

ANA Patterns In Positive ANA Patients In Internal Department At Tishreen University Hospital

Dr. Abd Al Razak Hassan*

(Received 7 / 3 / 2018. Accepted 2 / 4 / 2018)

□ ABSTRACT □

The antinuclear antibody (ANA) test is the most commonly used test to screen for autoimmune diseases. However, only limited numbers of studies have addressed the relationship between the patterns of ANA antibodies and the final diagnosis of patients positive for ANA. We aimed to clarify the relationship between the types of ANA antibodies, and the final diagnosis. Patients who visited Internal department at Tishreen University Hospital during the period from January 2017 to December 2017 and were positive for ANA test were enrolled. ANA titers and the final diagnoses were recorded and analyzed. A total of 100 patients were included in this study.

We found a relationship between the ANA pattern and the final diagnosis, and this may be of high value in evaluating patients with positive ANA in our everyday clinical practice.

* Assistant Professor At Tishreen University Hospital, Lattakia, Syria

دراسة أنماط أزداد النوى لدى المرضى إيجابي أزداد النوى في قسم الأمراض الباطنة في مشفى تشرين الجامعي

د. عبد الرزاق حسن*

(تاريخ الإيداع 7 / 3 / 2018. قبل للنشر في 2 / 4 / 2018)

□ ملخص □

يعتبر اختبار أزداد النوى اختبار المسح الأكثر شيوعاً للأمراض المناعية الذاتية وبكل الأحوال فأن عدد محدود من الدراسات درس العلاقة ما بين أنماط أزداد النوى والتشخيص النهائي في المرضى إيجابي أزداد النوى. هدفنا من هذه الدراسة إيضاح العلاقة ما بين أنماط أزداد النوى والتشخيص النهائي. تم دراسة المرضى إيجابي أزداد النوى المراجعين لمشفى تشرين الجامعي في الفترة الممتدة من كانون الثاني 2017 حتى كانون الأول 2017. تمت تسجيل وتحليل نمط أزداد النوى والتشخيص النهائي حيث شملت هذه الدراسة 100 مريض. وجدنا أن هناك علاقة ما بين نمط أزداد النوى والتشخيص النهائي وهذا قد يكون له أهمية كبيرة في تقييم المرضى إيجابي أزداد النوى في الممارسة السريرية اليومية.

* أستاذ مساعد ، قسم الأمراض الباطنة ، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.

مقدمة:

بدأت الفكرة في استخدام استجابة مناعية محددة لدى المرضى للتشخيص انطلاقاً من الدراسات الانتانية التي تم إجرائها خلال العقود الأخيرة من القرن التاسع عشر خلال العصر الذهبي لعلم الأحياء الدقيقة. أظهرت الدراسات حينها أن بعض العصبيات والجراثيم لها القدرة على إفراز الذايفانات الخاصة بها والمنحلة في الماء وعليه فإن إعطاء هذه الذايفانات بجرعات مخففة أظهرت قدرة هذه الحيوانات على مقاومة هذه الذايفانات عند التعرض الثاني لهذه المواد وذلك عام 1890م من قبل Von Behring and Katsato .

تبين من خلال الدراسات الأخرى المشابهة وجود أضداد مُعدلة لهذه السموم في مصل الحيوانات وحتى المرضى البشر الذين خضعوا للتجربة. أظهر كل من فيدال ورفاقه لاحقاً أن وجود أو ارتفاع عيار هذه الأجسام المضادة أو (الأضداد كما تم تسميتها) قد يكون أداة تشخيصية. هذا هو الأصل في الوسائل التشخيصية المعتمدة على تقييم الاستجابة المناعية للجسم. [1]

كانت النواة هي البنية الخلوية التي تم تعريفها من قبل فرانز باور 1802 وفي عام 1943 بعد مضي أكثر من قرن تم ملاحظة تفاعل المصل ضد مكونات النواة للمرة الأولى وذلك عند مريض إيجابي اختبار الخلية الذائبة، كانت هذه الظاهرة هي المشاهدة الأولى لما عرف فيما بعد بأضداد النوى. على أي حال لم تكن أمراض المناعة الذاتية حتى عام 1964 سبباً هاماً للأمراض البشرية. في الوقت الحالي تعتبر جزءاً من الآليات المرضية للأمراض البشرية وهي تنتشر على مجال واسع. [1]

لقد كان الاستقصاء المخبري الأول لتحري الذئبة البحث عن ظاهرة الخلية الذائبة الذي وصف من قبل Hargraves et al عام 1948م والذي يمكن إجراؤه بشكل مباشر على عينة دم محيطية أو على عينة من بزل النقي لمريض مشتبه بإصابته بالذئبة الحمامية الجهازية أو بشكل غير مباشر من خلال مزج مصل مريض مشتبه بإصابته بالذئبة الحمامية الجهازية بعينة مصل من شاهد. [2] يتفاعل عامل الخلية الذائبة خلال الحضان مع نواة الخلايا اللمفاوية المتضررة ويفعل المتممة وبالنتيجة تتم عملية الضهي للبدء بعملية البلعمة من خلال العدلات الطبيعية، لاحقاً قدم Schett et al. دليلاً قوياً على أن مركباً كبيراً من عامل الخلية الذائبة السابق ذكره هو أضداد الهيستون 1 (anti-histone H1). كان يعطل امتصاص أو سحب هذه الأضداد من بلاسما مرضى الذئبة الحمامية الجهازية أو يجهض ظاهرة الخلية الذائبة في حين فشلت الأجزاء الأخرى من الهيستون في إزالة عامل الخلية الذائبة (الذي أخذ لاحقاً تسمية ضد النوى) أو تحريض حدوث ظاهرة الخلية الذائبة. حيث توجد هذه الظاهرة لدى المرضى في عينات بزل الجنب والحين وسوائل الجسم المختلفة وعلى ذلك فأنها تبقى عاملاً هاماً للتشخيص وهي لا تزال تعتبر معيار تشخيصي حسب الجمعية الأمريكية لأمراض الروماتيزم حتى وقتنا الراهن إلا أنها تبقى قليلة الإجراء وذلك بسبب التقدم في مجالات التشخيص وعيار الأضداد من الأنماط الأخرى منها أضداد النوى. [1]

التطور التالي المهم في تحري أضداد النوى كان في خمسينيات القرن الماضي من خلال المعايرة غير المباشرة لأضداد النوى. تم استخدام مواد متنوعة بما فيها قطع مجمدة من كلية الجرذ أو من كبد الجرذ كذلك أنماط مختلفة من الخلايا. يعتبر الخط الخلوي Hep-2 (الخلية البشرية الابلتياوية) الخط الخلوي الأكثر استخداماً في وقتنا الحالي في تحري الأضداد النووية بالاعتماد على مقايسة الفلورة المناعية. ويعتبر هذا الصنف من الخلايا أسهل قراءةً من غيره كذلك تعتبر هذه الخلايا أكبر حجماً من الخلايا من الأنماط الأخرى مما يعزز إمكانية قراءة المعايرة بشكل أسهل وأكثر

دقةً . يضاف إلى ذلك أن بعض المستضدات كالجسيم المركزي يعتبر من الصعب مقايسته بشكل كبير في الطرق المعتمدة على الأجزاء الخلوية المجمدة.^[3]،4]

أضداد النوى وأنماطها:

على الرغم من كونه يسمّى عادة اختبار أضداد النوى، الإجراء نفسه يُظهر كذلك الاستجابة المناعية ضد المكونات الخلوية الأخرى والعضيات الخلوية بما فيها الغشاء الخلوي، السيتوبلازما، النواة أو النوية. إنّ المستضدات الملاحظة كذلك هي بروتينات بشكل أساسي، جزيئات كبرية بروتينية، معقدات الحمض البروتيني النووي، والأحماض النووية.^[4]،5]

في الحقيقة، معظم الأضداد الذاتية المفيدة سريراً هي موجهة ضد معقدات بروتينات الـ RNA أو بروتينات الـ DNA. قد يكون التتميط نووياً بشكل صرف بشكل خاص لدى مرضى الصلابة الجهازية أو قد تكون سيتوبلاسمية بشكل أساسي كما هو الحال مع أضداد JO-1 لدى مرضى التهاب العضلات العديدي ومرضى التهاب الجلد والعضلات، وعلى ذلك فإن اختبار أضداد النوى ليس فقط تتميطاً نووياً. يأتي التتميط النووي الايجابي عادةً مع ذكر النمط بشكل أكثر تفصيلاً كمثال على ذلك النمط المرقط (المبرقش)، المتجانس، أو المحيطي. أتى هذا التتميط بعد استخدام أنماط معينة من الخلايا والمواد المتألقة تم الاعتماد بشكل أساسي على الخط الخلوي الابلتيالي البشري-2 (HEp-2) حيث تظهر مواد التآلق المناعي التي ترتبط بمكونات السيتوبلازما أو النواة (النمط السيتوبلاسمي لا يلحظ من قبل الكثير من المخابر) و يأخذ هذا الارتباط توزيعاً شكلياً يمكن أن يعطي بنتيجة ذلك هذا الاختبار الايجابية والسلبية لأضداد النوى إضافة إلى مستوى عيار هذه الأضداد ويضاف لذلك نمط التوزيع الذي يكون مميزاً من خلال الشكل الذي تأخذه هذه المواد عند معاينتها بالمجهر.^[5]،6،7،8]

هذه الأنماط مميزة من ناحية أن هذا التوزيع الشكلي هو ناتج عن ارتباط هذه المواد (نتيجة ارتباط الأضداد) بمكونات السيتوبلازما والنواة ما يعني أن كل نمط شكلي يشير إلى الارتباط بمكون أو بروتين مميز وهذا ما يعطي القدرة على بناء التشخيص اعتماداً على نمط أضداد النوى هذه.^[7]

يمكن تقسيم الأنماط النووية السابقة إلى:

1. المنتشر Diffuse (الذئبة الحمامية الجهازية).
2. المتجانس Homogeneous (الذئبة الدوائية والذئبة الحمامية الجهازية والايجابية الكاذبة).
3. المبرقش أو الرقط Speckled (الذئبة وجورغن وغيرها من أدواء النسيج الضام).
4. شكل الجسيم المركزي Centromere (الصلابة الجهازية،الصلابة المحدودة).
5. النووي Nucleolar (الصلابة ومتلازمة المواكبة).
6. الشكل المحيطي Peripheral (الذئبة).
7. شكل مختلط بين شكلين أو أكثر^[3]

يتم هذا التصنيف اعتماداً على المظهر تحت المجهر للمواد ذات التآلق في الخلية الابلتياليّة البشرية شكل وتوزيع هذه المواد هو ما يحدد حقيقة شكل هذا النمط وتصنيفه. إلا أن هذه الأنماط قد تكون في الحقيقة متعلقة بالمرض المرافق.^[3]

شكل مختلط	الشكل المحيطي Peripheral	شكل الجسيم المركزي Centromere	النويوي Nucleolar	المبرقش أو المرقت Speckled	المتجانس Homogeneous
قد يشاهد في كل الأنماط النووية السابقة.	أضداد الغلاف النووي	أكثر ما يشاهد لدى مرضى متلازمة كريسست وأيضاً مرضى داء رينو المعزول	• أضداد الصلابة • ANTI-SCL 70 • ANTI PMISCL	• ضد سميت • أضداد الريبونيكوليوتيد الحلقى • أضداد LA.RO	• أضداد الدنا ثنائية النطاق • أضداد الهيستون

يشاهد أيضاً نمط إضافي هو النمط السيتوبلازمي ويتضمن أضداد JO-1 وأضداد المتقدرات حيث تشاهد الأولى لدى مرضى التهاب الجلد والعضلات وتعتبر دليلاً على الإصابة الرئوية التليفية وكذلك تشاهد أضداد المتقدرات لدى مرضى متلازمة التشمع الصفراوي البدئي، أدواء الأمعاء الالتهابية، التهاب الكبد المناعي الذاتي، والصلابة الجهازية.^[3]

الكشف عن أضداد النواة ANA باستخدام تقنية الأليزا ELISA:

يعتمد الاختبار على ارتباط أضداد النواة الموجودة في مصل المريض مع المستضدات الموجودة في قعر الصفيحة، تتحد الأضداد مع مستضداتها المتخصصة التي يكشف عنها بإضافة الغلوبولين المناعي IgG المعلم بالإنزيم الذي يعطي عند تفاعله مع المادة الأساس (الركيزة) مركباً ملوناً (باللون الأزرق) تتناسب شدته طردياً مع تركيز هذه الأضداد، ويتحول عند إضافة مادة إيقاف التفاعل من اللون الأزرق إلى الأصفر والذي تقاس شدته على جهاز مقياس الطيف الضوئي على طول موجة 450 نانومتر.^[1]

تُمدد عينات المصل بنسبة (1\200) وتوزع على حجرات في الصفيحة ومن ثم تُحضن العينات الممددة في درجة حرارة الغرفة لمدة نصف ساعة من أجل تحقيق الارتباط بين المستضدات الموجودة في قعر الصفيحة والأضداد في المصل. من ثم تُفَرغ الصفيحة الدقيقة من العينات وتُغسل ثلاث مرات ومن ثم تُجفف لاستبعاد الأضداد غير المرتبطة والشوائب الأخرى. يُضاف ضد الموسوم بأنزيم البيروكسيداز إلى حجرات الصفيحة ويُعاد الحضانة في درجة حرارة الغرفة لنصف ساعة. من ثم تفرغ الصفيحة الدقيقة من ضد الموسوم بالإنزيم وتُغسل ثلاث مرات ثم تجفف. تضاف الركيزة TMBH₂O₂ إلى حجرات الصفيحة لتحقيق الارتباط مع الأنزيم وتحضن لمدة ربع ساعة في درجة حرارة الغرفة يضاف بعد ذلك محلول إيقاف التفاعل إلى حجرات الصفيحة ويتم قياس الامتصاصية بجهاز قارئ الأليزا بطول موجة 450 نانومتر. تحسب النتيجة في هذه الطريقة على شكل سلبى أو إيجابي: امتصاصية العينة/امتصاصية Calbration إذا كانت النسبة أكثر من 1 فالنتيجة إيجابية أما إذا كانت النتيجة أصغر من 1 فالنتيجة سلبية.^[1]

تحديد وجود أضداد النوى بتقنية التآلق المناعي غير المباشر IIF:

يعتمد الاختبار على ارتباط الأضداد النوعية الذاتية في مصل المريض مع المستضدات المثبتة على الشريحة (خلايا HEp-2 الخلايا الظهارية الورمية البشرية). تتحد هذه الأضداد مع مستضداتها وتشكل معقداً يتحد مع الأضداد النوعية الذاتية المرتبطة مع المستضدات ويتم الكشف عنها بإضافة الغلوبولين المناعي IgG الموسوم بمادة متألقة وتتم قراءة النتيجة بمجهر مفلور (متألق).

يتم إجراء هذا الاختبار وفق خطوات العمل التالية:

1- يمدد المصل بمقدار 1\100 من خلال إضافة 11.1 ميكرو لتر من المصل إلى 1 مل من محلول التمديد.

2- يوضع 30 ميكروليتراً من العينة الممددة على الصفيحة ويوضع فوقها الشريحة المثبت عليها المستضدات لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة الغرفة.

3- تغسل الشريحة بمحلول الغسل لمدة 5 دقائق.

4- يضاف 25 ميكروليتراً من الأنزيم الموسوم بمادة متألقة على الشريحة وتحضن في الظلام لمدة 30 دقيقة.

5- تغسل الشريحة بعدها لمدة 5 دقائق وتجفف وتوضع قطرة من الغليسرول فوق كل حجرة وفوقها تثبت ساترة.

6- تقرأ النتيجة باستخدام المجهر المفلور على التكبير X40.

تسمح هذه الطريقة بتمييز الأنماط تحت المجهر لقد تم ربط هذه الأنماط في العديد من الدراسات بأمراض معينة يمكن شرح هذا الارتباط كما شرح سابقاً بكون هذه الأنماط ممثلة للارتباط مع المكونات حسب توزيعها بين النواة والسيتوبلاسما.^[1]

لذلك قمنا بتصميم دراسة تهدف إلى تحديد توزع هذه الأنماط الشكلية لدى مرضى الدراسة ومعرفة العلاقة كنسبة مئوية ما بين حالة المريض أو الشخص الطبيعي ذو تحليل أضداد النوى الايجابي ونسبة الشبوع الراجعة لنمط أضداد النوى (منتشر، متجانس، مبرقش، محيطي، نويوي).

ما معنى هذه الأنماط وكيف يتم تمييزها وبما يمكن ربطها من أضداد؟ [2]، 3، 4، 5، 6، 8]

1- **النمط المتجانس:** التآلق منتشر وموحد على كامل الخلية في الطور البيني. تظهر الخلايا في الطور التالي تآلقاً متجانساً للصبغيات المتجمعة. يعتبر نوعياً للأضداد الموجهة لـ DNA و الـ DNP والهيستون.

2- **النمط المحيطي:** التآلق منتشر وموحد مع تعزز لهذا التآلق وزيادة في كثافته في الناحية الخارجية من النواة بالنسبة للخلايا في الطور البيني في حين تظهر الخلايا في الطور التالي تآلقاً أعلى كثافة على مستوى المنطقة تحت الغشاء النووي ويعتبر هذا النمط نوعياً لأضداد الهيستون والـ DNA .

3- **النمط المرقط الخشن بدون النمط النووي:** التآلق موحد مع ترقرق خشن في المطرق النووي من تآلق نويوي الخلايا في الطور التالي لا تظهر أي تآلق على مستوى منطقة الصبغيات. يعتبر هذا النمط نوعياً لصد سميث (Anti-sm) وأضداد الريبونيكليوبروتين (Anti-RNP).

4- **النمط المرقط الخشن مع بعض التوضعات النووية:** التآلق موحد مع توضعات مرقطة ومتوضعة في المطرق النووي وذلك على حساب الخلايا في الطور البيني. في حين أن الخلايا في الطور التالي لا تظهر أي تآلقاً على مستوى منطقة الصبغيات. يعتبر هذا النمط نوعياً لأضداد SS\B (Anti-SS\B).

5- **النمط المرقط الصريح بدون نمط نويوي:** التآلق موحد مع توضعات مرقطة واضحة الحدود وجيدة التمايز فيما بينها ومتوضعة في المطرق النووي وذلك على حساب الخلايا في الطور البيني. في حين لا تظهر الخلايا في الطور التالي أي تآلقاً على مستوى منطقة الصبغيات. يعتبر هذا النمط نوعياً لأضداد (SL، Mi-2، Mi-1، SS\A).

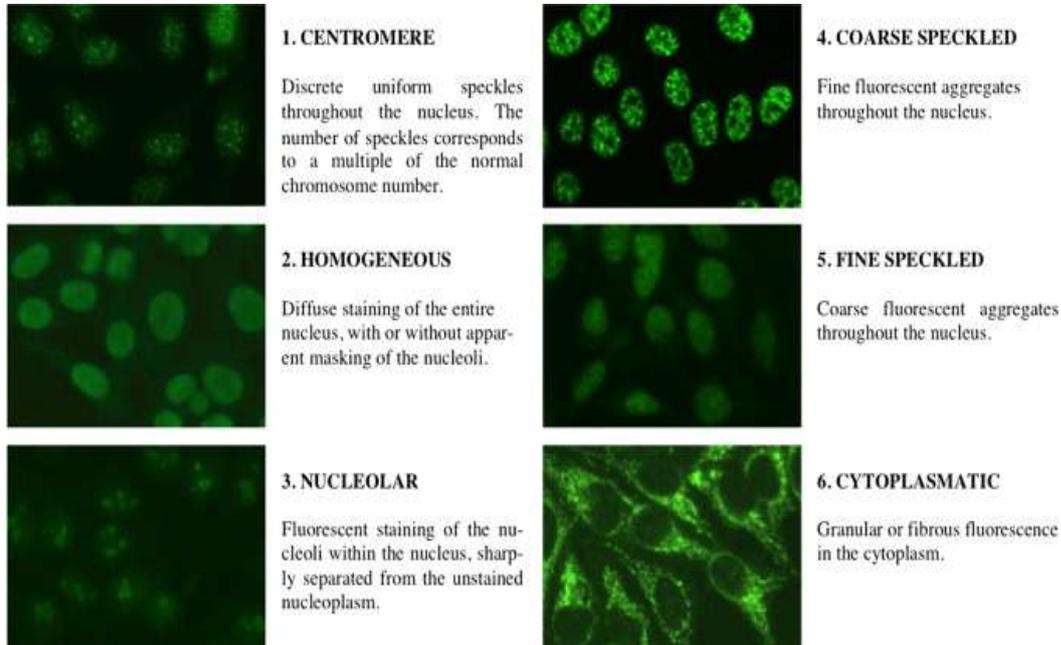
6- **النمط المرقط الصريح مع نمط نويوي:** التآلق موحد مع توضعات مرقطة واضحة الحدود وجيدة التمايز فيما بينها ومتوضعة في المطرق النووي مع تآلق نويوي وذلك على حساب الخلايا في الطور البيني. في حين أن الخلايا في الطور التالي لا تظهر أي تآلقاً على مستوى منطقة الصبغيات. يعتبر هذا النمط نوعياً لأضداد الصلابة (Anti-scl70). يعتبر هذا النمط ضدّاً واسماً ونوعياً للبروتين كيناز (70k) وهو ومشخص للصلابة.

7- **النمط المرقط المنتشر (القسم المركزي) بدون نمط نويوي:** التآلق موحد مع بقع كروية من التآلق في 40-60 % من النوى. الخلايا في الطور البيني تظهر زيادة في الكثافة بشكل مرقط في منطقة تجمع الصبغيات

بما يتماشى بهذه الصورة مع منطقة القسم المركزي. الخلايا في الطور النهائي لا تظهر هذه التوضعات. يعتبر هذا الضد نوعياً للقسم المركزي ويعتبر عيار هذا الضد واسماً لتشخيص متلازمة الصلابة الجهازية المحدودة (متلازمة CREST).

8- **النمط المرقط غير النمذجي المنعزل (شكل القسم المركزي الكاذب، البقع النووية):** يكون التألق بشكل بقع نووية مبعثرة وقليلة أقل من عشر بقع متألفة في نواة خلايا الطور البيني فقط. لا تظهر خلايا الطور التالي أي توضعات متألفة في منطقة الصبغيات. النمط الكيميائي لهذه الأضداد لا يزال غير واضح بشكل كامل لكن هذه الأضداد تم تعريفها كأضداد NSP-1 المترافق مع التهاب الكبد المزمن.

9- **النمط النووي المعزول (النويوي فقط):** التألق النووي قد يكون متجانساً، مرقطاً، ملتقاً أو ما حول النواة. لا تظهر الخلايا في الطور التالي عادةً أي تألق في منطقة الصبغيات. يعتبر هذا النمط نوعياً للأضداد النووية وهي أضداد (Anti-4-6 RNA) أضداد الـ RNA، أضداد الـ RNP ، وأضداد منظم الـ DNA النووي. (الشكل رقم 1) يوضح أنماط أضداد النوى عند إجراء الاختبار بالـ IIF



الشكل رقم (1) يوضح أنماط أضداد النوى عند إجراء الاختبار بالـ IIF

هذه هي أنماط أضداد النوى لكن يمكن القول بأن الأنماط الهامة سريرياً هي النمط المتجانس، النمط المرقط، النمط النووي، القسم المركزي، والنمط المحيطي وذلك لكون أغلب المخابر تعطي هذه الأنماط ولكونها الأكثر أهمية من الناحية السريرية. كثير من الحالات قد يكون هذا النمط مفتاحاً في التشخيص من حيث قدرته على حصر الأنماط الضدية باتجاه معين (وفق الجدول السابق) ما يعطي القدرة على بناء التشخيص في الحالات الملتبسة على ذلك يمكن أن نعطي مثلاً أن نمط القسم المركزي يعتبر نوعياً جداً لمتلازمة CREST (الصلابة الجهازية المحدودة) في حين قد يبقى الأمر مبهماً مثل ما هو الحال في النمط المختلط وحتى المرقط (مع ضيق المجال التشخيصي مقارنة بغيرها).^[3]

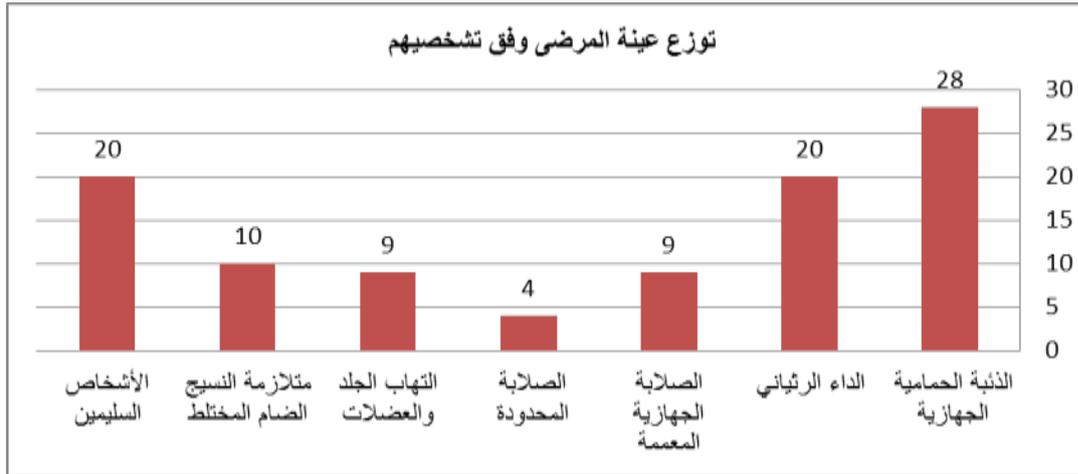
المرضى والطرائق:

قمنا بدراسة في قسم الأمراض الباطنة بالاعتماد على سجلات المرضى المقبولين في قسم الأمراض الباطنة حيث عدنا إلى سجلاتهم المخبرية وقصصهم المرضية والتشخيص النهائي وذلك في شعب القسم (شعبة أمراض الجهاز الحركي،شعبة أمراض الكلية،الشعبة العصبية،وشعبة أمراض الدم). تم إدخال المرضى إيجابى أضداد النوى (ANA) باستخدام اختبار الـ (ANA-HEp-2) من شركة Euroimmune تم جمع بيانات ما يقرب من 100 مريض ايجابي الـ(ANA) _بعد استبعاد من لا يحققون معايير الدراسة_ تراوحت أعمارهم ما بين الـ20 سنة والـ70 سنة وتم الوصول إلى التشخيص اعتماداً على سجلاتهم في دراسة راجعة حيث تم خلالها مراجعة سجلات المرضى المقبولين في القسم خلال عام 2017م وتم فرز المرضى حسب نتيجة الـ ANA وفقاً للنمط ومن ثم العودة لسجلاتهم ومتابعة حالاتهم ومن هم بتشخيص مؤكد أو احتمالي أو بدون تشخيص أو من لم يثبت لديهم أي مرض مناعي ذاتي خلال المتابعة. تم الاعتماد على المعايير العالمية لتشخيص الأمراض عند وضع أو نفي أي مرض بشكل مستقل وذلك بشكل نوعي للذئبة والداء الرثياني والصلابة الجهازية المعممة والمحدودة ومتلازمة النسيج الضام المختلط وكذلك الأمر بالنسبة لالتهاب العضلات العديداً \ التهاب الجلد والعضلات العديداً.

كان الهدف من هذه الدراسة رصد أو تحديد أي توزع لأنماط أضداد النوى(وفق النماذج التي تم تحديدها مخبرياً) لدى مرضى الأدوية المناعية الذاتية ممن كانوا ايجابى الـ ANA. تم الاعتماد على الدراسات العالمية التي ربطت أنماط الأضداد هذه مع الأدوية المناعية وكانت هي: المتجانس، المبرقش، النوي، والجسيم المركزي. في حين تم استبعاد المرضى مع تحاليل بعيارات منخفضة (ما سمي وفق المخبر بالايجابية الضعيفة) كذلك خلال المراجعة للسجلات استبعد المرضى الذين أظهر التآلق المناعي لديهم نمطاً سيتوبلازمياً أو مختلطاً. الهدف من الدراسة كان تحديد النمط الأكثر تواتراً لدى كل مجموعة من المرضى المصابين بمرض معين يضاف إلى ذلك تحديد ومقارنة سويات وأنماط الأضداد للأشخاص الأسوياء(لم يكن لديهم داء جهازى مثبت حتى نهاية الدراسة).

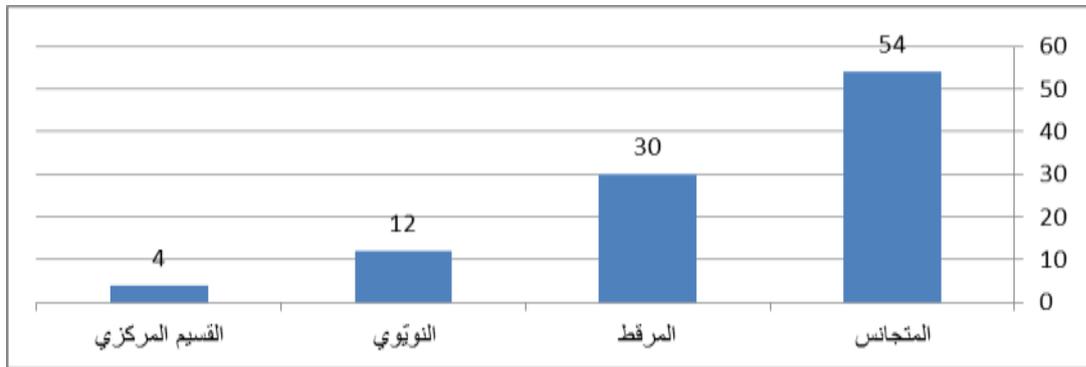
النتائج والمناقشة:

دخل في الدراسة 100 مريض إيجابي الـ ANA توزعوا وفق الأمراض على: دون حديثة مناعية أو مرضية واضحة أو معروفة (20مريض)، الذئبة الحمامية (28مريض)، الداء رثياني (20مريض)، الصلابة الجهازية المعممة (9 مرضى)، الصلابة الجهازية المحدودة (4مرضى)، التهاب العضلات العديداً والتهاب الجلد والعضلات (9مرضى)، متلازمة النسيج الضام المختلط (10مرضى) . المخطط رقم (1)



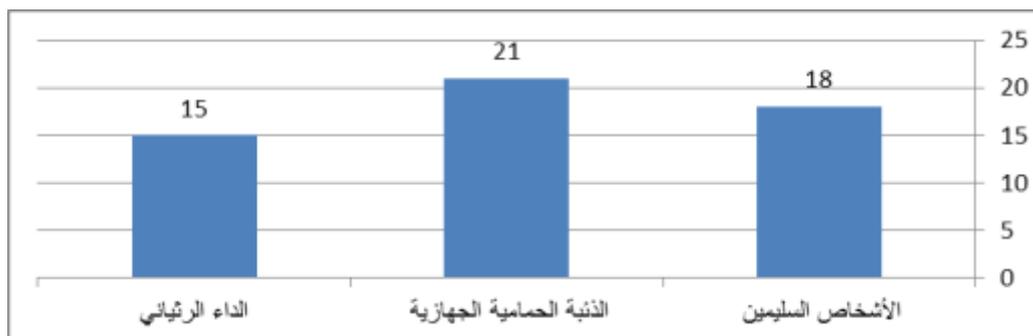
المخطط رقم (1): توزيع عينة مرضى الدراسة وفق لتشخيصهم

توزعت الأنماط ما بين المتجانس، المرقط، النووي والقسم المركزي. كان النمط المتجانس هو الأكثر شيوعاً بمعدل 54 نتيجة إيجابية (54%) في حين كان النمط المرقط إيجابياً لدى 30 مريض (30%) في حين كانت الأضداد من النمط النووي إيجابية في 12 مريض بنسبة (12%) وأضداد القسم المركزي إيجابية في (4%). يظهر المخطط (2) توزيع أنماط أضداد النوى ضمن عينة الدراسة.



المخطط رقم (2) توزيع أنماط أضداد النوى ضمن عينة الدراسة

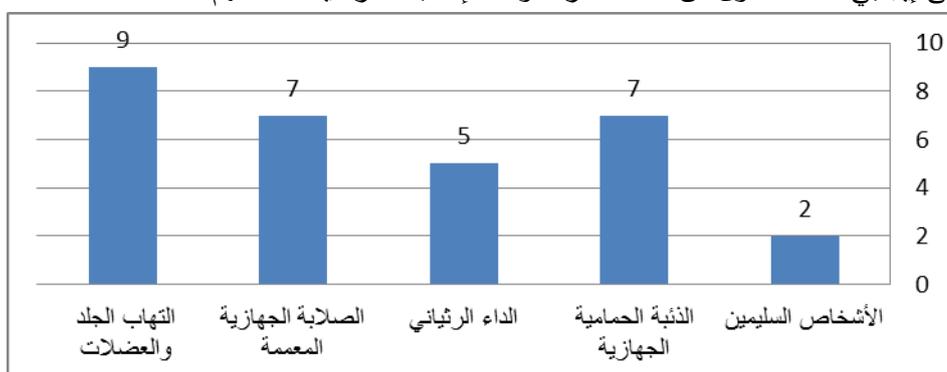
كان النمط المتجانس هو الأكثر شيوعاً (54 مريض) عند إجراء التتميط لمرضى عينة الدراسة وكان توزيعه ضمن مرضى العينة وفق ما يلي : 18 شخص سليم لم يثبت لديه إصابة مناعية أو جهازية أو أية إمرضية معينة وبنسبة تقدر ب 33% ، 21 مريض ذئبة حمامية جهازية وبنسبة تقدر ب 39% (تم وضع التشخيص بالاعتماد على معايير الرابطة الأمريكية لطب المفاصل لعام 1997م)، 15 مريض داء رثياني وبنسبة تقدر 28% (وتم وضع تشخيص الداء الرثياني بالاعتماد على معايير عام 2010 للجمعية الأمريكية لطب المفاصل والجمعية الأوروبية للأمراض المفصالية). يبين المخطط رقم(3) توزيع المرضى مع أضداد نوى إيجابية من النمط المتجانس على مجموعات الأمراض.



المخطط رقم (3) توزيع أنماط النوى ضمن عينة الدراسة

توزع النمط المتجانس على المرضى بين داء رثياني والذئبة الحمامية الجهازية والأشخاص بدون إمرضية واضحة أو الأشخاص السليمين. وهذا ما يتوافق مع كونه موجهاً ضد أضرار الدنا (DNA)، أضرار الهيستون، ومع أضرار البروتينات المتعلقة بالحمض النووي. يمكن من ذلك وإلى حد كبير الاعتماد عليه كنمط واسم لمجموعة من هذه الأمراض دون غيرها وأهمها الذئبة الحمامية الجهازية (وقد تكون الذئبة الدوائية كذلك) والداء الرثياني وكذلك الأمر بالنسبة لكونه متواتراً بشكل مهم لدى الأشخاص السليمين وفقاً لدراستنا.

بالنسبة للنمط المرقط كان النمط الثاني من حيث الشيوع في دراستنا حيث كانت أضرار النوى من النمط المرقط إيجابية في 30 مريض (بنسبة 30%). توزع المرضى إيجابياً النمط المرقط على مجموعات وفق لحالتهم المرضية كان وفق ما يلي: 2 مريض إيجابي أضرار النوى من النمط المرقط لم تظهر لديهم أي صورة سريرية أو مخبرية تم اعتبارهم أشخاص سليمين وبنسبة مئوية تقدر بـ 7% من مجموع المرضى إيجابي أضرار النوى من النمط المرقط، 7 مرضى ذئبة حمامية جهازية وبنسبة مئوية تقدر بـ 23% من ذات المجموعة، 5 مرضى داء رثياني وبنسبة مئوية تقدر بـ 17%، 7 مرضى صلابة جهازية معممة وبنسبة مئوية 23% من المجموعة (تم وضع تشخيص الصلابة اعتماداً على القصة السريرية والاستقصاءات الداعمة)، 9 مرضى التهاب عضلات عديد التهاب جلد وعضلات وبنسبة مئوية 30% من مجموع المرضى إيجابياً أضرار النوى من النمط المرقط (تم وضع التشخيص بالاعتماد على المعايير المشتركة للجمعية الأمريكية والجمعية الأوروبية لطب المفاصل لتشخيص التهاب العضلات العديداً التهاب الجلد والعضلات، كان التشخيص مرتكزاً على الصورة السريرية والمخبرية إضافة إلى الخزعة النسيجية). يمثل المخطط رقم (4) توزيع المرضى إيجابي أضرار النوى من النمط المرقط وفقاً للإصابة المرضية لكل منهم.



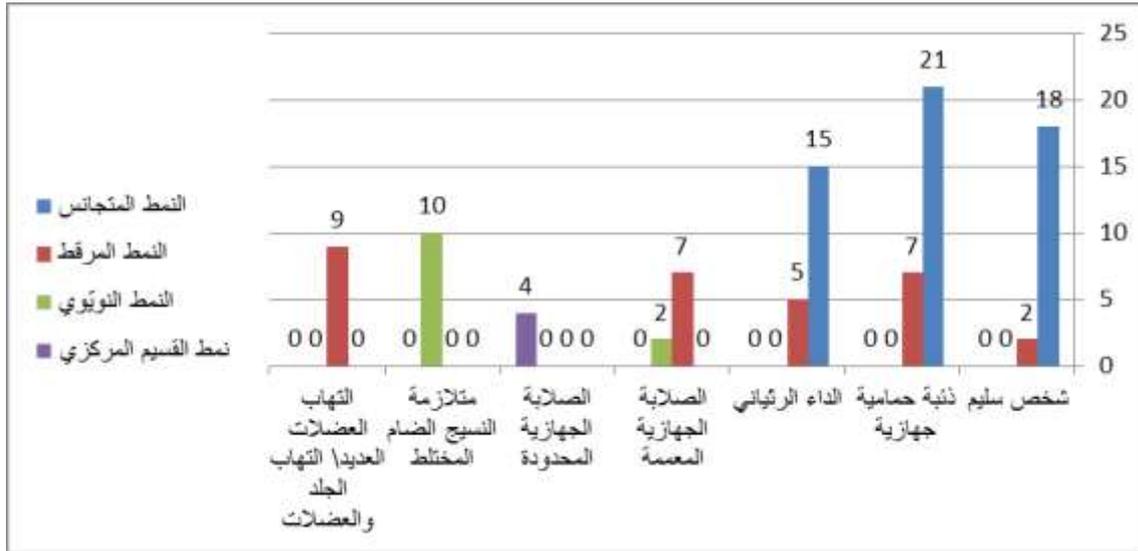
المخطط رقم (4) توزيع المرضى إيجابي أضرار النوى من النمط المرقط وفقاً للإصابة المرضية

من ذلك يمكن القول بأن النمط المرقط كان واسماً عالي الحساسية لمرضى التهاب الجلد والعضلات (كونه كان موجوداً بنسبة لدى 9 مرضى من 9 بنسبة 100%)، كذلك الأمر بالنسبة لمرضى الصلابة حيث كان موجوداً لدى 7 مرضى من 9 من مرضى الصلابة في الدراسة بنسبة 78% وهذا يتماشى مع كون النمط المرقط يتضمن الكثير من تحت الأنماط الشكلية والأضداد النوعية منها أضداد التهاب الجلد والعضلات بجزء منها وأضداد الصلابة. هذا التفاوت الشكلي يتماشى مع نتائج هذه النسب حيث نلاحظ وبشكل واضح توزيعه على الأمراض المختلفة وتقريباً جميع الأمراض المدروسة كان لدى مرضاها إيجابية للنمط المرقط باستثناء الصلابة المحدودة ومتلازمة النسيج الضام المختلط.

بالنسبة للنمط النووي فقد كان موجوداً لدى 12 مريض من مرضى الدراسة بنسبة 12% وكان موزعاً على الشكل التالي 2 مرضى صلابة جهازية معممة وبنسبة 17%، 10 مرضى متلازمة نسيج ضام مختلط وبنسبة مئوية 83% من المرضى إيجابي أضداد النوى من النمط النووي (تم وضع تشخيص متلازمة النسيج الضام المختلط بالاعتماد على المعايير التشخيصية لـ Alarcon-segovia). كان النمط النووي مميزاً لمتلازمة النسيج الضام المختلط هذا يعود لكون متلازمة النسيج الضام المختلط معتمدة بشكل كبير في التشخيص والآلية المرضية على أضداد الريبونيكوليوتيد الحلقي وهو واحد من البروتينات النووية. يندرج تحت النمط النووي أضداد البروتين النكليوتيد الحلقي وأضداد RNA وبروتيناته هذا ما يفسر إلى حد كبير هذه المشاهدة.

كان نمط القسم المركزي الأقل تواتراً لدى مرضى عينة الدراسة كان مترافقاً بشكل وثيق مع تشخيص متلازمة الصلابة الجهازية المحدودة (متلازمة CREST) وكان تشخيص المرضى مبنياً على الصورة السريرية: كلاسات الجلد، ظاهرة رينو، اضطراب حركية المريء، صلابة الأصابع، والتوسعات الوعائية الشعرية. لم يكن بين عيار الضد والصورة السريرية أي ارتباط واضح من ناحية عياره أو شدة الإيجابية. جميع المرضى كانوا مقبولين في شعبة أمراض الجهاز الحركي والروماتيزم.

إذاً توزع أنماط الأضداد وفق للمرضى في دراستنا كان كما يلي : الأشخاص السليمين (20 شخص: 18 متجانس، 2 مرقط)، الذئبة الحمامية الجهازية (28 مريض: 21 متجانس، 7 مرقط)، الداء الرثياني (20 مريض: 15 متجانس، 5 مرقط)، صلابة جهازية معممة (9 مرضى: 7 مرقط، 2 نووي)، متلازمة النسيج الضام المختلط (10 مرضى: 10 نووي)، التهاب العضلات العديدا التهاب الجلد والعضلات (9 مرضى: 9 مرقط)، الصلابة الجهازية المحدودة (4 مرضى: 4 قسم مركزي). يوضح المخطط رقم (5) توزيع المرضى وفقاً لأنماط الأضداد في كل مجموعة.



المخطط رقم (5) توزع المرضى وفقاً لأنماط الأضداد في كل مجموعة.

الاستنتاجات والتوصيات:

يعتبر اختبار أضداد النوى من الاختبارات ذات الموثوقية العالية في تشخيص الأمراض المناعية الذاتية بالاجتماع مع الصورة السريرية وتمييزها عن الحالات الأخرى الجهازية من (انتانات، أورام خبيثة، أمراض مزمنة...) وتمييز الأمراض المناعية الذاتية فيما بينها، ويفيد كذلك في متابعة سير المرض في الكثير من الأمراض المناعية الذاتية.^[1]

في هذه الدراسة التي هدفت إلى تحديد أنماط أضداد النوى التي تجرى بطريقة المقايسة المناعية المفردة غير المباشرة تم رصد 100 نتيجة إيجابية لدى مرضى بتشخيص مختلفة كان الهدف من الدراسة هو ربط التشخيص بنمط معين من خلال تحديد نسبة انتشار الأنماط في كل مرض بشكل مستقل ضمن عينة الدراسة.

من خلال الدراسة تبين أن أنماط الأضداد ترتبط بشكل وثيق بتشخيص المريض حيث تتراوح نسبة الارتباط بين 100% لدى مرضى الصلابة الجهازية المحدودة ونمط القسم المركزي لأضداد النوى ولدى مرضى التهاب العضلات العنكبوتية والتهاب الجلد والعضلات والنمط المرقط. لكن هذا الارتباط قد يكون واسماً كما هو الحال في أضداد القسم المركزي والصلابة الجهازية المحدودة، وقد يكون مميزاً دون أن يكون له صفة مؤكدة كناعية مخبرية (بمعنى واسم) بالنسبة للنمط المرقط والتهاب العضلات العنكبوتية والتهاب الجلد والعضلات. في حين كان النمط المسيطر هو المتجانس لدى كل من مرضى الذئبة الحمامية الجهازية والداء الرثياني والأشخاص السليمين (لم يثبت وجود أي آلية مرضية) وكان النمط النووي مميزاً لدى مرضى متلازمة النسيج الضام المختلط وجزء من مرضى الصلابة.

مما سبق يمكن القول بأن التمييز لأضداد النوى يمكن أن يكون ذو دلالة تشخيصية ويمكن الاستفادة منه بشكل كبير في تشخيص الأمراض المناعية حيث تتراوح الفائدة التشخيصية من حصر التشخيص التفريقي للأمراض المناعية الذاتية وحتى كون النمط الضدي واسماً للمرض بحد ذاته (أضداد القسم المركزي ومتلازمة CREST).

اعتمدت دراستنا على تحليل نتائج أضداد النوى وأنماطها لدى مرضى مقبولين سابقاً في المشفى من خلال مراجعة السجلات في دراسة راجعة شملت سجلات المرضى على مدى عام 2017م وهذا يمكن أن يشكل مجالاً للخطأ في النتائج (نتيجة سوء الحفظ أو الخلط أو الضياع للسجلات أو اختفاء المرضى) حاولنا التقليل من ذلك في دراستنا

قدر الإمكان من خلال استبعاد كل المرضى المشتبهين بمرض ولم يتم تشخيصه أو المرضى الذين لم يوضع لهم تشخيص أو المرضى الذين كانت أضابيرهم ناقصة أو لم يتابعوا لاحقاً، كما استبعدنا من الدراسة المرضى الذين كانت نتائج الاختبار لديهم ضعيفة الايجابية أو كانوا من نمط مختلط أو سيتوبلاسمي. كذلك فقد بنيت الدراسة على تشخيص نهائي للأمراض وفقاً للمعايير الخاصة بكل مرض لكي ننقص قدر الإمكان من أخطاء التشخيص. شملت الدراسة عدداً كبيراً نسبياً من المرضى (100 مريض) وشملت أنماط أضداد النوى وفق اختبار ANA-HEp2 من شركة Euroimmune لذلك لم يكن ضمن نتائجنا أي ذكر للنمط المحيطي. يمكن من خلال هذه الدراسة التوصية بإجراء تميظ روتيني لأي اختبار أضداد نوى وذكر النمط دون الاكتفاء بتحديد إيجابية أو سلبية من خلال المعايرة.

المراجع:

- 1- Yehuda Shoenfeld M.D., FRCP, MACR, Pier Luigi Meroni M.D., M. Eric Gershwin M.D., MACP, MACR. *Autoantibodies 3rd Edition*. 2014, Elsevier B.V.
- 2- David F. Keren, MD, *Antinuclear antibody testing*, Clin Lab Med 22 (2002) 447–474.
- 3- Yashwant Kumar, Alka Bhatia and Ranjana Walker Minz. *Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited*. Review. Diagnostic Pathology 2009, 4:1 doi:10.1186/1746-1596-4-1
- 4- CHELVI WIJAYA & ULENG BHRUN. *The Role of Antinuclear Antibody (ANA) Profile in Diagnosis of Systemic Lupus Erythematosus*. Advances in Cytology & Pathology Volume 2 Issue 5 – 2017.
- 5- María Elena Soto, Nidia Hernández-Becerril, Ada Claudia Perez-Chiney, Alfredo Hernández-Rizo, José Eduardo Telich-Tarriba, Luis Eduardo Juárez-Orozco et al. *Predictive value of antinuclear antibodies in autoimmune diseases classified by clinical criteria: Analytical study in a specialized health institute, one year follow-up*. Results in Immunology 5 (2015) 13–22, Elsevier, journal homepage: www.elsevier.com/locate/rinim
- 6- Kun-Yi Wang, Yao-Hsu Yang, Ya-Hui Chuang, Pei-Jung Chan, Hsin-Hui Yu, Jyh-Hong Lee. *The initial manifestations and final diagnosis of patients with high and low titers of antinuclear antibodies after 6 months of follow-up*. Journal of Microbiology, Immunology and Infection (2011) 44, 222e228.
- 7- Minoru Satoh, Monica Vázquez-Del Mercado, Edward K. L. Chan. *Clinical interpretation of antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases*. Mod Rheumatol. 2009. 19(3): 219–228. doi:10.1007/s10165-009-0155-3.
- 8- EUROIMMUNE, ANA Diagnostic Using Indirect Immunofluorescence.