پیوندهای اشتراکی به یکدیگر چسبیده اند .

وزن مولکولی این پروتئین ۱۳۵ تا ۱۴۰ کیلو دالتون است و ضریب رسوب آن S ۶/۶۵ می باشد . اگر چه CRP و ایمونوگلبولین ها از نظر آنتی ژنی ، ساختمان مولکولی ، سنتز و غیره دو ماده کاملاً متفاوت می باشند ولی از نظر کار (Function) با یکدیگر شباهت های بسیاری دارند . CRP از نظر آنتی ژنی بسیار قوی است و تزریق آن به حیوان آزمایشگاهی مانند خرگوش منجر به تولید آنتی بادی ضد آن می شود .

محققین نشان داده اند که CRP از : ۱ - تجمع پلاکتها ۲ - فعال شدن فاکتورهای پلاکتی ۳ - خارج شدن سروتونین و بتاگلوکورونید از پلاکتها ممانعت بعمل می آورد .

الکتروفورز سرم نشان می دهد که CRP تقریباً بین منطقه بتا و گاما مهاجرت می نماید و مقدار آن در ضایعات بافتی ممکن است تا حدود دو درصد کل پروتئین های سرم افزایش یابد . CRP در مقابل حرارت استقامت ندارد و در حرارت ۷۰ درجه سانتیگراد بمدت ۳۰ دقیقه از بین می رود . این ماده از جفت عبور نمی کند و تاکنون فقط در انسان و میمون شناخته شده است .

در بیماری های زیر مقدار CRP در سرم بالا می رود :

۱ - عفونتهای باکتریائی .

۲ - تب روماتیسمی فعال .

۳ - سکته قلبی حاد .

۴ - سرطان های بدخیم منتشر .

۵ - آرتریت روماتوئید فعال .

۶ - عفونتهای ویروسی .

۷ - سل .

مقدار CRP بعد از اعمال جراحی ، انتقال مقدار زیادی خون ، واکسیناسیون و آمبولی ریه نیز در سرم خون ممکن است بالا برود . در انفارکتوس قلبی اندازه گیری CRP بهترین و حساسترین آزمایشی است که می توان با آن

نشانه هائی از نکروز و یا التهاب بافت عضلانی ماهیچه قلب را بدست آورد و بعلاوه این آزمایش حتی پس از کاهش مقدار (SGOT) تا مدتی مثبت باقی خواهند ماند .

در صورتیکه CRP منفی باشد ، ضایعه ماهیچه قلب در کار نیست و نارسائی عروق کرونر و یا سایر بیماری های قلبی می باشد . در تب روماتیسمی ، CRP بهترین و حساسترین آزمایش است که در طول بیماری بطور مداوم مثبت باقی می ماند .

اندوتوکسین باکتری ها ، قوی ترین محرک سنتر پروتئین های مرحله حاد می باشند . بنابراین اندازه گیری CRP ، قابل اعتمادترین وسیله تشخیص وکنترل التهابات حاد باکتریائی و همچنین عفونتهای پنهان (Occult Infection) است . در بیماری های اتوایمنی نیز با اندازه گیری مقدار CRP می توان از شدت و پیشرفت بیماری آگاهی حاصل کرد ، زیرا بندرت بدون وجود التهاب بافتی مقدار آن بطور مداوم بالا می باشد .

مزیت آزمایش CRP نسبت به سرعت رسوب گلبول های قرمز ESR به قرار زیر است :

۱ – ممکن است بدون وجود التهابی مقدار سرعت رسوب گلبول های قرمز افزایش یابد ولی CRP طبیعی باشد ، مانند آنمی ها بعلت کاهش گلبول های قرمز ، در حاملگی بعلت افزایش فیبرینوژن ، در دوره نقاهت بیماری های عفونی و در سندروم های میلوما بعلت افزایش نسبی گلبولینها (Hyperglobulinemia) ، فیبرینوژن دارای مولکول های سوزنی شکل و بیشتر غیرقرینه هستند و سدیمانتاسیون را افزایش می دهند ، در صورتی که آلبومین بعلت داشتن مولکول های متقارن ، باعث کاهش سدیمان می گردد .

۲ - در بعضی موارد ممکن است التهابی در بافتها باشد ولی سرعت رسوب گلبول های قرمز طبیعی باشد . بطور مثال چنانکه یک واکنش روماتیسمی با یک نارسائی احتقانی قلب همراه باشد ، در این صورت آزمایش CRP کمک بزرگی برای تشخیص التهاب بافتی می باشد .

۳ - در مراحل بسیار اولیه تب روماتیسمی ، سرعت رسوب گلبول های قرمز طبیعی است ولی آزمایش CRP مثبت می شود . سایر مواردی که آزمایش سرعت رسوب گلبول های قرمز طبیعی یا افزایش جزئی ولی CRP مثبت است . افزایش مقدار CRP در سرم نه فقط از نظر تشخیص مهم است بلکه از نظر شدت بیماری و واکنش بیمار نسبت به درمان نیز اهمیت دارد ، زیرا بلافاصله بعد از درمان مناسب و یا برداشتن تومور سرطانی ، قبل از طبیعی شدن سرعت رسوب گلبول های قرمز مقدار CRP کاهش یافته و در سرم خون قابل تشخیص نمی باشد . بنابراین قبل از

پایان دادن به درمان یک بیماری باید مطمئن شد که CRP بیمار منفی شده است . بیماران روماتیسمی که تحت درمان با ACTH و کورتیزون می باشند آزمایش CRP آنها منفی می شود ، ولی باید توجه داشت که منفی شدن این آزمایش دلیل بر بهبودی نمی باشد و باید درمان آنها را تا معالجه کامل بیماری ادامه داد .

آزمایش CRP در بیمارانی که مبتلا به تب روماتیسمی می باشند در صورتی که علائم داء الرقص (Sydenhams Chorea) ظهور کند منفی می شود . حال چنانچه آزمایش CRP در چنین بیمارانی مثبت شود نشان دهنده وجود کاردیت (Carditis) نیز در بیمار می باشد .

نتیجه مثبت کاذب در آزمایش CRP برخلاف ESR بسیار نادر است . چنانکه سرم طبیعی را چند روز در یخچال و یا فریزر نگهداری نمائید و سپس آزمایش CRP را انجام دهید بندرت ممکن است بطور کاذب مثبت شود . به همین دلیل بهتر است آزمایش CRP را همیشه با سرم تازه انجام داد .

روش انجام آزمایش CRP

روشهای مختلف سرولوژی برای تشخیص CRP وجود دارد که در بعضی از روشها می توان مقدار کمی CRP را نیز در سرم و مایعات بدن اندازه گیری نمود .

برای تشخیص CRP در قدیم از پلی ساکارید " سی " بدنه میکروب پنوموکوک استفاده می شد ، ولی بعلت مشکلاتی که تهیه این آنتی ژن داشت امروزه از آنتی بادی ضد CRP استفاده می شود .

با روشهای مختلف پرسی پی تاسیون در لوله موئینه ، ایمونودیفیوژن ، ثبوت مکمل ، هماگلوتیناسیون ، نفلومتری ، توربیدیمتری و یا روش لاتکس آگاتیناسیون ، CRP را در سرم تشخیص و اندازه گیری می کنند ، ولی از بین آنها روش لاتکس آگلوتیناسیون ، از سایرین در ایران متداول تر می باشد .

برای انجام این آزمایش ، ابتدا آنتی بادی اختصاصی ضد CRP را با تزریق CRP به حیوانات آزمایشگاهی تهیه کرده و سپس آنرا به ذرات پلی استیرن لاتکس (Polystyren Latex) متصل می کنند . بنابراین وقتی سرم بیماری را که حاوی CRP است با ذرات فوق مخلوط کنیم ، باعث ایجاد آگلوتیناسیون می شود . این آزمایش بر اساس Reversed Passive Agglutination می باشد و نسبتاً حساس است . با این روش می توان بر حسب مؤسسه سازنده تا یک میکروگرم را در یک میلی لیتر سرم اندازه گیری کرد .

هر جعبه آزمایش لاتکس آگلوتیناسیون CRP معمولاً شامل محتویات زیر است :

۱ - شیشه محتوی آنتی ژن CRP که در حقیقت آنتی – CRP می باشد که به ذرات لاتکس متصل شده است . گاهی از ذرات لاتکس رنگی استفاده می کنند تا آگلوتیناسیون واضح تر نمایان شود .

۲ - شیشه محتوی سرم کنترل مثبت .

۳ - شیشه محتوی سرم کنترل منفی .

۴ - بافرنمکی گلیسین PH = 8.2 برای رقیق کردن و تیتراسیون سرم بیمار .

۵ - سرم حرارت دیده بیمار .

روش کیفی آزمایش CRP – LATEX :

قبل از انجام آزمایش ، سرم و جعبه آزمایش را از یخچال بیرون آورده و مدت حدود ۱۵ دقیقه در محیط آزمایشگاه قرار دهید تا به حرارت محیط برسند .

۱ - در روی یک لام بزرگ تیره که معمولاً همراه جعبه آزمایش می باشد یک قطره سرم بیمار حرارت دیده ، یک قطره سرم کنترل مثبت و یک قطره سرم کنترل منفی را در سه نقطه لام قرار دهید .

۲ - شیشه محتوی آنتی ژن لاتکس را به آرامی تکان داده تا به صورت محلول یکنواخت درآید و سپس با قطره چکان همراه ، بر روی هر کدام از سرم های فوق یک قطره از این آنتی ژن را اضافه کنید .

۳ - با اپلیکاتورهای چوبی جداگانه ، هر کدام از سرم ها را با آنتی ژن مخلوط نموده و به اندازه دایره ای به قطر ۲/۵ سانتی متر بر روی لام پهن نمائید .

۴ - لام را در دست یا روی روتاتور به آرامی حرکت دورانی داده و نتیجه آگلوتیناسیون را در زیر نور یک چراغ در مدت معینی که در بروشور ذکر شده بخوانید .

در صورتی که سرم بیمار حاوی CRP باشد آگلوتیناسیون دیده می شود (معمولاً بین ۲ تا ۵ دقیقه نتیجه معلوم می شود) . در این صورت ذرات لاتکس بصورت توده های درشت بهم چسبیده نمایان می شوند . چنانچه ذرات لاتکس بصورت یکنواخت پراکنده باشند نتیجه آزمایش منفی می باشد .

تبصره : بعضی از کیت های تشخیص CRP ، ابتدا سرم را به نسبت ۲۰ : ۱ با بافر PH = ۸/۲ همراه باید رقیق کرد و سپس با آنتی ژن لاتکس آزمایش نمود .

روش کمی آزمایش CRP – LATEX :

گاهی مقدار CRP در سرم بسیار زیاد است و در نتیجه بعلت پدیده منطقه ای ممکن است یک سرم مثبت اشتباهاً منفی گزارش گردد . ینابراین بهتر است چنانکه CRP سرمی منفی شد ، قبل از اینکه آنرا منفی گزارش نمائید با رقت ۵ : ۱ یا بیشتر آزمایش را تکرار کنید .

گاهی لازم است مقدار کمی CRP موجود در سرم را اندازه گیری نمائید ، زیرا که مقدار CRP نسبت مستقیم با شدت التهاب دارد . برای این کار ابتدا باید سرم را به نسبت های ۲ : ۱ الی ۶۴ : ۱ و یا گاهی ۱۲۸ : ۱ با بافر موجود در جعبه و یا بافر PH = 8.2 که طرز تهیه آن در زیر شرح داده شده است ، در لوله ها رقیق کنید . سپس با هر کدام از این رقت ها مانند طریقه کیفی آزمایش CRP – LATEX را انجام داده و رقیق ترین لوله ای از سرم که مثبت شود تیتر CRP آن سرم می باشد . بعضی مؤسسات سازنده جعبه های آزمایشگاهی مانند Ismuntt ایتالیا ، عدد مخرج کسر رقیق ترین لوله ای از سرم را که مثبت شده است ، به صورت میکروگرم CRP در میلی لیتر سرم (Microgram/Ml) محاسبه کرده اند .

طرز تهیه بافرنمکی گلیسین PH = 8.2 برای رقیق نمودن سرم بیمار .

۱ - گلیسین	0.1 M/1000ML	Glycine
۲ - هیدروکسید سدیم	2.5 Mm/1000ml	Sodium Hydroxide
۳ - کلرید سدیم	0.15 m/1000ml	Sodium Chloride
۴ - سریم ازید	0.1 gr/100ml	Sodium Azide

نکاتی در باره آزمایش CRP – LATEX

۱ - شیشه های محتوی مواد آزمایش را همیشه در ۲ تا ۸ درجه سانتی گراد نگهداری نمائید .

۲ - هیچوقت CRP – LATEX را یخ نزنید .

۳ - به تاریخ مصرف روی شیشه ها توجه کنید .

۴ - حداقل مقدار CRP در سرم که با CRP – LATEX قابل تشخیص می باشد بر حسب مؤسسه سازنده کیت متفاوت است .

۵ - اگر ANTI – CRP با پیوند اشتراکی (Covalent) به ذرات لاتکس متصل نباشد یا اختصاص بر علیه CRP تهیه نشده باشد ، نتایج درستی حاصل نمی گردد .

۶ - سرم بیمار باید تازه باشد ، در صورتی که همان روز نمی توانید آزمایش را انجام دهید حداکثر ۴۸ تا ۷۲ ساعت سرم را در یخچال ۲ تا ۸ درجه سانتی گراد نگهداری نمائید . چنانکه پس از ۷۲ ساعت می خواهید آزمایش نمائید ، باید سرم را یخ بزنید . باید توجه داشته باشید که بیش از یک بار نباید سرم را یخ زد .

۷ - سرم بیمار و سرم های کنترل باید شفاف و فاقد هرگونه ذرات باشند . در غیر اینصورت باید بوسیله سانتریفیوژ دور زیاد یا فیلتر قبل از آزمایش ، سرم صاف و شفاف شود .

۸ - در صورتی که آنتی ژن CRP – LATEX با سرم کنترل مثبت آگلوتینه نشد از مصرف آن آنتی ژن خودداری نمائید .

۹ - لام را همیشه در درجه حرارت اطاق نگهداری کنید . در صورتی که لام را به همراه جعبه آزمایش در یخچال نگهداری می نمائید باید هنگام آزمایش حرارت آن به درجه حرارت اطاق برسد . چنانچه لام تیره باشد نتیجه آزمایش واضح تر دیده می شود .

۱۰ - لام باید تمیز باشد و پس از هر آزمایش لام را با آب شسته و با دستمال کاغذی خشک کنید . چنانچه یک لام را بمدت طولانی بکار برده اید (حدود پنجاه آزمایش) باید آنرا با الکل و اتر به مقدار مساوی بشوئید . چنانکه اثرات صابون و یا سایر مواد پاک کننده روی لام باشد ممکن است مانع واکنش آنتی ژن و آنتی بادی شود .

۱۱ - در صورتی که بلافاصله بعد از اضافه نمودن آنتی ژن CRP به سرم ، آگلوتیناسیون دیده شود باید نسبت به درستی آزمایش مشکوک شوید زیرا که ممکن است مربوط به یک واکنش غیراختصاصی و یا اتوآگلوتیناسیون باشد .

۱۲ - آنتی ژن لاتکس یک شیشه را نباید با شیشه دیگری مخلوط و مصرف کرد ، مگر اینکه شماره های سری (LOT . NO .) آنها یکی باشند .

۱۳ - محلول بافر باید شفاف باشد . در صورت کدورت و یا وجود رسوباتی در آن بایستی از مصرف آن خودداری نمائید . بعلاوه اگر PH محلول بافر در ۸/۲ تنظیم نبود و بین ۵/۵ تا ۸ باشد می تواند سبب اتوآگلوتیناسیون ذرات لاتکس گردد .

۱۴ - چنانکه مقدار چربی سرم (LIPEMIC) و یا فاکتور روماتوئیدی سرم زیاد باشد ممکن است بطور کاذب آزمایش CRP مثبت شود .

۱۵ - سعی کنید از پلاسما برای آزمایش CRP استفاده ننمائید ، زیرا که ممکن است فیبرینوژن موجود در آن سبب آگلوتیناسیون کاذب ذرات لاتکس گردد . همین مسئله برای خونی که کاملاً منعقد نشده و سرم آن جدا شده ، صورت می گیرد .

۱۶ - همیشه از سرم حرارت دیده برای آزمایش های لاتکس استفاده نمائید ، زیرا که اگر مقدار جزء Clg کمپلمان سرم زیاد باشد می تواند ذرات لاتکس را به یکدیگر چسبانده و بطور کاذب آزمایش مثبت شود .

۱۷ - بر اساس گزارش بعضی از محققین مقدار CRP در سرم نوزادان سالم حدود 0.1 MG/100ML و بالغین سالم حدود 0.5 MG/100ML سرم می باشد . بعضی ریگر از محققین مقدار CRP طبیعی را تا 1.2 MG/100ML سرم گزارش نموده اند (این مقادیر شامل زن های حامله نمی باشد) .

سرعت رسوب گلبول های قرمز (ESR) Erythrocyte Sedimentation Rate

مقدمه

بیش از یک قرن است که از آزمایش سرعت رسوب گلبولی (ESR) استفاده می شود. با این وجود به خاطر ارزان بودن و سادگی انجام آن، هنوز کاربرد دارد . اگر شیشه حاوی خون و ماده ضد انعقادباشد وبه صورت عمودی قرار گیردتحت تأثیرنیروی جاذبه زمین اریتروسیت ها رسوب کرده که میزان رسوب آن درعرض یک ساعت به عنوان سرعت رسوب گلبولی خوانده می شود.

طی سالیان گذشته عوامل مختلفی را که روی میزان ESR اثر می گذارند تحت بررسی است و بهترین روشی که برای انجام این آزمایش ابداع شده و هنوز هم استفاده می شود روش Westergrenاست که از سال ۱۹۲۱ میلادی تا به حال استفاده می شود.

روش کار

بطور خلاصه در آزمایش دستی ای اس آر از دو روش استفاده می‌شود. در روش اول از خون رقیق نشده مخلوط با اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) و در روش دوم از خون رقیق شده مخلوط با سیترات سدیم استفاده می‌شود. مخلوط را در پیپت‌های ۳۰۰ میلیمتری که مدرج شده‌اند، ریخته و در ساعت اول و دوم مقدار رسوب گلبول‌ها را اندازه گیری می‌کنند. روش استاندارد بین‌المللی همان روش وسترگرن است که از سیترات سدیم استفاده می‌شود.

موارد **استفاده**

آزمایش ای‌اس‌آر اختصاصی بیماری خاصی نبوده و در اغلب بیماری‌های التهابی و مفصلی و عفونت ها مقدار آن افزایش می یابد. از این آزمایش هم برای تشخیص و هم برای پایش نتیجه بخشی درمان بیماری استفاده میگردد و سیر نزولی آن در حین درمان، میتواند نشانه موثر بودن درمان باشد.

میزان سدیمانتاسیون اریتروسیتها

اگر خون حاوی ماده ضد انعقاد را در لوله آزمایش ریخته وبه حال خود بگذاریم ، گلبولهای قرمز در ته لوله بتدریج رسوب مینمایند. میزان این رسوب را (ESR (Erythrocyte Sedimentation Rate گویند و برحسب میلیمتر در ساعت سنجیده میشود. معموال ساعت اول را گزارش مینمایند. در خانمها بین صفر تا بیست و در آقایان بین صفر تا پانزده میلیمتر در ساعت میباشد. میدانیم در حالت طبیعی ، شارژ منفی موجود در سطح غشاء گلبولهای قرمز خون سبب دفع متقابل آنها میگردد. بنابراین کاهش این شارژ منفی ، سبب ازدیاد ESR میشود. یعنی گلبولهای قرمز سریعتر رسوب مینمایند. تغییر در شارژ گلبولهای قرمز خون به پروتیئن های پالسما بستگی دارد که از بین آنها فیبرینوژن و گلبولینها اهمیت بیشتر و آلبومین اهمیت کمتری دارد. بنابراین در افزایش فیبرینوژن و افزایش گلبولینها ، ازدیاد سدیمان را داریم. درعفونتها ، آماسها ، نکروزهای بافتی ، حاملگی و میلوم مالتیپل سدیمان باال میرود. عالوه بر پروتئینهای پالسما ، شکل و تعداد گلبولهای قرمز نیز در میزان سدیمان اثر

دارد. کاهش گلبولهای قرمز سبب کاهش شارژ منفی سطح گلبولها و نتیجتا سرعت رسوب بیشتر میگردد. بنابراین در آنمی سدیمان افزایش و در پلی سیتمی سدیمان کاهش مییابد.

همچنین شکل خاص گلبولهای قرمز سبب ایجاد تجمع گلبولی (rolu formation) میشود که باعث افزایش سدیمان میگردد. در آنمی داسی شکل ، بعلت تغییر شکل سلول ، تشکیل رولو و نیز چسبندگی گلبولهای سرخ کاهش یافته و سدیمان پائین میآید. بطور فیزیولوژیک در سنین باالی شصت سال ، سدیمان افزایش می یابد.

سرعت رسوب گلبول های قرمز خون یا سدیمانتاسیون ، نسبت مستقیم با مقدار فیبرینوژن و تا حدی گلبولین های آلفا ۲ - ، بتا و گاما دارد . این پروتئین های غیرقرینه ، بیش از هر پروتئین دیگری می توانند بارهای منفی گلبول های قرمز را کاهش داده (پتانسیل زتا) و سرعت رسوب گلبول های قرمز را افزایش دهند . بر عکس آلبومین و لستین سرعت رسوب گلبول ها را کاهش می دهند . سرعت رسوب گلبول های قرمز خون نوزادان و خون بندناف ، بسیار کند و بندرت بیش از ۲ میلی متر در ساعت می رسد . در کودکان و سنین نوجوانی نیز مقدار سدیمانتاسیون کمتر از بالغین و افراد سنین متوسط ، کمتر از افراد مسن و مردان کمتر از زنان می باشد . حداکثر مقدار طبیعی سرعت رسوب گلبول های قرمز با روش وسترگرین (Westergen) به قرار زیر است :

کمتر از ۵۰ سال	15MM/H	20MM/H
بالای ۵۰ سال	۲۰	۳۰
بالای ۸۵ سال	۳۰	۴۲

مردانیکه وازکتومی شده اند ، مقدار سدیمانتاسیون آنها افزایش می یابد ولی اگر هورمون تستوسترون مصرف نمایند ، مقدار آن طبیعی خواهد شد . حدود ده درصد کودکان به ظاهر سالم دارای سریمان بالاتر از ۲۰ میلی متر در ساعت می باشند ولی بطور طبیعی ، حداکثر آن ۱۰ میلی متر در ساعت می باشد .

در بیماری هائیکه شکل طبیعی گلبول های قرمز تغییر می کند ، به علت اشکال در به هم چسبیدن و رسوب گلبول ها ، میزان سدیمانتاسیون معمولاً کم و یا صفر است مانند کم خونی داسی شکل (Sickle cell . Anemia) یا کروی شدن گلبول های قرمز (Spherocytosis) .

اگر در چنین مواردی ، بیمار مبتلا به عفونت نیز باشد ، سدیمانتاسیون تغییر نمی کند یا بسیار کم می باشد . افزایش بسیار زیاد تعداد گلبول های سفید ، ممکن است باعث اختلال در رسوب گلبول های قرمز شود مانند لوسمی مزمن لمفوسیتیک (CLL) Chronic Lymphocytic Leukemia که با وجود تعداد بسیار زیاد گلبول های سفید ، سرعت رسوب گلبول های قرمز بین صفر تا یک میلی متر در ساعت می باشد .

مروری بر آزمایشهای ایمونولژیک از دیدگاه آزمایشگاهی

مروری بر آزمایش های روماتولوژیک از دیدگاه آزمایشگاهی ، ساده ترین و اولین آزمایش در بیماریهای روماتولژی آزمایش RF و یا LATEX و یا RF LATEX و یا روماتوئید فاکتور است این آزمایش در ۷۰ تا ۸۰ درصد موارد بیماری آرتریت روماتوئید Rheumatoid Arthritis یا RA ، در ۱۰۰٪ موارد بیماری شوگون ، در ۱۰۰٪ موارد سندروم FETTY ، در ۳۰٪ اسکلروز پیشرونده سیستماتیک Progressive Sclerosis Systematic ، در ۵۰٪ موارد اندوکاردیت عفونی Unfections Endocarditis ، در ۵٪ تا ۱۰٪ موارد طبیعی ، در ۶۰٪ موارد بیماری بافت همبند ، در ۱۰٪ موارد میلوما وکرایوگلوبولینمیا Crayoglobnlinemia ، در ۴۰٪ موارد سل و

برخی موارد بیماری های عفونی دیگر مانند جذام یا لپره، در هپاتیت مزمن فعال Chromic Active Hepatits در مونونوکلنوز عفونی Mononucleosis Infectious آزمایش و تست های اتوآنتی بادی معمولاً زمانی که بیمار با علائم مزمن پیشرونده مانند آرتریت ، تب ، خستگی ، ضعف عضلانی وجود یا عدم وجود راش پوستی ، غیرقابل توجیه مراجعه می کند ، درخواست می شود و اولین آزمایش درخواستی معمولاً ANA است . یک تست اتوآنتی بادی مثبت << تشخیصی >> نیست اما کمک به تشخیص پزشک می کند .

ANA :

این آنتی بادی پروتئینی است که بر ضد مواد داخل هسته سلول ها ایجاد می شود . این آزمایش بیشتر در بیماری های خود ایمنی یا Autoimmune دیده می شود از خصوصیات این آزمایش این است که قبل از بروز علائم بیماری بطور واضح دیده می شود و مثبت می گردد . بنابراین تست خوبی در این گونه موارد است Erythematic Systeme Lopus در ۹۵٪ تا ۹۹٪ موارد سیستمیک لوپوس اریتماتو مثبت می شود .

از مواردی که این آزمایش مثبت می شود میتوان از آرتریت نام برد . در راش در اثر ترومبوسینوپنی یا کمبود پلاکت خون Thrombocylopenia ، بر لوپوس دارویی Drug Mduced Lupus که آنتی بادی بر علیه هیستون Histon (پروتئین هسته قابل حل در آب است که سرشار از تیروزین Tyrosine و آرژینین Arginine است) ایجاد شود مثبت می شود.

البته نکته قابل توجه در این مورد این است که در این مورد آزمایش Anti Histon هم مثبت می گردد.

نکته قابل توجه در آزمایش ANA این است که یک آزمایش ANA منفی بیماری SLE را غیر محتمل نمیسازد و این به خاطر طبیعت نوسانی در بروز بیماری های خود ایمنی است .

در اینگونه موارد که شک به این بیماریها قوی است شاید لازم باشد آزمایش ANA در آینده دوباره کنترل گردد . به هر صورت با توجه به بیشتر موارد ، در صورت وجود یک آزمایش ANA منفی لزوم انجام تستهای بیشتر مشکوک است.

بطور خلاصه آزمایش ANA در بیماریهای زیر مثبت میشود :

۱ - Active Sie در ۹۹٪ موارد

۲ - Inactive در ۹۵٪ موارد

۳ - Dring Induced در ۹۹٪ موارد ۴ - بیماریهای Mixed Connective Tissne در ۹۹٪ موارد ۵ - Scleroderma در ۹۵٪ موارد

۶ - در سندروم شوگرن در ۷۵٪ موارد

۷ - در آرتریت روماتوئید Rheumatoid Arthritis در ۵۰٪ موارد

۸ - هپاتیت مزمن اتوایسیون Autoimmune Chronic Hepatitis در ۴۰٪ موارد

۹ - زنان سالم ۴٪ تا ۵٪ موارد

۱۰ - در بیماری ری نود Raynauds Disease تقریباً در ۵٪ افراد طبیعی آزمایش مثبت است که این درصد با افزایش سن افزایش می یابد بطوریکه در سن ۷۰ سالگی به ۲۰٪ میرسد . در بیماریهای Conneclive Tissue Systemic عیار آزمایش بیش از ۱/۱۶۰ است . اما در هر صورت ربطی به فعالیت بیماری و حتی به پیش آگهی بیماری ندارد . در هر صورت تقریباً ۵٪ بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید Rheumatoid Arthritis دارای ANA مثبت اما تست RF منفی دارند که در این موارد آزمایش Anti Ccp توصیه می گردد که حساسیت بیشتری نسبت به آزمایش RF دارد .

این آزمایش (Anti Ccp) در ۵۰٪ تا ۶۰٪ در ابتدای بیماری آرتریت روماتوئید Rheumatoid Arthritis (سه تا شش ماه پس از بروز علایم) مثبت میشود . در یک آزمایش Anti Ccp مثبت بدون وجود علائم در ۹۵٪ موارد در آینده علائم بیماری RA آرتریت روماتوئید را پیدا میکنند آزمایش Ana Dh A.N.A با مصرف این داروها آزمایش ANA مثبت می شود :

۱ - Lathinm

۲ - Chlornromazine

۳ - Propilthionracil-Carbonate

۴ - Practolot

۵ - Suffonamides

۶ - Griseofnlvin

۷ - Captopril

این داروها علائم شبیه لوپوس ایجاد می کند :

۱ - Procacainamide

۲ - Hydralazine

۳ - Phenvtoni Anti Pemcillamine

۴ - Isoniazoide

۵ - Sulffasalazine

۶ - Dna Ouinidine

اختصاصی لوپوس نیست و در ۳۰٪ موارد در سایر بیماریها دیده می شود . Dna Anti Ds این آزمایش که در آنتی بادی بر علیه DNA دو رشته ای اندازه گیری می شود در ۴۰٪ تا ۸۰٪ موارد لوپوس مثبت می شود اما در سایر بیماریها به ندرت دیده می شود . مواردی که این آزمایش مثبت می گردد : در بیماریهای روماتولوژیک دیگر ، هپاتیت مزمن ، مونونوکلنوز عفونی ، سیروز صفراوی است . بیشترین موردی که مثبت می گردد در گلومرونفریت لوپوسنی است . (Anti Phosphohpid Antibody Apa) این آزمایش در مواردی که با مشکلاتی در سیستم Venons و یا Arterials همراه باشد مثبت می شود . در ترومبور Thrombosis ، در سقط در سه ماهه اول حاملگی ، در کلاژنوریس Coilagenosis ، در SLE ، مثبت می گردد . در مورد اخیر که با توانایی مهار فعالیت انشادی وابسته به پلاکتشخص می شود به عنوان لوپوس آنتی کواگولانت (Coagulant Lupus Anti) شناخته می شود و یا به عنوان آنتی کاریولیپین آنتی بادی (Anti Cardiolipin Untibody) که در INVIVO به کاردیولیپین متصل می شود شناخته می شود آزمایش اخیر در SLE و بیماریهای بافت همبند مثبت می شود Asma یا Muacloa Antibody Anti Smooth این آنتی بادی که بر علیه سلول های عضلانی صاف است **در موارد زیر مثبت می شود :**

۱ - در ۴۰٪ تا ۹۰٪ موارد هپاتیت مزمن فعال

۲ - Active Chronic Hepatitis در ۳۰٪ تا ۷۰٪ سیروز صفراوی Biltary Cirrhosis

۳ - در ۲۵٪ تا ۳۰٪ موارد سیروز ایدیوپاتیک

۴ - Idiopathic Cirrhosis در ۸۰٪ موارد هپاتیت ویروسی . Call Antibody Viral Hepatitis Gastrio Parietal این آنتی بادی که بر علیه سلول های جداری معده است در ۹۰٪ تا ۱۰۰٪ بیماری آنتی Permcious دیده شده و مثبت می گردد . این آنتی بادی همچنین در گاستریک در زنان در ۶۰٪ موارد و در مردان در ۱۵٪ تا ۲۰٪ موارد مثبت می شود در ۳۳٪ موارد تیروئیدیت اتوایمیون Thyroiditis Auto Immune و در ۴ تا ۱۶ درصد موارد بدون هیچ بیماری مثبت می شود Ama Anti (Miloclrondrial Autibody) در موارد زیر مثبت می شود :

۱ - در ۶۰ تا ۹۴ درصد موارد سیروز صفراوی اولیه Primary

۲ - Billarycirrhosis در ۴۵ تا ۶۰ درصد موارد هپاتیت فعال مزمن

۳ - Chronic Active Hepatitis در ۲۵ تا ۳۰ درصد سیروز ایدیوپاتیک

۴ - Idiopathic Cirrhosis در ۸٪ موارد طبیعی Antibody To Reticulin این آنتی بادی در موارد زیر مثبت می شود :

۱ - در ۳۷٪ موارد بیماری سلیاک

۲ - CELINC در ۲۴٪ موارد بیماری کرون

۳ - در ۱۷ تا ۲۲ درصد موارد درماتیت هویتی فورم

۴ - تا ۵٪ موارد نرمال ANCA این آنتی بادی در ۹۵٪ موارد Wegenera Granulomatosis دیده می شود . این آنتی بادی دو تیپ دارد Eanca که بر ضد الاستاز ۱ است و Panca که بر ضد میلوپراکسیداز است تست اولی در موارد بیماری Grannlomatons Small Vessel Vasculitis Non مثبت می شود . Anti Ss-B & Anti Ss-A این آزمایشات در بیماری شوگرن و Sle مثبت می گردد Anti Sm یا Anti Smith Antibody این آزمایش در ۳۰٪ موارد لوپوس که با نفریت ممبرانو همراه باشد مثبت می شود و در واقع یک تست اختصاصی برای این بیماری است . Rnp این آزمایش در بیماریهای Tissue Mixed Connective و در بیماری Raynauds ، و میوزیت دیده می شود SCL PM این آزمایش در موارد تشخیص همپوشانی میوزیت و اسکلرودرما کاربرد دارد و مثبت می شود ANTI CENTROMERE AB در موارد بیماری CREST دیده می شود و مثبت می شود . GBM AGBM ANTI این آنتی بادی که بر ضد غشای پایه گلمرولی است BASEMENT MEMBRANE ANTI

GLOMERULAR در بیماری GOODPASTURES SYNDROME است که یک یک بیماری خود ایمنی است که در آن آنتی بادی در گردش بر ضد بوجود غشای پایه گلمرولی کلیه ها بوجود می آید .

تست‌های آزمایشگاهی برای بیماری‌های اتوایمیون

(Anti Nuclear Antibodies) ANAs

استفاده: بطور عمده برای رد بیماری لوپوس (SLE) بکار می‌رود.

ANA حساس‌ترین آزمایش برای جستجوی بیماری لوپوس است. (۹۵٪≤ موارد را می‌یابد)

ویژگی (Specificity) آن در بیماری‌های روماتیسمی در مجموع حدود ۵۰ درصد می‌باشد. این تست می‌تواند در افراد سالم، سالخوردگان، سایر بیماری‌های روماتیسمی، منونوکلئوز عفونی، عفونت‌های مزمن ناشناخته، مصرف برخی داروها (مانند هیدرالازین، ایزونیازید، کلرپرومازین) و افراد فامیل بیمار لوپوسی نیز مثبت گردد. یک تست ANA منفی در بیماری که یک بیماری مولتی سیستمیک دارد یک شاهد قوی (ولی نه مطلق) برای رد کردن لوپوس محسوب می‌گردد. یک تست ANA مثبت بدون سایر تظاهرات بیماری ارزش تشخیصی ندارد.

تیترهای بالای ANA در اغلب موارد با لوپوس همراه هستند و تیترهای ۱:۱۶۰> معمولاً ارزش بالینی خاصی ندارند و کمتر با علائم بیمار مربوط هستند.

ANA می‌تواند در دوره بهبودی (remission) بیماری منفی گردد و تیتر ANA ارتباط خیلی مشخص و محکمی با دوره‌های عود و یا بهبود بیماری ندارد و تست مناسبی برای پیگیری روند و یا پاسخ به درمان نمی‌باشد. معمولاً تیترهای ۱:۴۰> را منفی، بین ۱:۴۰ تا ۱:۸۰ را مثبت ضعیف و ۱:۱۶۰≤ را مثبت تلقی می‌کنند. آزمایش ANA در ۵ درصد بیماران لوپوسی بطور دائم منفی است که علت آن نقص مادرزادی در ساخت اجزاء اولیه کمپلمان مانند C4 و یا C2 است. این قبیل از بیماران با نبود کامل فعالیت CH50 مشخص می‌شوند و در آنها

تظاهرات پوستی بیماری غالب است ولی سایر تظاهرات مربوط به کلیه و یا سیستم اعصاب مرکزی کمتر مشاهده می‌گردد.

الگوی ANA به روش ایمونو فلئورسنت (IFA): ارزش زیادی برای افتراق بین لوپوس از سایر بیماری‌های کلاژن وسکولار ندارد ولی می‌تواند برای درخواست آزمایشات بعدی راهنما باشد.

- الگوی همگن (Homogeneous [solid or diffuse]) معمولاً همراه با آنتی‌بادی بر علیه DNA-Histone (داکسی ریبو نوکلئو پروتئین) است. تیترهای بالا در بیشتر اوقات با لوپوس فعال همراهند. در لوپوس دارویی هم این الگو مشاهده می‌شود. در برخی بیماری‌های بافت همبند نیز دیده می‌شود.

- حلقه‌ای یا محیطی (Rim or Peripheral) معمولاً همراه با آنتی‌بادی بر علیه ds-DNAدیده می‌شود و بیشترین ارتباط و ویژگی را با لوپوس دارد.

- الگوی نقطه‌ای (Speckled) آنتی‌ژن‌های بسیاری را مشخص می‌کند. مانند ENA, Sm, nRNP, SS-A,SS-B. هنگامی که این الگو مشاهده گردید باید درخواست آزمایش آنتی‌بادی بر علیه این آنتی‌ژن‌ها به آزمایشگاه ارسال گردد.

- الگوی هستکی (Nucleolar) همراه با آنتی‌بادی بر علیه RNP دیده می‌شود و اختصاصی برای بیماری اسکلرودرما می‌باشد. بطور نادری در سایر بیماری‌های اتوایمیون مشاهده می‌گردد.

- آنتی‌بادی بر علیه ENA (Extractable Nuclear Antigen) که اندازه‌گیری آن توسط الیزا و یا ژل دیفیوژن انجام شده باشد، فقط دو نوع از این آنتی‌ژن‌ها را مشخص می‌کند: RNP و Sm.

- آنتی‌بادی بر علیه RNP در این موارد مشاهده می‌گردد: ۲۵ درصد الی ۳۰ درصد بیماران مبتلا به SLE، ۱۰ درصد بیماران مبتلا به RA، ۲۲ درصد بیماران مبتلا به اسکلرودرما و ۱۰۰ درصد موارد بیماری مخلوط بافت همبند (Mixed Connective Tissue Disease)

- آنتی‌بادی بر علیه آنتی‌ژن Sm (الگوی نقطه‌ای در IFA)، در ۳۰-۲۵ درصد بیماران لوپوسی دیده می‌شود و اختصاصی‌ترین تست تشخیص این بیماری نیز می‌باشد. تقریباً بطور انحصاری در این بیماری مشاهده می‌گردد و سطح سرمی آن بندرت ثابت می‌ماند و ارتباطی نیز با فعالیت بیماری ندارد.

- آنتی‌بادی بر علیه dsDNA در ۸۰-۴۰ درصد بیماران لوپوسی دیده می‌شود ولی بطور نادر در سایر بیماری‌ها نیز می‌تواند مثبت شود. ویژگی آن در حد آنتی‌بادی بر علیه Sm است (الگوی حلقه‌ای یا محیطی در IFA). عدم حضور این آنتی‌بادی در سرم با پیش‌آگهی خوبی همراه است و حضور این آنتی‌بادی با تیتر بالا در بدو تشخیص با علائم بالینی شدید همراه بوده که با بهبود علائم، تیتر آن نیز کاهش می‌یابد. به هر حال این آنتی‌بادی می‌تواند تا مدتها می‌تواند بدون وجود علائم بیماری مثبت باقی بماند. تیتر بالای این آنتی‌بادی برای لوپوس اختصاصی است و فقط بطور نادر در سایر بیماری‌ها مشاهده می‌گردد. تیترهای پایین (۱:۲۰-۱:۱۰) می‌توانند در سایر بیماری‌های روماتیسمی مثبت شوند.

- آنتی‌بادی بر علیه DNAتک‌رشته‌ای (ssDNA) در کلیه بیماری‌های روماتیسمی و بسیاری از بیماری‌های مزمن التهابی مشاهده می‌شود. این تست برای لوپوس اختصاصی نیست ولی چون تقریباً در تمام بیماران لوپوسی مثبت است، می‌تواند یک تست حساس برای لوپوس باشد.

بیماری لوپوس

یک بیماری مولتی سیستمیک است که در آن طیف وسیعی از اتوآنتی‌بادی پلی‌کلونال (به طور متوسط مساوی و یا بیشتر از ۳ نوع) در سرم فرد وجود دارد.

ANAحساس‌ترین تست تشخیص لوپوس بوده و بهترین تک تست برای رد کردن بیماری لوپوس می‌باشد. در لوپوس ۳ نوع اتو آنتی‌بادی و یا بیشتر در سرم فرد وجود دارد در صورتی که این تعداد آنتی‌بادی در لوپوس دارویی و سایر بیماری‌های بافت همبند مشاهده نمی‌گردد.

ترکیب یک ANA مثبت، آنتی‌بادی بر علیه ds-DNAو کاهش کمپلمان خون ویژگی در حد ۱۰۰ درصد برای تشخیص لوپوس دارد.

باید در نظر داشت که ANA در ۴۰-۲۰ درصد افراد سالم مثبت است. اگر تست ANA به روش IFA منفی باشد، در ۹۹ درصد موارد لوپوس رد می‌شود.

- تیتر بالای Anti ds-DNAاز مشخصات بیماری لوپوس است و بسیار برای آن اختصاصی می‌باشد. در ۶۰-۵۰ درصد بیماران وجود دارد و گاهی در هپاتیت مزمن فعال نیز مشاهده می‌گردد. اگر در بیماری تیتر این آنتی‌بادی پایین باشد باید در مورد ابتلا به لوپوس به دیده شک نگریست.

- تیتر بالای Anti Sm برای بیماری لوپوس بسیار اختصاصی است ولی تست حساسی نیست. (در ۳۰ درصد بیماران وجود دارد و به روش الایزا در ۶۰-۵۰ درصد موارد مثبت می‌شود). گاهی در غیاب Anti ds-DNA وجود دارد و تیتر آن که غالباً ثابت نیز هست ارتباطی با فعالیت بیماری ندارد.

- ss-DNA ویژگی بسیار پایینی برای لوپوس دارد و ارتباط بسیار ضعیفی با فعالیت بیماری دارد.

- Anti DNP در ≥۷۰ درصد بیماران مشاهده می‌شود.

- Anti Histone در ≥۶۰ درصد بیماران مشاهده می‌شود.

- Anti SS-A در ۲۵ درصد بیماران مثبت است.

- Anti SS-B در ۱۵ درصد بیماران مثبت است.

- Anti RNP در ≥۳۴ درصد مشاهده می‌گردد و اغلب با Anti Sm همراه است.

نشانگرهای فعالیت لوپوس

- هیچ تست واحدی برای نشان دادن فعال شدن ناگهانی بیماری وجود ندارد. ولی مفیدترین آنها Anti ds-DNA و کمپلمان سرم است.

- کاهش در مقدار اجزاء اولیه کمپلمان مثل C3و C4 (حساس‌ترین آنها C4 است) وکاهش فعالیت تام همولیتیک (Total hemolytic Complement) در ۷۰ درصد بیماران با لوپوس فعال دیده می‌شود و گرچه برای تشخیص اختصاصی نیست ولی برای کنترل بیمارانی که ریسک درگیری کلیوی و یا سیستم اعصاب مرکزی دارند مفید است. آزمایش فعالیت تام همولیتیک باید جزء آزمایشات اولیه بیماران لوپوسی باشد.

- کاهش C3 و C4 خیلی بندرت بدون وجود بیماری‌های کمپلکس ایمنی دیده می‌شود لذا کاهش آنها به همراه یک شرح حال و معاینه بالینی می‌تواند یک دلیل محکم برای لوپوس باشد. البته محصولات کمپلمان مانند C3a,C4a,C3d,C4d: بر C3 و C4 ارجحیت دارند.

- افزایش تیتر Anti DNA، البته اندازه‌گیری پی‌درپی آن ارزش چندانی ندارد.

- وجود کمپلکس ایمنی در گردش در خون

- وجود کرایوگلوبولین در خون بخوبی با فعالیت بیماری ارتباط دارد.

- وجود تیتر بالا برای Anti ds-DNA و سطح کمپلمان پایین سرم می‌تواند خبر از وجود نفریت دهد.

- اندازه‌گیری RF منوکلونال

- جستجوی سلول راجی (Raji) برای بررسی فعالیت لوپوس توصیه نمی‌شود.

- برای بررسی فعالیت لوپوس، اندازه‌گیری پارامترهایی از قبیل Hb,WBC,ESR,CRPCr, و U/A نمی‌توانند مابین فعالیت بیماری و سوار شدن عفونت و یا مسمومیت دارویی بر بیماری زمینه‌ای افتراق دهند لذا برای تشخیص تشدید بیماری به اندازه کافی حساس نیستند.

این آزمایشات نمی‌توانند هیچکدام از تظاهرات بیماری را از قبل پیش‌بینی کنند و البته برخی از بیماران با این علائم آزمایشگاهی هیچ گاه دچار بیماری فعال نمی‌شوند. قوی‌ترین ارتباط بین آزمایشات و بیماری در نفریت فعال است ولی حتی در ۲۵-۱۰ درصد این بیماران نیز آزمایشات طبیعی هستند لذا هیچ آزمایشی نمی‌تواند جایگزین بیوپسی کلیه گردد.

لوپوس گاهی بصورت ITP(Idiopathic Thrombocytopenic Purpura) ظاهر می‌گردد ولی ترومبوسیتوپنی شدید در کمتر از ۱۰ درصد بیماران بروز می‌کند.

کم‌خونی معمولاً بصورت کم‌خونی بیماری‌های مزمن است یا بعلت از دست دادن خون کم‌خونی فقر آهن باشد. آنمی همولیتیک در حدود ۱۵ درصد بیماران بروز می‌کند و با فعلیت بیماری ارتباط دارد.

ESR و CRP ممکن است افزایش یابند.

مثبت کاذب بیولوژیک سیفیلیس (BFP) در کمتر از ۲۰ درصد بیماران مشاهده می‌شود که می‌تواند ماه‌ها قبل از سایر تظاهرات بیماری نمایان گردد. همچنین ۷ درصد افراد سالمی که BFP مثبت دارند در نهایت به لوپوس مبتلا می‌گردند.

در ۵۰ درصد بیماران گاماپاتی پلی‌کلونال مشاهده می‌گردد (افزایش پلی‌کلونال گاماگلوبولین‌ها).

افزایش مستمر گاماگلوبولین‌ها نشانگر پیش‌آگهی بد بیماری است.

باند 2α افزایش می‌یابد و آلبومین خون کاهش نشان می‌دهد. ایمنوگلوبولین‌ها ممکن است افزایش یابند.

یافته‌های آزمایشگاهی که نشان‌دهنده درگیری ارگان‌های مختلف هستند:

- درگیری کلیوی: تغییرات سرولوژیک می‌توانند ماه‌ها قبل از درگیری کلیه ظاهر گردند. یافته‌های موجود در ادرار برای تغییر در درمان قوی‌تر از سایر یافته‌ها هستند. یافته‌های ادرار عبارتند از: نفریت حاد، سندروم نفروتیک، نارسایی مزمن کلیوی و پیلونفریت ثانویه. منظره رسوب ادرار همانند گلومرولونفریت مزمن فعال است. دفع پروتئین

بیش از ۳/۵ گرم در روز نشانگر آسیب پیش‌رونده به کلیه می‌باشد و افزایش مستمر مقدار آن نشان‌دهنده افزایش میزان آسیب کلیوی است. بیمارانی که دچار ازتمی (افزایش اوره خون) و پروتئین اوری واضح هستند معمولاً در عرض ۱ الی ۳ سال می‌میرند.

تیتر بالای آنتی‌بادی بر علیه ds-DNA بهمراه کاهش سطح کمپلمان سرم نشانگر نفریت لوپوسی است. بیماری اغلب با شروع نارسایی کلیوی ناپدید می‌شود و عود مجدد بیماری پس از پیوند کلیه نادر است. انجام بیوپسی کلیه هنگامی که پروتئینوری قابل توجه یا رسوب ادراری غیرطبیعی وجود نداشته باشد اندیکاسیون ندارد. اجزاء کمپلمان بخصوص در درگیری کلیوی کاهش نشان می‌دهند.

- CNS: تظاهرات سیستم اعصاب مرکزی بعلت تغییرات در عروق هستند که این تغییرات باعث: انسداد عروقی، اورمی، عدم تعادل الکترولیت‌ها، اختلالات انعقادی، افزایش فشار خون هستند که باعث اختلالات سیستم اعصاب مرکزی می‌گردند. همچنین وجود آنتی‌بادی بر علیه نرون‌ها و عفونت (سل و کریپتوکوکوزیس باید رد شوند) نیز از عوامل ایجاد عوارض عصبی هستند. یافته‌های مایع مغزی- نخاعی (CSF) نشان‌دهنده یک مننژیت غیرعفونی است (افزایش پروتئین مایع نخاع و افزایش لنفوسیت موجود در آن در ۵۰ درصد این بیماران یافت می‌شود.)

- سیستم قلبی عروقی: اندوکاردیت باکتریال و غیرباکتریال و افزایش میزان آرتریواسکلروز و مشکلات دریچه‌ای از مواردی هستند که در لوپوس قابل مشاهده هستند.

- مشکلات ریوی: درگیری ریوی (بیماری حاد یا مزمن) دیده می‌شوند. پلورال افیوژن از نوع اگزوداتیو است.

- مشکلات مفاصل: در ۹۰ درصد بیماران دیده می‌شود.

- وجود Anti Ro/SS-A در حاملگی: حضور این آنتی‌بادی در حاملگی نشانگر ریسک سندروم لوپوس نوزادی است. نوزادان مادر مبتلا به لوپوس می‌توانند بعلت عیور این آنتی‌بادی‌ها از جفت دچار عوارضی همچون لوپوس دیسکوئید و عوارض هماتولوژیک و سرولوژیک گردند و بعدها دچار بلوک کامل قلبی گردند.

- در طی بیماری تظاهرات التهابی کاهش یافته و تظاهرات ترومبوتیک افزایش می‌یابند.

یافته‌های آزمایشگاهی که نشان‌دهنده بیماری بخاطر حضور اتوآنتی‌بادی‌ها هستند:

- تیروئیدیت هاشیموتو

- سندروم شوگرن

- میاستینی گراو

- ترومبوسیتوپنی اتوایمیون که در<۲۵ درصد بیماران لوپوسی مشاهده می‌گردد.

- آنتی‌کواگولانت‌های لوپوس، و آنتی‌فسفولیپید آنتی‌بادی که در ۵۰ درصد بیماران مشاهده می‌گردد.

یافته‌های آزمایشگاهی بخاطر عوارض بیماری:

- انواع عفونت‌های باکتریایی و ویروسی فرصت‌طلب مانند هرپس زوسترکه بخاطر نقص ایمنی بروز می‌کنند. (نقص ایمنی بخاطر لوپوس و یا درمان آن)

- نکروز استخوان

- بدخیمی بخاطر افزایش ریسک لنفوم و سارکوماهای بافت نرم

لوپوس باید در موارد زیر بعنوان یک تشخیص مد نظر بوده و رد شود: در خانم حامله‌ای که علائم بیماری را ندارد ولی آزمایش VDRL او مثبت است، ترومبوسیتوپنی، لکوپنی، پروتئینوری و رسوب غیرطبیعی ادرار، تست کومبس مثبت، افزایش زمان aPTT

سندروم‌های لوپوس به خاطر مصرف طولانی مدت دارو:

برخی داروها می‌توانند باعث ظاهر شدن ANA در خون شوند بدون این که علائم بیماری وجود داشته باشد. ANA در این حالت وابسته به هیستون است در حالیکه در لوپوس ایدیوپاتیک آنتی‌بادی ضد هیستون در ۳۰ درصد بیماران یافت می‌گردد و همچنین تنها آنتی‌بادی هم نمی‌باشد.

داروهای با ریسک بالا:

- پروکائین آمید: در خون ۱۰۰-۱۵ درصد بیماران ظرف ۱ سال ANA ظاهر می‌گردد که ۳۰-۵ درصد آنان به لوپوس مبتلا می‌گردند. این آنتی‌بادی باعث تحریک ساخت Anti ds-DNA نمی‌گردد.

- هیدرالازین: در خون ۵۰ -۲۴ درصد بیماران ANA ظاهر می‌شود که ۱۳-۸ درصد آنان به لوپوس مبتلا می‌شوند.

داروهای با ریسک کم:

شامل: اتوزوکسیماید، هیدانتوئین، ایزونیازید، لیتیوم، کینیدین، تیواوراسیل

داروهای با احتمال ضعیف:

شامل پنیسیلامین، کلرپرومازین، رزرپین

داروهای با احتمال بسیار ضعیف (عملاً غیرمحتمل):

آلوپورینول، املاح طلا، گریزوفولوین، متیسرژید، ضدبارداری‌های خوراکی، پنی‌سیلین استرپتومایسین، سولفونامیدها، تتراسیکلین

کلاً آنتی‌بادی‌های ضد هیستون در ۹۵ درصد موارد لوپوس دارویی دیده می‌شود و در صورت نبود آن، لوپوس دارویی بسیار غیرمحتمل است. سایر آنتی‌بادی‌هایی که در لوپوس ایدیوپاتیک دیده می‌شوند معمولاً وجود ندارند.

سلول LE:

انجام آن با آزمایشات ANA جایگزین گردیده است. ممکن است در گسترش CSF، مایع مفصلی مایع پلور، مایع پریکارد و مایع حاصل از تاول‌های پوست نیز مشاهده گردد.

اجسام هماتوکسیلین:

مواد هموژن حلقوی خارج سلول هستند که در لوپوس، روماتوئید آرتریت، مولتیپل میلوما و سیروز مشاهده می‌شوند. در لوپوس گاهی در همان نمونه‌ای که فاقد سلول LE است مشاهده می‌شوند.

(LBT)Lupus Band Test:

ایمونوفلورسنت مستقیم برای جستجوی IgG در نمونه بیوپسی پوست است.

موارد کاربرد LBT

- در بیمارانی که تظاهرات بالینی کافی از لوپوس را نشان نمی‌دهند. (بعنوان مثال فقط تظاهرات عصبی و یا کلیوی را دارند).

- در بیمارانی که بخاطر مصرف کورتون علائم و آزمایشات آنها بهبودی نشان می‌دهد.

- برای افتراق اوایل بیماری لوپوس از آرتریت روماتوئید.

تفسیر LBT

این تست در ۸۰ درصد بیماران لوپوسی که بیماری فعال مولتی سیستم بخصوص درگیری کلیوی را دارند دیده می‌شود. در حدود ۴۰ درصد بیماران با بیماری غیرفعال نیز مثبت است. در بیماران مبتلا به لوپوس دیسکوئید این تست فقط در ضایعات پوستی مثبت است.

ویژگی تست برای لوپوس با افزایش تعداد ایمونوگلوبولین‌ها و سایر اجزاء کمپلمانی که در بافت یافت می‌گردد، افزایش می‌یابد.

ممکن است در درماتومیوزیت و بیماری‌های غیرمشخص کلاژن- وسکولار و نیز بیماری‌های غیرروماتیک نیز مثبت شود ولی معمولاً فقط یک نوع ایمونوگلوبولین یافت می‌شود.

لوپوس دیسکوئید

حدود ۱۰ درصد بیماران دچار بیماری لوپوس می‌شوند. ANA و سایر آزمایشات منفی می‌باشند.

در موارد کلاسیک در بیوپسی ضایعات پوستی رسوب کمپلمان و ایمونوگلوبولین‌ها را نشان می‌دهد. آزمایش LBT بر روی بافت تازه مثبت است.