مقایسه تیتر آنتی‌بادی ضد کلاژن نوع II در سرم‌های واجد و فاقد فاکتور روماتویید

دکتر فروزان کریمی *؛ دکتر نغمه فیروزمنش**

چکیده :

سابقه و هدف: *اتوآنتی بادی ضد کلاژن نوع II ، در نتیجه فعالیت سیستم ایمنی علیه این نوع کلاژن تولید می‌شود و در ایمونوپاتوژنز برخی از بیماری‌های اتوایمیون نظیر آرتریت روماتویید، نقش دارد. در این مطالعه، وضعیت این آنتی بادی در افرادی که فعالیت سیستم ایمنی آنان به‌سوی اجزای خودی متوجه شده، مورد بررسی قرار گرفت.*

مواد و روش‌ها: *به‌منظور انجام این بررسی، ۷۷ سرم واجد فاکتور روماتویید (+RF) ، به‌عنوان نمونه سرم‌های افراد واجد سیستم ایمنی فعال علیه حداقل یکی از اجزای خودی و ۲۲۱ سرم فاقد فاکتور روماتویید (-RF) انتخاب شدند و در یک مطالعه توصیفی، از نظر حضور و تیتر آنتی بادی ضد کلاژن نوع II ، به روش هماگلوتیناسیون با کمک اسید تانیک مورد بررسی قرار گرفتند.*

یافته‌ها: *در این مطالعه، از ۲۹۸ سرم مورد بررسی، ۷۷ سرم، +RF و ۲۲۱ سرم، -RF بود. ۵۲ سرم +RF(۶۷/۵۳٪ از سرم‌های +RF) و ۱۲۸ سرم -RF(۵۷/۹۲٪ از سرم‌های -RF)، حاوی آنتی بادی ضدکلاژن نوع II بودند. از نظر تیتر آنتی‌بادی ضدکلاژن نوع II ، در بین ۵۲ سرم +RF، ۱۵ سرم (۲۸/۸۵٪) با تیتر ۱/۱۰ ، ۱۵ سرم(۲۸/۸۵٪) با تیتر ۱/۲۰ ، ۱۰ سرم (۱۹/۲۳٪) با تیتر ۱/۴۰ ، ۲ سرم (۳/۸۵٪) با تیتر ۱/۸۰ ، ۴ سرم (۷/۶۹٪) با تیتر ۱/۱۶۰ و ۶ سرم (۱۱/۵۴٪) با تیتر ۱/۳۲۰ بودند و از مجموع ۱۲۸ سرم -RF، ۶۶ سرم (۵۱/۵۶٪) با تیتر ۱/۱۰ ، ۳۸ سرم (۲۹/۶۹٪) با تیتر۱/۲۰، ۹ سرم (۷/۰۳٪) با تیتر ۱/۴۰، ۱۱ سرم (۸/۵۹٪) با تیتر ۱/۸۰ و ۴ سرم با تیتر ۱/۱۶۰ بودند. بررسی‌های آماری نشان داد که از نظر حضور آنتی بادی ضد کلاژن نوع II ، بین سرم‌های +RF و -RF ، اختلاف معنادار آماری وجود نداشت ($P>0.05$)؛ ولی این سرم‌ها، از نظر تیتر آنتی بادی ضد کلاژن نوع II ، با یکدیگر اختلاف معنادار داشتند($P< 0.001$).*

بحث: *با توجه به یافته‌ها مشخص شد با اینکه هر دو نوع سرم مورد بررسی، دارای آنتی بادی ضد کلاژن نوع II بودند، ولی در سرم‌های +RF ، آنتی‌بادی ضد کلاژن نوع II به‌مراتب بیشتر موجود بود. براساس این یافته‌ها، پیشنهاد می‌شود در مطالعه دیگری، به بررسی رابطه بین آنتی بادی ضد کلاژن نوع II ، RF و شدت بیماری در بیماران مبتلا به آرتریت روماتویید پرداخته شود.*

کلید واژه‌ها: *کلاژن، کلاژن نوع II ، سنجش، اتوایمیونیتی، فاکتور روماتویید.*

---

* متخصص ایمونولوژی و استادیار گروه میکروبیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه.

** متخصص بیماری‌های داخلی.

* **عهده دار مکاتبات:**کرمانشاه، باغ ابریشم، دانشکده پزشکی، گروه فارماکولوژی، تلفن: ۱۴-۴۲۲۹۴۱۰-۰۸۳۱

مقدمه :

سیستم دفاعی انسان، تحت شرایط خاصی، ضمن شناسایی اتوآنتی‌ژن‌ها و یا آنتی‌ژن‌های خارجی مشابه با آن‌ها، تولید اتوآنتی بادی را آغاز می‌نماید. نتیجه این فعالیت‌ها، شکل‌گیری طیفی از انواع اتوایمیونیتی، آسیب‌های نسجی و در نهایت، بیماری‌های اتوایمیون خواهد بود (۱). شناخت شرایط مستعدکننده، مکانیزم، نوع و عملکرد محصولات این فعالیت‌ها، راه را به‌سوی تشخیص، کنترل و درمان بیماری‌های اتوایمیون هموارمی‌سازد.

تاکنون در برخی از روندهای اتوایمیونیتی، محصولات فرایند و عوامل مسبب آسیب نسجی، شناسایی شده‌اند. لیکن، در بسیاری دیگر، مکانیزم و محصولات اتوایمیونیتی، همچنان ناشناخته و یا دردست تحقیق هستند. یکی از این موارد، اتوایمیونیتی علیه کلاژن نوع II می‌باشد. در انسان، این پروتئین، عمدتاً در مفاصل یافت می‌شود (۲) و در دوران جنینی و در شرایط طبیعی، با گردش خون و سیستم ایمنی تماس ندارد (۳)؛ لذا تماس این ماده یا مواد مشابه آن با سیستم ایمنی، می‌تواند به تولید اتوآنتی بادی ضد کلاژن نوع II منجر شود. اتصال این آنتی بادی به بافت حاوی کلاژن، می‌تواند موجبات آسیب‌نسجی را فراهم‌سازد(۴و ۵).

فاکتور روماتویید (RF) نیز محصول اتوایمیونیتی است (۶) و در تحقیقات متعددی، حضور همزمان آن با آنتی بادی ضد کلاژن در سرم انسان و موش[1] نشان داده شده است (۱۴-۷).

با توجه به اینکه فعالیت سیستم ایمنی، تحت تأثیر ژنتیک و شرایط زیست- محیطی قرار دارد، در یک مطالعه توصیفی، حضور و تیتر آنتی بادی ضد کلاژن نوعII را درتعدادی از سرم‌ها+*RF* و -RF به‌دست‌آمده از مراجعه‌کنندگان به آزمایشگاه مرکزی کرمانشاه و بیماران مبتلا به آرتریت روماتویید، مورد بررسی قرار دادیم.

مواد و روش‌ها:

این بررسی، مطالعه‌ای توصیفی است که روی سرم تعدادی از مراجعه کنندگان به آزمایشگاه مرکزی کرمانشاه انجام‌شد. سرم‌های-RF و +RF از اشخاصی تهیه شد که به‌منظور انجام تست‌های‌تشخیصی آزمایشگاهی و یا Checkup به آزمایشگاه مراجعه می‌نمودند. سرم‌های -RF از افرادی به‌دست آمد که بنابه اظهاراتشان، هیچیک از موارد ذیل را در سابقه خود نداشتند: سابقه تروما‌ی مفصلی، مصرف داروهای ایمونوساپرسور به مدت بیش از یک ماه و طی شش ماه قبل از بررسی و ابتلا به بیماری‌های اتوایمیون (نظیر آرتریت روماتویید)[2].

در بین افرادی که سرم آن‌ها +RF بود، تعدادی بیمار مبتلا به بیماری آرتریت روماتویید نیز وجود داشتند. از آنجا که کلیه افراد مورد نظر، به منظور انجام دادن تست‌های آزمایشگاهی خاصی از سوی پزشک به آزمایشگاه اعزام شده بودند و تست‌های انجام‌شده در این تحقیق روی مقداری از

1. Rat

۲. هر یک از موارد فوق، می‌توانند در نتیجه تیتر آنتی بادی ضد کلاژن تأثیرگذار باشند.

سرم‌های آنان انجام می‌شد، نیازی به کسب رضایت آنان برای‌خونگیری وجودنداشت. ضمناً هزینه اضافی نیز برای انجام‌دادن تست‌ها به‌افرادتحمیل نمی‌شد.

کلیه سرم‌ها، توسط تست‌های آزمایشگاهی گلوتیناسیون لاتکس (۱۵) برای سنجش RF- و هماگلوتیناسیون با کمک اسید تانیک[1] (۱۶) برای سنجش آنتی بادی ضد کلاژن نوع II مورد بررسی قرار گرفتند. در روش به‌کارگرفته شده برای سنجش آنتی بادی ضدکلاژن، از اریتروسیت‌های انسانی گروه Rh- و O ممزوج شده با اسید تانیک و کلاژن نوع II استفاده شد. بر اساس مثبت یا منفی بودن۴ نتیجه تست RF ، سرم‌ها به دو گروه RF+ و RF- تقسیم‌بندی شدند. به‌منظور تفسیر نتایج مطالعه، از تست‌های آماری T و مجذور کای استفاده شد.

یافته‌ها:

در این مطالعه، از ۲۹۸ سرم مورد بررسی، ۷۷ سرم، RF+ و ۲۲۱ سرم RF- بود. ۵۲ سرم RF+ (۶۷/۵۳٪ از سرم‌های RF+) و ۱۲۸ سرم RF- (۵۷/۹۲٪ از سرم‌های RF-)، حاوی آنتی بادی ضد کلاژن نوع II بودند(جدول ۱). از نظر حضور آنتی بادی ضدکلاژن نوع II ، بین دو گروه RF+ و RF- ، اختلاف معنادار آماری وجود نداشت (P>0.05).

از نظر تیتر آنتی بادی ضد کلاژن نوع II ، سرم‌های RF+ و RF- با یکدیگر اختلاف معنادار آماری داشتند (P<0.001)(جدول ۲). به‌عبارت دیگر، سرم‌های RF+ در مقایسه با سرم‌های RF- ، واجد تیترهای به‌مراتب بالاتری از آنتی بادی ضدکلاژن نوع II بودند.

جدول ۱- توزیع سرم‌های **RF+** و **RF-** از نظر حضور و یا عدم حضور آنتی بادی ضد کلاژن نوع **II**.

آنتی‌بادی* / RF	حضور	عدم حضور	جمع
مثبت	۵۲ (۶۷/۵۳)	۲۵ (۳۲/۴۷)	۷۷ (۱۰۰)
منفی	۱۲۸ (۵۷/۹۲)	۹۳ (۴۲/۰۸)	۲۲۱ (۱۰۰)
جمع	۱۸۰ (۶۰/۴)	۱۱۸ (۳۹/۶)	۲۹۸ (۱۰۰)

*منظور از آنتی بادی، آنتی بادی ضد کلاژن نوع II است.

جدول ۲- توزیع فراوانی تیتر آنتی بادی ضد کلاژن نوع **II** در سرم‌های **RF+** و **RF-**.

تیتر* / RF	1/10	1/20	1/40	1/80	1/10	1/320	جمع
مثبت	۱۵ (۲۸/۸۵)	۱۵ (۲۸/۸۵)	۱۰ (۱۹/۲۳)	۲ (۳/۸۵)	۴ (۷/۶۹)	۶ (۱۱/۵۴)	۵۲ (۱۰۰)
منفی	۶۶ (۵۱/۵۶)	۳۸ (۲۹/۶۹)	۹ (۷/۰۳)	۱۱ (۸/۵۹)	۴ (۳/۱۳)	- -	۱۲۸ (+۱۰۰)

** منظور از تیتر، تیتر آنتی بادی ضد کلاژن نوع II است.

1. Trannic Acid Hemagglutination

بحث:

با سنجش آنتی بادی ضد کلاژن نوع II در ۲۲۱ سرم RF- و ۷۷ سرم RF+و انجام دادن محاسبات آماری، مشخص گردید که بین دو گروه ذکرشده، از نظر حضور آنتی بادی مورد سنجش، اختلاف معناداری جود ندارد (P>0.05). به‌عبارت دیگر، آنتی‌بادی ضدکلاژن نوع II می‌تواند در هر دو گروه RF+ و RF- یافت شود؛ یعنی در هر دو گروه، به‌نحوی، زمینه مساعد معرفی کلاژن نوع II به سیستم ایمنی فراهم آمده است. این موضوع، با انتظارات ما مبنی بر عدم حضور آنتی بادی ضد کلاژن نوع II در سرم افراد سالم (به دلیل عدم برخورد سیستم ایمنی با کلاژن نوع II) مغایرت دارد (۳-۱)، ولی با تجربیات Boissier، Trato و Cook مطابقت می‌کند: Boissier و همکارانش درسال ۱۹۹۱ گزارش دادند که در ۱۴۹ سرم کنترل و ۸۸ سرم RF+ ، آنتی‌بادی ضدکلاژن نوع II را با بروزیکسانی یافته‌اند(۸). Trato و Cook و همکارانشان نیز در سال ۱۹۹۶، در تجربه دیگری، نتایج مشابهی را ارائه نمودند (۷و۱۴). این محققان نشان دادند که کلاژن‌های موجود در مواد غذایی، می‌توانند موجب تولید آنتی‌بادی ضدکلاژن نوع II بشوند (۷). در مطالعه حاضر نیز با توجه به سلامت ظاهری افرادی که سرم RF- داشتند و عدم وجود بیماری‌های بافت همبند در آنان، می‌توان کلاژن‌های موجود در مواد غذایی را یکی از عوامل ایجاد آنتی‌بادی‌های ضد کلاژن نوع II در این افراد معرفی نمود. البته در افرادی که سرم‌های RF+ داشتند، علاوه بر کلاژن‌های موجود در مواد غذایی، عوامل دیگری نیز می‌توانند به عنوان منشأ تولید این آنتی‌بادی‌ها (و به‌ویژه با تیترهای به‌مراتب بالاتری از افراد ظاهراً سالم) معرفی شوند. به‌عنوان مثال، عاملی چون حضور فاکتور روماتویید در افراد RF+ می‌تواند با مساعدکردن زمینه بروز التهاب مفصلی و مهیا نمودن زمینه عرضه کلاژن‌های مفصلی به سیستم ایمنی افراد، مبنای افزایش تیترآنتی‌بادی ضد کلاژن محسوب شود. بدین‌معنا که تجمع و فعالیت سلول‌های B (۱۷) و پلاسماسل‌های سازنده RF و التهاب ناشی از تولید سایتوکاین‌ها و رسوب کمپلکس‌های آنتی ژن- آنتی بادی در مفصل ، عاملی برای تخریب نسجی خواهد بود. در نتیجه این تخریب، با از بین رفتن سد حفاظتی و پوششی مفصلی، زمینه افزایش نفوذ سلول‌های التهابی و آنتی‌بادی‌هایی چون آنتی‌بادی ضدکلاژن (که درنتیجه این تخریب تولید شده است) به مفصل، فراهم می‌شود و بر شدت واکنش‌های ایمنی و میزان تولید اتوآنتی‌بادی‌ها افزوده می‌شود(۱۴-۶و۲۰-۱۸).

بایستی متذکر شد که اختصاصیت و ویژگی آنتی‌بادی‌های ضدکلاژن نوع II موجود در سرم افراد ظاهراً سالم نسبت به اتوآنتی‌ژن‌ها، کمتر است. عدم مشاهده درگیری‌های مفصلی در افراد RF- مورد بررسی، می‌تواند شاهدی براین مدعا باشد. همچنانکه Trato وهمکارانش اعلام نموده‌اند آنتی‌بادی‌های ضدکلاژن موجود در سرم افراد ظاهراً سالم، نسبت به آنتی‌بادی‌های مشابه در بیماران مبتلا به آرتریت روماتویید، اختصاصیت و ویژگی کمتری به اپی‌توپ‌های آنتی ژنیک کلاژن دارند (۷). Boissier و همکارانش نیز گزارش داده‌اند که نوع آنتی‌بادی ضدکلاژن موجود در سرم افراد سالم و مبتلایان به

آرتریت روماتویید، متفاوت است: در بیماران مبتلا به آرتریت روماتویید، آنتی بادی، عمدتاً علیه زنجیره های آلفای کلاژن نوع II تولید می‌شود(۸). ضمناً، آنتی‌بادی‌های ضدکلاژن‌دربیماری‌آرتریت روماتویید، عمدتاً از انواع فعال‌کننده کمپلمان (یعنی IgG1 وIgG2)هستندکه تأثیرات بالقوه‌مخربی‌نیزدارند(۱۳).

با توجه به موارد پیشگفت، می‌توان انتظار داشت که سیستم ایمنی، در جریان برخی از بیماری‌های اتوایمیون (خصوصاً آن دسته از این بیماری‌ها که با تخریب بافت مفصلی همراهند) و بسته به شدت بیماری، مقادیر فراوان‌تری از آنتی‌بادی ضدکلاژن نوع II را سنتز کند. Cook و همکارانش، حضور آنتی‌بادی ضدکلاژن نوع II را در سرم بیماران مبتلا به آرتریت روماتویید، در بدو بیماری نشان داده‌اند. در این بیماران، آغاز التهاب و آسیب نسجی، همزمان با تولید آنتی‌بادی ضدکلاژن نوع II بوده و متعاقب پاسخ بیمار به درمان، تیتر آن کاهش یافته است(۱۴). باتوجه به نتایج به‌دست‌آمده از تحقیق حاضر و تجربیات محققان یادشده، می‌توان انتظار داشت که سنجش آنتی بادی ضد کلاژن نوع II ، معیاری برای بررسی فعالیت سیستم ایمنی در بیماری‌های همراه با تخریب مفصلی باشد (حتی در افرادی که هنوز علایمی از بیماری را نشان نداده‌اند، ولی برخی از فاکتورهای سرمی آنان، نظیر RF ، بیش از حد نرمال است). طبق گزارش پژوهشگران یادشده، تیتر اولیه این آنتی بادی در سرم بیمارن مبتلا به آرتریت روماتویید، پیش آگهی بیماری را نیز تخمین می‌زند، لذا پیش‌بینی‌می‌شود چنانچه تحقیق حاضر، روی سرم بیماران مبتلا به آرتریت روماتوییدی که مبتلا به درجات مختلف بیماری (خفیف، متوسط و شدید) هستند، تکرار شود، می‌توان ارتباط آنتی‌بادی ضدکلاژن نوع II را با تیتر RF و شدت و ضعف بیماری بررسی‌نمود و در صورت وجود ارتباط، اندازه‌گیری این آنتی‌بادی را به‌عنوان یکی از معیارها و ملاک‌های سنجش وضعیت بیماری، پیشرفت آن و نحوه پاسخ بیمار به درمان در نظر گرفت (۲۱). باتوجه به گزارش Cook و همکارانش، آنچه دراینجا می‌تواند تأییدکننده اهمیت سنجش آنتی‌بادی ضدکلاژن نوع II باشد، افت سریع و قابل‌ملاحظه آن در سرم بیمارانی است که به درمان پاسخ مثبت داده‌اند (۱۴).

تشکر و قدردانی:

بدین‌وسیله، از زحمات همکاران ارجمند جناب آقای دکتر تورج احمدی جویباری، جناب آقای امیرحسین هاشمیان و خانم‌ها خسروی پور، زمزم، شفیع زادگان، نقشی، ملکی، زندی ، آناتول، امیری و کارگر تشکر و قدردانی می‌گردد.

References:

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS, Abbas AK. Cellular and molecular immunology. 3rd ed. USA: WB Saunders Company; 1992; P.423,438.

2. Rawn JD. Biochemistry. International ed. USA: Neil Patterson Publishers; 1989. P. 84-94.

3. Klareskog L, Olsson T. Autoimmunity to collagen II and myelin basic protein: comparative sudies in humans and rodents. Immunological Reviews 1990; 118:286-310.

4. Ezaki I, Okada M, Yoshikawa Y, Fujikawa Y, Hashimoto M, Otsuka M et al. Human monoclonal rheumatoid factors augment arthritis in mice by the activation of T cells. Clin Exp Immunol 1996 Jun; 104(3):474-482.

5. Noyori K, Koshino T, Takagi T, Okamoto R. Binding characteristics of anti-type II collagen antibody to the surface of diseased human cartilage as a probe for tissue damage. J Rheumatol 1994 Feb; 21(2):293-296.

6. Mandell GL, Bennett JE, Dolin DR. Mandell, Douglas and Bennet's principles and practice of infectious diseases. Vol 1, 5th ed. Philadelphia: Churchil Livingstone; 2000. P. 52.

7. Terato K, DeArmey DA, Ye XJ, Griffiths MM, Cremer MA. The mechanism of autoantibody formation to cartilage in rheumatoid arthritis: possible cross-reaction of antibodies to dietry collagens with autologus type II collagen. Clin Immunol Immunopathol 1996 May; 79(2):142-154.

8. Boissier MC, Chiocchia G, Fournier C. Role of collagen conformation in type II anticollagen immunity in rheumatoid polyarthritis. Rev Rheum Mal Osteoartic 1991 Jan; 58(1):19-24.

9. Erlandsson HH, Liljestrom M, Klareskog L. Characteristics of synovial fluid efflusion in collagen-induced arthritis(CIA) in the DA rat: a comparison of histology and antibody reactivities in an experimental chronic arthritis model and rheumatiod arthritis (RA). Clin Exp Immunol 1997 Mar; 107(3):480-484.

10. Rudolphi U, Rzepka R, Batsford S, Kaufmann SH, Von der Mark K, Peter HH, et al. The B cell repertoire of patients with rheumatoid arthritis: II- Increased frequencies of IgG+ and IgA+ and B cell specific for mycobacterial heat- shock protein 60 or human type II collagen in synovial fluid and tissue. Arthritis Rheum 1997 Aug; 40(8):1409-1419.

11. Franch A, Cassany S, Castellote C, Castell M. Time course of antibodies against IgG and type II collagen in adjuvant arthritis: role of mycobacteria administration in antibody production. Immunology 1994 Feb; 190(1-2):93-104.

12. Mannik M, Kapil S, Merrill CE. In patients with rheumatoid arthritis IgG binding to denatured collagen type II is in part mediated by IgG- fibronectin complexes. J Immunol 1997 Feb 1; 158(3):1446-1452.

13. Cook AD, Mackay IR, Cicuttini FM, Rowley MJ. IgG subclasses of antibodies to type II collagen in rheumatoid arthritis differ from those in systemic lupus erythmatosus and other connective tissue diseases. J Rheumatol 1997 Nov; 24(11):2090-2096.

14. Cook AD, Rowley MJ, Mackay IR, Cough A, Emery P. Antibodies to type II collagen in early rheumatoid arthritis. Correlation with disease progression. Arthritis Rheum 1996 Oct; 39(10):1720-1727.

15. He X, Kang AH, Stuart JM. Anti-human type II collagen CD19+ B cells are present in patients with rheumatoid arthritis and healthy individuals. J Rheumatol 2001; 28(10):2168-2175.

16. Sonnenwirth AC, Jarett L. Gradwohl's clinical laboratory methods and diagnosis. Vol 2, 8th ed. CV Mosby Company; 1980, P. 1265-1266.

17. Sonnenwirth AC, Jarett L. Gradwohl's clinical laboratory methods and diagnosis. Vol 2, 8th ed. C.V. Mosby Company; 1980. P. 2337-2338.

18. Jasin HE, Noyori K, Takagi T, Taurog JD. Characteristics of anti-type II collagen antibody binding to articular cartilage. Arthritis Rheum 1993 May; 36(5):651-659.

19. Ronnelid J, Lysholm J, Engstrom LA, Klareskog L, Heyman B. Local anti-type II collagen antibody production in rheumatoid arthritis synovial fluid: evidence for an HLA-DR4-restricted IgG response. Arthritis Rheum 1994 Jul; 37(7):1023-1029.

20. Kraetsch HG, Unger C, Wenhoff P, Schneider C, Kalden JR, Holmdahl R, Burkhardt H. Cartilage-specific autoimmunity in rheumatoid arthritis; characterization of a triple helical B cell epitope in the integrin-inding domain of collagen type II. Eur J Immunol 2001; 31(6): 1666-1673.

21. Kim WU, Yoo WH, Park W, Kang YM, Kim SI, Park JH, et al. IgG antibodies to type II collagen reflect inflammatory activity in patients with RA. J Rheumatol 2000; 27(3):575-581.