

مقدمه

به پروتئین‌هایی که در اثر عواملی همچون التهاب، نکروز، عفونتهای باکتریایی و ویروسی و بدخیمی‌ها، مقدارشان در پلاسما و سرم خون انسان و حیوانات خونگرم تغییر می‌یابد، پروتئینهای فاز حاد (APP: Acute Phase Proteins) گویند. نقش اکثر این پروتئینها، کاهش ضایعات التهابی در بافتها می‌باشد، به این ترتیب که آنها، سبب دفع عامل التهاب، خارج کردن و از بین بردن قطعات بافتی صدمه دیده و در نهایت ترمیم بافتی می‌شوند. این پروتئینها جزء سیستم ایمنی ذاتی بوده و قبل از ایمنی اختصاصی شروع به فعالیت می‌کنند. اغلب این پروتئین‌ها از جنس گلیکوپروتئین هستند و منبع اصلی سنتز آنها، سلولهای کبدی (Hepatocytes) می‌باشد. ماکروفاژها نیز تعدادی از اجزاء کمپلمان، و لوکوسیت‌ها هم سنتز آلفا یک-اسید گلیکوپروتئین را که از پروتئینهای فاز حاد می‌باشند، سنتز و در سرم ترشح می‌کنند. میزان ترشح APPها به صورت مستقیم و غیر مستقیم به عواملی از جمله سایتوکاینها، سلولهای T و غیره بستگی دارد. اندوتوکسین (LPS) باکتریهای گرم منفی قویترین محرک سنتز پروتئینهای فاز حاد می‌باشد. علاوه بر این، سایتوکاینهای اینترلوکین یک (IL-1)، اینترلوکین شش (IL-6) و فاکور نکروز دهنده توموری آلفا (TNF-a) تولید شده از ماکروفاژها، بر روی کبد اثر گذاشته، تولید و ترشح APPها را از سلولهای کبدی سبب می‌شوند.

از پروتئینهای فاز حاد می‌توان به پروتئین واکنشگر با ماده سی (CRP: C- Reactive Protein)، پروتئین آمیلوئید آبی سرمی (SAM: Serum Amyloid A) برخی قطعات پروتئینی کمپلمان از جمله فاکتور بی (BF: B Factor)، قطعات C2، C3، C4، C5 و C9 اشاره کرد.

ظهور، افزایش یا کاهش مقدار هر یک از پروتئینهای مرحله حاد در طول یک بیماری، متفاوت و مستقل از یکدیگر می‌باشد. بعنوان مثال، CRP ۶ تا ۸ ساعت پس از یک ضایعه در سرم ظاهر می‌شود و پس از ۴۸ تا ۷۲ ساعت به حداکثر خود می‌رسد، در صورتی که هاپتوگلوبین (Haptoglobin) و سروپلاسمین (Seruloplasmin) قبل از ۱۲ تا ۲۴ ساعت قابل تشخیص نبوده و در عرض ۷۲ تا ۹۶ ساعت پس از ضایعه به حداکثر می‌رسند. از طرفی مقدار CRP در طول ضایعه بافتی، همچنان بالا باقی می‌ماند و بلافاصله پس از ترمیم بافت، سرعت کاهش یافته و دیگر در سرم قابل اندازه‌گیری نمی‌باشد. از بین پروتئینهای فاز حاد، اندازه‌گیری CRP بعلاوه افزایش سریع آن در آغاز ضایعه بافتی و

کاهش سریع آن به محض بهبودی، بهترین راه تشخیص ضایعات بافتی است. علاوه بر این به نظر می رسد بین شدت ضایعه و مقدار پروتئینهای فاز حاد در جریان خون، رابطه وجود دارد.

سی راکتیو پروتئین (CRP)

در سال ۱۹۳۰ اولین بار دو دانشمند به نامهای فرانسیس (Francis) و تایل (Tillet) پس از تحقیقات متوجه شدند که پروتئینی در سرم افراد مبتلا به پنوموکوک وجود دارد که قادر است با پلی ساکارید سی (C) کپسول باکتری پنوموکوک در محیط آزمایشگاه واکنش داده، سبب متورم شدن این باکتریها شود، به همین دلیل نام پروتئین کشف شده را، سی آر پی یا ماده واکنشگر با ماده سی (CRP: C- Reactive Protein) نام نهادند. CRP، یک پروتئین کروی شکل با ساختار پنتامری (Pentameric) (یعنی از پنج مونومر یکسان که با پیوندهای اشتراکی به هم چسبیده اند، درست شده است) می باشد. CRP، از جفت عبور نکرده و تاکنون فقط در انسان و میمون کشف شده است. این پروتئین در سرم و مایعات بدن افراد سالم به مقدار بسیار کم گزارش شده است (مقدار طبیعی آن در سرم در حدود ۳/۵ میلی گرم بر لیتر است) ولی در واکنشهای التهابی، مقدار CRP بطور ناگهانی تا ۳۰۰۰ هزار برابر میزان طبیعی آن، در عرض ۶ تا ۴۸ ساعت افزایش می یابد.

در بیماریهای زیر مقدار CRP در سرم بالا می رود:

- (۱) عفونتهای باکتریایی
- (۲) عفونتهای ویروسی
- (۳) تب روماتیسمی
- (۴) سکته قلبی حاد
- (۵) سرطانهای بدخیم
- (۶) آرتریت روماتوئید
- (۷) بیماری سل

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

التهاب بافت عضلانی ماهیچه قلب را بدست آورد. CRP قادر است به فسفوریل کولین غشای باکتریها متصل شود و کمپلمان را از مسیر کلاسیک فعال نماید، با فعال شدن کمپلمان و در نهایت تشکیل کمپلکس حمله به غشاء (MAC: Membrane Attack Complex) باکتری مورد نظر لیز شده و از بین خواهد رفت. علاوه بر این در طول فعال شدن کمپلمان اجزای C3b و C4b بوجود می آیند. C3b و C4b سطح باکتری را پوشانده و باعث اپسونیزاسیون باکتری می شوند. علاوه بر اینها، سلولهای بیگانه خوار (بطور مثال، ماکروفاژها) بر سطح خود، برای CRP، دارای گیرنده (Receptor) می باشند. به عبارت دیگر خود CRP می تواند همانند C3b و C4b بعنوان اپسونین عمل کرده سبب اپسونیزاسیون باکتریها شود.

تشخیص و یا اندازه گیری CRP در سرم، چه کاربردهایی دارد؟

(۱) اثبات حضور CRP در سرم جنبه تشخیصی برای خیلی از عفونتها، بدخیمیهها، بیماریهای التهابی و بخصوص سکتة های قلبی دارد.

(۲) با اندازه گیری مقدار یا تیتراسیون CRP سرم، می توان به شدت بیماری پی برد.

(۳) با اندازه گیری CRP در فواصل زمانی مختلف می توان روند درمان بیماری را کنترل کرده، به موثر بودن یا نبودن رژیم درمانی پی برد.

روش انجام آزمایش CRP

در گذشته از پلی ساکراید C پنوموکوک برای تشخیص CRP استفاده می شد ولی به علت مشکلاتی که در تهیه این آنتی ژن وجود دارد، امروزه از کیتی که بدین منظور تهیه می شود، برای تشخیص CRP در سرم استفاده می شود. در این کیت، از آنتی بادی ضد CRP (anti- CRP) برای تشخیص CRP در سرم استفاده می شود.

اجزای موجود در کیت CRP

(۱) قطره چکان حاوی سرم کنترل مثبت (Positive Control)

(۲) قطره چکان حاوی سرم کنترل منفی (Negative Control)

(۳) قطره چکان حاوی آنتی بادی ضد CRP از کلاس IgG، که بر سطح ذرات لاتکس متصل شده است.

(۴) اسلاید زمینه سیاه

۵) اپلیکاتور

۶) بافر برای رقیق کردن و تیتراسیون سرم بیمار (در برخی از کیتها)

آزمایش CRP به دو روش کیفی و کمی انجام می شود:

روش کیفی (اسلایدی)

روی اسلاید زمینه سیاه یک قطره سرم بیمار، یک قطره سرم کنترل مثبت و یک قطره سرم کنترل منفی بریزید.

شیشه محتوی ذرات لاتکس را به آرامی تکان داده، سپس به هر کدام از سه قطره سرم مرحله قبل، یک قطره از آن را اضافه نماید.

با اپلیکاتور هر کدام از سرم ها را با ذرات لاتکس، مخلوط نموده، به اندازه دایره ای به قطر دو سانتی متر پخش نماید. لام را به مدت دو دقیقه به آرامی بر روی دست یا روتاتور حرکت دورانی داده و نتیجه آگلوتیناسیون را زیر نور بررسی نموده به صورت زیر گزارش نماید.

آگلوتیناسیون درشت +++ (+۳)

آگلوتیناسیون متوسط ++ (+۲)

آگلوتیناسیون ریز + (+۱)

آگلوتیناسیون مشاهده نمی شود (سوسپانسیون یکنواخت و شیری رنگ) – (منفی)

در صورت اثبات وجود CRP در سرم بیمار، به منظور اندازه گیری مقدار و یا تیتراژ آن در سرم، روش کمی (لوله ای) را انجام دهید.

نکته: گاهی اوقات مقدار CRP در سرم بیمار بسیار زیاد است، در نتیجه به علت پدیده منطقه ای (Zone

Phenomenon) ممکن است یک سرم مثبت، اشتباهاً منفی گزارش شود. بنابراین بهتر است چنانچه آزمایش CRP سرمی

منفی شد، قبل از اینکه آن را منفی گزارش نمایید با رقت ۱/۵ یا بیشتر آزمایش را تکرار نمایید.

روش کمی (لوله ای)

برای هر نمونه سرمی، شش عدد لوله آزمایش را با شماره های ۱ تا ۶ علامت گذاری کنید.

به همه لوله ها ۵۰ لاند (میکرولیتر) تامپون یا سرم فیزیولوژی اضافه نمایید.

به لوله شماره ۱، ۵۰ لانداسرم بیمار را اضافه نموده با تکان دادن لوله محتویات داخل لوله را مخلوط نمایید (غلظت ۱/۲).

سپس ۵۰ لانداز محلول لوله شماره ۱ را به لوله شماره ۲ اضافه کنید و بعد از مخلوط کردن این عمل را برای لوله های

دیگر بطور سریال تکرار نمایید. (۲ به ۳ و...).

در آخر ۵۰ لانداز محلول لوله شماره ۶ را بیرون بریزید.

با این روش رقتهای مختلفی از سرم (۱/۲ و ۱/۴ و ۱/۸ و ۱/۱۶ و ...) تهیه می شود.

هر کدام از نمونه های رقیق شده را براساس روش کیفی بررسی کنید.

آخرین رقتی را از سرم که واکنش آگلوتیناسیون در آن قابل مشاهده است به عنوان تیتراژ CRP گزارش نمایید.

مطالب این قسمت با همکاری خانمها مرضیه غلامراده و نرگس حمیدیان تهیه شده است.