

## ارزش تشخیصی بیومارکرهاى التهابی در بیماران روماتوئیدی



لعیا تکبیری

گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

### چکیده:

نکروزدهنده توموری (TNF- $\alpha$ ) تولید می شوند و علیرغم نام شان در هر دو التهاب حاد و مزمن نقش دارند. محل سنتز آن ها بیشتر کبد است هرچند تحت شرایط خاص بافت های دیگر نیز قادر به این کار هستند. اندازه گیری پروتئین های فاز حاد در کنترل بیماری و ارزیابی پاسخ بیمار به درمان حائز اهمیت ویژه ای است. متاسفانه علیرغم ارزش تشخیصی قابل توجه این مارکرها هنوز بطور روزمره مورد اندازه گیری قرار نمی گیرند. علت این امر محدودیت های تکنیکی و همچنین هزینه بالا می باشد.

### بیومارکرهاى التهابی:

دو دسته بیومارکر در واکنش های التهابی دخیل هستند.  
۱- بیومارکر های مثبت که طی التهاب غلظت شان در خون افزایش می یابد. (جدول یک)  
۲- بیومارکر های منفی، گروهی که طی التهاب غلظت شان کاهش می یابد. (جدول دو)  
از آنجایی که پرداختن به همه این فاکتورها بحث فوق العاده گسترده ای را می طلبد این متن اشاره مختصری دارد به آن گروه که طی بیماری های روماتوئیدی ارزش تشخیصی ویژه دارند. (۸،۳،۲)

### CRP:

این فاکتور که بیشتر از بقیه مورد مطالعه قرار گرفته است، رابطی است میان ایمنی ذاتی و اختصاصی. CRP دارای پنج بخش ساختاری یکسان است (عضوی از خانواده مولکول های پنتراکسین-pentraxin) گیرنده آن در سطح سلول هدف مولکول های فسفاتیدیل کولین می باشد و این واکنش در حضور کلسیم انجام می گیرد.

«واکنش فاز حاد» از اصلی ترین پاسخ های دفاعی انسان در مقابل آسیب های ایجاد شده توسط عوامل پاتوژن می باشد. پروتئین های فاز حاد و یا بیومارکر های التهابی واسطه اصلی این پاسخ دفاعی می باشند و اندازه گیری آن ها نقش مهمی در ارزیابی وضعیت بیمار و کنترل روند درمان او ایفا می کند. اگر چه بیومارکر های التهابی طیف وسیعی را در بر می گیرند ولی به دلایل تکنیکی و مادی تنها تعداد محدودی از آن ها به طور روتین در آزمایشگاه های تشخیص طبی مورد اندازه گیری قرار می گیرند. متن پیش رو اشاره ای است به ارزش تشخیصی این فاکتور ها در برخی از بیماری های روماتوئیدی.

### پیش گفتار:

التهاب یکی از اصلی ترین واکنش های بدن در برابر آسیب های بافتی است، که در شرایط پاتولوژی ایجاد می شود. این پاسخ که به «واکنش فاز حاد» نامیده می شود دارای سه روند دفاعی زیر است:

(الف) از بین بردن عامل آسیب رسان

(ب) محدود سازی آسیب بافتی

(ج) ترمیم ساختار های تحت تخریب.

واکنش فاز حاد یک مکانیسم ایمنولوژی است. و فاکتورهایی را به کار می گیرد که با نام «پروتئین های فاز حاد» شناخته شده است.

این بیومارکرها که مولکول های محلول پلاسمایی هستند تحت تاثیر مستقیم سیتوکین های پیش التهابی از جمله اینترلوکین یک (IL-1)، اینترلوکین شش (IL-6) و فاکتور

آهن سرمی را بر عهده دارد. این فاکتور در هر سلولی حضور دارد.

از آنجایی که آهن آزاد سمی است پیوندش با فریتین باعث خنثی گشتن سمیت آن می شود. در واقع سطح سرمی فریتین با میزان ذخیره آهن بدن ارتباط مستقیم دارد.

این میزان طی عفونت، سرطان و استرس به طور قابل توجهی افزایش می یابد. از روش های مورد استفاده برای اندازه گیری فریتین ایمونو نفلومتری و کمی لومینسانس می باشند. (۱۰، ۸، ۷)

### سرم آمیلوئید A (SAA) :

سرم آمیلوئید A نیز همانند CRP یک مولکول پنتراکسین است و دارای نقش دفاعی و ترمیمی در فرایند التهاب می باشد. این فاکتور دارای فعالیت اپسونینی بوده و می تواند به فسفاتیدیل اتانول آمین سطح سلولی پیوند شود و باعث فعال شدن مسیر کلاسیک کمپلمان گردد.

این پروتیین از حساس ترین مارکر های التهاب حاد بوده و بیشتر با تکنیک ایمونونفلومتری مورد اندازه گیری قرار می گیرد. (۸، ۶)

### اسید آلفا یک گلیکوپروتیین (AGP) :

این پروتیین فاز حاد نیز دارای فعالیت پیش التهابی و همچنین ضد التهابی است. اسید آلفا یک گلیکوپروتیین باعث مهار تولید مولکول های سوپر اکسید توسط نوتروفیل ها و مهار اگره گاسیون پلاکتی می گردد. حساس ترین تکنیک مورد استفاده برای اندازه گیری همان نفلو متری است. (۸)

ادامه بحث به بیماری های روماتوئیدی ای می پردازد که اندازه گیری مارکر های التهابی در آنها اهمیت ویژه ای دارد.

### آرتريت روماتويد :

دو آزمون CRP و ESR در این بیماران بسیار با ارزش است و اندازه های بالای آن ها نشانگر پیش آگهی ضعیف بیماری و روند گسترش فرسایشی آن است. اما پیش از پرداختن به ارزش تشخیصی این دو فاکتور بهتر است به «رتبه فعالیت بیماری» (Disease Activity Score-DAS) اشاره شود.

### DAS:

DAS که نسخه تازه آن به نام DAS-28 شناخته شده است، یک معیار قراردادی برای طبقه بندی بیماران آرتريت روماتوئیدی می باشد.

این مولکول همچنین دارای جایگاه های اتصال به جز C1q کمپلمان و قسمت Fc ایمونوگلوبولین IgG می باشد. از راه همین پیوندها است که CRP به عوامل پاتوژن و یا سلول های آسیب دیده و اپتوتوتیک چسبیده و از طریق فعال سازی مسیر کلاسیک کمپلمان موجبات بلعیده شدن و حذف آن ها را فراهم می نماید.

از این رو می توان آن را اپسونین در نظر گرفت. اپسونین ها مولکول هایی هستند که موجب تسهیل بیگانه خواری می شوند. اثبات شده است که CRP همزمان دارای فعالیت پیش التهابی و ضد التهابی است. افزایش آن نشان دهنده عفونت های باکتریایی (و نه ویروسی)، واکنش های ازدیاد حساسیت، ایسکمی و نکروز بافتی ست. افزایش در حد متوسط می تواند با چاقی، مصرف سیگار، دیابت، فشار خون بالا، مصرف قرص های ضد بارداری و اختلالات خواب در ارتباط باشد.

این فاکتور همچنین مارکری برای آترواسکلروزیس در نظر گرفته شده و یکی از عوامل پیش بینی کننده سکته قلبی می باشد.

در آزمایشگاه های روتین این مارکر با روش آگلوتیناسیون مورد اندازه گیری قرار می گیرد ولی تکنیک های کار آمد تر ایمونونفلومتری و PCR می باشند. (۸، ۱)

### سرعت رسوب گلبولی (ESR) :

این آزمایش نشان دهنده غلظت پلاسمایی پروتیین های فاز حاد و بیشتر فیبرینوژن می باشد. در واقع این پروتیین ها به علت بار مثبت شان می توانند بار منفی گلبول های قرمز را خنثی نمایند و زمینه برای رسوب سریع تر آن ها را فراهم نمایند. فیبرینوژن در این میان نقش اصلی دارد و گلوبولین ها و آلبومین در جایگاه دوم قرار می گیرند.

عواملی که می توانند دقت و صحت این تست را موردتاثیر قرار دهند عبارت اند از: تاخیر در انجام تست، عمود نبودن کامل پی پت مورد آزمایش و دمای اتاق.

از دیگر عوامل دخیل می توان مصرف دارو و قرص های ضد بارداری را نام برد. همچنین تفاوت های فیزیولوژیکی نیز در میزان رسوب گلبولی اثر گذارند. برای نمونه میزان این فاکتور در زنان بیشتر از مردان، در افراد جوان کمتر از افراد مسن و در زنان باردار بیش از نرمال است. (۸)

### فریتین :

فریتین یک پروتیین خارج سلولی است که وظیفه ذخیره

این طبقه بندی شدت بیماری را مشخص می نماید. DAS دارای دست کم سه و حداکثر چهار پارامتر است که به قرار زیر است .

۱- تعداد مفصل های حساس : این تعداد رقمی مابین صفر و ۲۸ می باشد.

۲- تعداد مفصل های متورم : این تعداد نیز رقمی مابین صفر و ۲۸ می باشد.

۳- میزان ESR و یا CRP بیمار

۴- میزان سلامت عمومی General Health Assessment : پارامتری است که مقدارش می تواند مقداری مابین صفر و ۱۰۰ باشد. این پارامتر می تواند حذف شود.

پارامترهای ۱، ۲ و ۴ در کلینیک توسط پزشک معالج و یا دستیاران آموزش دیده تعیین می شود. از این میان تنها پارامتر سوم یک یافته آزمایشگاهی است. فرمول DAS-28 به قرار زیر است :

$DAS-28 = (\text{تعداد مفصل های حساس}) \times 0.56 + (\text{تعداد مفصل های متورم}) \times 0.28 + (\text{میزان ESR یا CRP}) \times 0.70 + (\text{میزان سلامت عمومی}) \times 0.14$

### طبقه بندی بر مبنای DAS-28 :

۱- DAS-28 کمتر یا مساوی ۳/۲: بیماری شدت چندانی ندارد و پیش آگهی خوب است

۲- DAS-28 مابین ۵/۱ - ۳/۲: شدت بیماری در حد متوسط

۳- DAS-28 بیشتر از ۵/۱: بیماری شدید

۴- DAS-28 کمتر از ۲/۶: در این گروه افرادی قرار می گیرند که بیماری شان کاملاً فروکش کرده است.

نکته ی گفتنی این است که، اگرچه این رتبه بندی دو آزمون ESR و CRP را هم ارز در نظر گرفته، ولی ارزش تشخیصی این دو در بیماران آرتریت روماتوئیدی یکسان نیست.

باتوجه به اینکه ESR افزایش کندی دارد، پس از چند هفته ارزش تشخیصی می یابد. در ضمن تحت تاثیر عوامل دیگری همانند جنسیت و آنمی نیز قرار می گیرد، در مقایسه با CRP که چنین محدودیت هایی ندارد، از حساسیت کمتری برخوردار است.

#### Positive inflammatory biomarkers.

Coagulation and fibrinolytic system
Fibrinogen
Plasminogen
Tissue plasminogen activator
Urokinase
Protein S
Vitronectin
Plasminogen-activator inhibitor 1
Complement system
C3; C4; C9
Factor B
C1 inhibitor (C1 INH)
C4b-binding protein (C4b)
Mannose-binding lectin (MBL)
Transport proteins
Ceruloplasmin
Haptoglobin
Hemopexin
Participants of inflammatory responses
Secreted phospholipase A2 (sPLA2-IIA)
Lipopolysaccharide-binding protein
Interleukin-1-receptor antagonist (IL-1 RA)
Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF)
Antifibrinolytics
$\alpha$ 1-Protease inhibitor
$\alpha$ 1-Antichymotrypsin
Pancreatic secretory trypsin inhibitor
Inter- $\alpha$ -trypsin inhibitors
Others
C-reactive protein
Serum amyloid A
$\alpha$ 1-acid glycoprotein (AGP)
Fibronectin
Ferritin
Angiotensinogen
Retinol binding protein

جدول يك: بیومارکهای التهابی مثبت

#### Negative inflammatory biomarkers

Albumin
Transferrin
Transthyretin
$\alpha$ 2-HS glycoprotein
Alpha-fetoprotein (AFP)
Thyroxine-binding globulin
Insulin-like growth factor
Factor XII

جدول دو: بیومارکهای التهابی منفی



### تب روماتیسمی:

اندازه گیری میزان سرمی اسید آلفا یک گلیکو پروتیین اهمیت بالایی در تب روماتیسمی فعال دارد. این مارکر هم برای تشخیص اولیه و هم کنترل روند درمان با ارزش است. کاهش سطح یه میزان نرمال نیز رابطه مستقیم با فروکش نمودن بیماری دارد.

یافته آزمایشگاهی دیگر در این افراد تغییر در باند الکتروفوری  $\alpha 2$ - گلوبولین است که برای ارزیابی فعالیت بیماری سود مند است. افزایش ESR نیز نشان دهنده گسترش بیماری است ولی وجود رابطه مستقیم مابین سطح مارکر و شدت علائم اثبات نشده است. (۸)

### لوپوس اریتماتوس سیستمی:

در این بیماران سرعت رسوب گلبولی متناسب با شدت بیماری افزایش می یابد، در حالی که سطح CRP طبیعی است و یا افزایش ناچیزی دارد.

در عوض سطح سیتوکین اینترلوکین شش ارتباط بهتری با روند گسترش بیماری نشان می دهد. افزایش CRP در این گروه از بیماران بیشتر نشانگر عفونت و یا اسکروزیس دارد. (۸)

### بیماری نقرس ( Gout ):

در این بیماری نیز ارتباط مستقیمی میان میزان CRP و تاحدودی ESR با تعداد مفصل های آسیب دیده به دست آمده است و در پی کنترل التهاب و درمان ،اندازه ی آنها نرمال می شود. (۸)

### References.....

Benjamin Rhodes, Barbara G. Fümrohr & Timothy J. Vyse. C reactive protein in-1 (May) 7;2011.rheumatology biology and genetics.nature reviews Rheumatology 289-282;  
Eckersall, P. D. Acute phase proteins: from research laboratory to clinic. Veterinary-2 2-1;(1)39;2010.Clinical Pathology  
;86;2010. Ernest Suresh. Recent advances in rheumatoid arthritis. Postgrad Med J-3 250-243  
,Farah Aziz Khan, Mohd Fareed Khan ,Inflammation and Acute phase response-4 (2)1;2010. International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology 321-312  
Jaap Fransen, Gerold Stucki, and Piet L. C. M. van Riel. Rheumatoid Arthritis-5 49; 2003 (Measures. Arthritis & Rheumatism (Arthritis Care & Research 5224-5214 ;15 55);October)  
Kevin D; et al. Serum Amyloid A: The "Other" Inflammatory Protein. Current-6 68-62;8;2006. Atherosclerosis Reports  
Meijvis SC, Endeman H, Geers AB, ter Borg EJ. Extremely High Serum Ferritin Levels-7 214-65;212;2007 as Diagnostic Tool in Adult-onset Still's Disease.Neth J Med  
Nilton Salles Rosa Neto, Jozélio Freire de Carvalho. The use of inflammatory-8 30-413;(4)49;2009 laboratory tests in rheumatology. Bras J Rheumatol  
Roodpeyma S, Kamali Z, Zare R. Rheumatic Fever: The Relationship Between-9 100-97;41;2005 Clinical Manifestations and Laboratory Tests. J Pediatr Child Health  
W. Wang, M. A. Knovich, L. G. Coffman, F. M. Torti, and S. V. Torti, Serum ferritin:-10 769-760;(8)1800;2010. past, present and future, Biochimica et Biophysica Acta

CRP همچنین ارتباط بهتری با روند درمان و یافته های رادیولوژی دارد. نکته دیگری که در مورد ESR باید دقت نمود انجام آزمایش در دو ساعت اولیه خونگیری می باشد. (۹,۸,۵)

تست سرولوژی دیگری که اگرچه در رده بندی مارکرهای التهابی قرار نمی گیرد ولی به دلیل ارزش تشخیصی بالای آن در بیماران آرتریت روماتوئیدی بهتر است که مورد اشاره قرار گیرد، تست آنتی سیتروکلین (Anti-CCP- Anti-cyclic citrullinated peptide antibody) است.

اساس تست بر این پایه است که در بیماری مورد نظر اسید آمینه های آرژنین برخی از پروتیین ها تبدیل به سیتروکلین می گردند. دگرگونی شکل آنتی ژنیک مولکول باعث ایجاد پاسخ ایمنی و تولید آنتی بادی های ضد سیتروکلینی می شود، که اندازه گیری آن ها ارزش تشخیصی بالایی در این بیماران دارد.

از آنجایی که این تست در مقایسه با تست RF (فاکتور روماتوئیدی) از صحت و دقت بالاتری برخوردار است، و موارد کاذب چندانی هم ندارد بهترین جایگزین برای آن به شمار می آید. جالب این که در اکثر بیماران ارتباط مستقیمی مابین سطح بالای آنتی سیتروکلین و CRP وجود دارد. (۳)

### بیماری استیل بزرگسالان

### (Adult Still's disease):

این بیماری یک عارضه التهابی نادر است که منجر به آرتریت مزمن و دیگر علائم التهابی می گرشود. افزایش سطح سرمی فریتین که برخی اوقات به بیش از ۲۰/۰۰۰ ng/mL نیز می رسد، از یافته آزمایشگاهی اصلی در این بیماران است. معمولاً مقادیر بیش از ۱۰۰۰ ng/mL دلالت بر بیماری دارد (۸,۷)

### اسپوندیلیت انکیلوزان و آرتریت پسوریاتیک:

در این بیماران نیز رابطه معناداری میان اندازه ی CRP و ESR با وضعیت بالینی فرد وجود دارد. با استفاده از تکنیک PCR ۵۰ تا ۷۰ درصد مبتلایان به اسپوندیلیت انکیلوزان سطح بالایی از CRP نشان داده اند.

تازگی ها حتی برای ارزیابی پاسخ بیمار به دارو (infliximabe) نیز می توان از این دو تست استفاده نمود، اما برای اطمینان بیشتر بهتر است هر دو انجام پذیرند و هیچکدام جایگزین دیگری نگردد. گزارشاتی وجود دارد مبنی بر اینکه برای کنترل روند بیماری اندازه گیری سرم آمیلوئید A حتی حساس تر از ESR و CRP می باشد. (۸)