

## سنجش و ارزیابی میزان فعالیت همولیتیک کمپلمان (CH50) در سرم بیماران مبتلا به کاندیدیازیس و بررسی نقش اجزاء C3 و C4 در جلوگیری از این بیماری

دکتر حسن مقیم\*، دکتر احمد قوامی نژاد\*\*

### چکیده:

بیماری کاندیدیازیس (Candidiasis) یکی از مهمترین و شایعترین عفونتهای قارچی فرصت طلب است که عوامل مستعد کننده‌ای نظیر اختلالات هماتولوژیک و سرولوژیک مانند لوسمی و لنفوم در ایجاد آن نقش دارند. چون فعالیت سیستم کمپلمان در جلوگیری از بروز بسیاری از عفونتها از جمله کاندیدیازیس نقش مهمی دارد و این سیستم که خود از اجزاء مختلف و با عملکرد متنوعی تشکیل یافته است، لذا سعی گردید تا نقش و اهمیت اجزاء C3 و C4 این سیستم و میزان فعالیت همولیتیک کمپلمان (CH50) در سرم بیماران مبتلا به لوسمی و لنفوم که همزمان به کاندیدیازیس نیز دچار شده‌اند بیماری که تنها به لوسمی و لنفوم مبتلا بوده‌اند، مورد مقایسه و ارزیابی قرار گیرد. جهت ارزیابی میزان فعالیت همولیتیک کمپلمان از روش حساس نمودن خون گوسفند بوسیله امبوستور (Emboseptor) و برای تعیین مقادیر متوسط اجزاء C3 و C4 کمپلمان از روش ایمنودیفیوزیون استفاده گردید. نتایج حاصل از بررسی میزان فعالیت همولیتیک کمپلمان و اجزاء C3 و C4 سرم بیماران مبتلا به لوسمی و لنفوم که همزمان به کاندیدیازیس نیز مبتلا بوده‌اند با نتایج گروه شاهد (بیمارانی که تنها به لوسمی و لنفوم مبتلا بوده‌اند) با استفاده از آزمون آماری T، مورد مقایسه و ارزیابی قرار گرفت و مشخص گردید که مقادیر متوسط C3 و میزان فعالیت همولیتیک کمپلمان (CH50) گروه تحت مطالعه که به کاندیدیازیس مبتلا بوده‌اند، در مقایسه با مقدار متوسط این جزء از سیستم کمپلمان در گروه شاهد کاهش داشت  $P < 0/05$ . این نتایج می‌تواند بیانگر ارتباط معنی دار آماری مشخص بین مقدار متوسط C3 و میزان فعالیت همولیتیک کمپلمان در دو گروه بیمار و شاهد ولی بین میانگین مقادیر جزء C4 کمپلمان بیماران و افراد شاهد اختلاف معنی دار آماری مشاهده نگردید. بنابراین با توجه به کاهش مشخص میزان فعالیت همولیتیک کمپلمان (CH50) و مقدار متوسط جزء C3 کمپلمان در سرم بیماران در مقایسه با گروه شاهد تصور می‌رود این دو عامل نقش مهمی در ابتلاء همزمان بیماران به کاندیدیازیس داشته باشند.

واژه‌های کلیدی: کاندیدیازیس، کمپلمان، لنفوم، لوسمی

### مقدمه:

کاندیدیازیس یکی از مهمترین و شایعترین عفونتهای قارچی فرصت طلب است که در بین بیماران مبتلا به لوسمی و لنفوم شیوع زیادی دارد و به صورت حاد یا مزمن در نواحی مختلف بدن نظیر قسمتهای جلدی مخاطی دستگاههای گوارش، تنفسی و تناسلی تظاهر می‌نماید (۱۲).

\*عضو هیأت علمی گروه فارح‌شناسی - دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد (ولف مسول).

\*\*استادیار گروه ایمنولوژی - دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.

سبب تولید رادیکالهای آزاد ( $H_2O_2$ ،  $O_2$  و  $OH$ ) از طریق انفجار تنفسی می‌شوند که در نتیجه این گونه فعالیتها قارچ کاندیدا، منهدم گردیده و از بین می‌رود. اجزاء کمپلکس C5-C9 کمپلمان نیز در انهدام و کشتن کاندیدا نقش بسیار مهمی دارند (۱۶،۸).

جزء C3 کمپلمان قادر است، این سیستم را هم از طریق مسیر فرعی (آلترناتیو) و هم از طریق مسیر اصلی (کلاسیک) فعال نماید. جزء C4 نیز می‌تواند، این سیستم را از طریق مسیر اصلی فعال کند (۱۶،۱۵،۸). بنابراین کاهش و کمبود این اجزاء در سرم می‌توانند، زمینه‌های مساعدی را برای ابتلاء به کاندیدیازیس و زمینه تشدید علایم عفونت در بیماران ایجاد نماید. با توجه به موارد یاد شده در این تحقیق، نقش اجزاء C3 و C4 کمپلمان و میزان فعالیت همولیتیک کمپلمان (CH50) در بیماران مبتلا به کاندیدیازیس موزد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روشها:

در این بررسی ۳۸ مورد بیمار مبتلا به یکی از انواع بیماریهای لوسمی میلوبلاستیک، لنفوبلاستیک و لنفوم که به عفونت کاندیدیازیس نیز گرفتار بودند به عنوان گروه مورد و ۲۰ نفر از مبتلایان که به بیماریهای لوسمی میلوبلاستیک، لنفوبلاستیک و لنفوم مبتلا ولی فاقد هر گونه ابتلاء به کاندیدیازیس بودند، به عنوان گروه شاهد مورد بررسی قرار گرفتند.

جهت تشخیص عفونت قارچی در بیماران از ضایعات جلدی و مخاطی، مانند (ضایعات برفک دهان)، خلط، ادرار، مدفوع، بیوپسی، مواد و ترشحات بدست آمده از معده و روده نمونه برداری به عمل آمد و جهت آزمایشات سرولوژی از افراد شاهد و بیمار، نمونه سرم دریافت گردید (۱۲). تشخیص کاندیدیازیس در بیماران، از طریق آزمایش مستقیم نمونه‌های ضایعات قارچی، بوسیله شفاف نمودن با محلول ۲۰٪ پتاس و یا رنگ آمیزی به روش گرم (gram) و کشت نمونه‌ها در

مهمترین عامل این بیماری قارچی کاندیدا آلبیکنس (*Candida albicans*) است که به صورت طبیعی در دستگاه گوارش و مخاط دهان و دستگاه تناسلی وجود دارد (۱، ۱۲).

کاندیدیازیس را یکی از علل و عوامل خطرناک و کشنده برای بیماران مبتلا به اختلالات ایمنولوژیک و هماتولوژیک می‌دانند. میزان مرگ و میر در بین بیماران مبتلا به سرطان نیز افزایش نشان می‌دهد (۱).

کاندیدیازیس در ۲۷-۱۱ درصد از بیماران مبتلا به نوتروپنی طولانی، لوسمی حاد و بیماران دریافت کننده مغز استخوان شیوع داشته و حتی میزان مرگ و میر در آنها ممکن است به ۹۵٪ هم برسد (۲، ۸، ۱۱).

سیستم کمپلمان یکی از اجزاء مهم سیستم ایمنی طبیعی است که نقش بسیار مهمی را در دفاع علیه میکروارگانیسمها به عهده دارد. حداقل ۲۰ نوع پروتئین به این سیستم تعلق دارد که در طی رشد و تکامل جنین و قبل از ظهور آنتی بادی‌های IgM در جریان خون قابل ردیابی هستند. ظهور اجزاء کمپلمان قبل از سنتز IgM شاید نشان دهنده این حقیقت است که قبل از رشد تکاملی آنتی بادی‌ها، کمپلمان و سلولهای بیگانه خوار (فاگوسیت) عمده‌ترین نقش را در محافظت افراد ایفا می‌نمایند (۱۳، ۱۶).

فعال شدن سیستم کمپلمان مکانیسمی قوی در شروع و تشدید التهاب است. مواد ناشی از فعال شدن پروتئینهای کمپلمان باعث کموتاکسی و فعال شدن لکوسیتها می‌شوند. اجزاء C3 و C4 کمپلمان به عنوان عامل تسهیل کننده بیگانه خواری (Opsonin) عمل کرده و عمل بیگانه خواری را تسهیل می‌کنند. آنها به گیرنده‌های کمپلمان واقع بر روی سطح سلولهای نوتروفیل، منوسیت و ماکروفاژ متصل شده و علاوه بر تحریک نمودن فعالیت بیگانه خواری، ممکن است باعث تولید و آزاد سازی محتویات گرانولهای گردند که حاوی آنزیمهای پروتولیتیک قوی هستند. این آنزیمها

**جدول شماره ۱: توزیع فراوانی جنسی بیماران مبتلا به کاندیدیازیس و افراد شاهد**

جنس	زنان		مردان		کل افراد	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
بیمار	۲۸	۷۴	۱۰	۲۶	۳۸	۱۰۰
شاهد	۱۵	۷۵	۵	۲۵	۲۰	۱۰۰

**جدول شماره ۳: میانگین مقادیر C3 و C4 و میزان متوسط فعالیت CH50 در بیماران مبتلا به لوسمی لنفوبلاستیک.**

نوع	مقادیر C3	مقادیر C4	میزان CH50
افراد	میلی گرم درصد	میلی گرم درصد	Unit/ml
بیمار	۷۶/۵±۴۷/۸*	۳۱/۸±۱۵	۶۹/۷±۲۰/۶*
شاهد	۱۲۸/۱±۵۳/۶	۳۸±۱۱۹/۳	۸۷/۹±۱۹/۳

محیطهای ساپرو دکستروز آگار (Sabouraud dextrose agar) و کورن میل آگار (Corn meal agar) و همچنین مشاهده لوله زایا (germ tube) در سرم تازه انسان به عمل آمد (۱۲،۷). جهت اندازه گیری مقادیر متوسط اجزاء C3 و C4 کمپلمان در سرم بیماران و افراد شاهد از پلیت های حاوی آگار رزو آنتی بادیهای اختصاصی (ساخت شرکت بهار افشان تهران) و روش ایمنودیفریون استفاده گردید (۴، ۵، ۹، ۱۶). برای تعیین و ارزیابی میزان فعالیت همولیتیک کمپلمان سرم (CH50) از خسون گوسفند حساس شده بوسیله امبوسبتور (ساخت انستیتو رازی) استفاده شد (۱۶،۹).

**نتایج:**

نتایج حاصل از تعیین و ارزیابی مقادیر اجزاء C3 و C4

**جدول شماره ۲: میانگین مقادیر C3 و C4 و میزان متوسط فعالیت CH50 در بیماران مبتلا به لوسمی میلو بلاستیک.**

نوع	مقادیر C3	مقادیر C4	میزان CH50
افراد	میلی گرم درصد	میلی گرم درصد	Unit/ml
بیمار	۹۱/۳±۳۳/۵*	۳۲/۱۳±۸/۵	۶۹/۹±۸*
شاهد	۱۴۳/۳±۳۱/۹	۳۶/۱±۱۱/۸	۸۷/۶±۱۶

میانگین مقادیر C3 کمپلمان در مقایسه با افراد شاهد اختلاف معنی داری وجود داشت در حالیکه بین مقادیر متوسط C4 کمپلمان بیماران و افراد شاهد رابطه معنی دار مشاهده نگردید. همچنین میزان متوسط فعالیت کمپلمان بیماران در مقایسه با افراد شاهد دارای اختلاف معنی دار است.  $P < 0/05$ \* نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار است.

کمپلمان و میزان فعالیت همولیتیک کمپلمان سرم (CH50) گروه مورد با نتایج گروه شاهد با استفاده از نرم افزار SPSS و بکارگیری آزمون T مقایسه گردیدند. تعداد ۲۸ مورد (۷۴٪) از افراد بیمار را زنان و ۱۰ مورد (۲۶٪) آنها را مردان تشکیل می دادند (جدول شماره ۱). میانگین سن زنان و مردان بیمار به ترتیب ۳۵ و ۴۱ سال و میانگین سن زنان و مردان گروه شاهد، به ترتیب ۳۲ و ۳۷ سال بود که از نظر میانگین سن بین افراد بیمار و افراد شاهد، اختلاف معنی دار آماری وجود نداشت.

**جدول شماره ۴: میانگین مقادیر C3 و C4 و میزان متوسط فعالیت CH50 در بیماران مبتلا به لنفوم.**

نوع	مقادیر C3	مقادیر C4	میزان CH50
افراد	میلی گرم درصد	میلی گرم درصد	Unit/ml
بیمار	۸۵/۶۶±۲۲/۱*	۲۸/۳۳±۱۰/۵	۷۰/۶۸±۹/۸*
شاهد	۱۱۶/۶۶±۳۸/۹	۲۹±۲۱/۱	۸۸/۷۳±۲۱/۱

میانگین مقادیر C3 کمپلمان و میزان فعالیت همولیتیک کمپلمان بیماران در مقایسه با افراد شاهد اختلاف معنی دار آماری بدست آمد. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار است.  $P < 0/05$ \*.

میانگین مقادیر C3 کمپلمان و میزان فعالیت همولیتیک کمپلمان بیماران در مقایسه با افراد شاهد دارای اختلاف معنی دار آماری است.  $P < 0/05$ \* نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار است.

**بحث:**

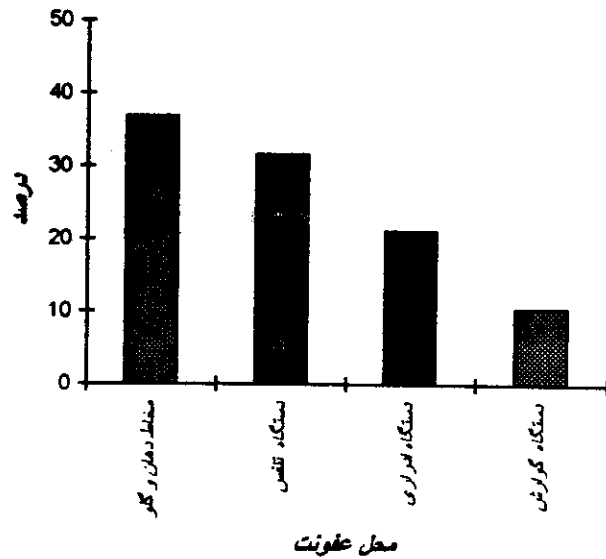
در این بررسی نتایج از تعیین و ارزیابی میزان متوسط فعالیت همولیتیک کمپلمان (CH50) و نیز مقادیر C3 و C4 کمپلمان بیماران که در اثر ابتلا به بیماریهای لوسمی و لنفوم به کاندیدیازیس نیز دچار شده بودند با نتایج افراد شاهد مورد مقایسه و ارزیابی قرار گرفت.

مقادیر متوسط جزء C3 کمپلمان و میزان متوسط فعالیت همولیتیک کمپلمان (CH50) بیماران مبتلا به بیماریهای میلو بلاستیک، لنفوبلاستیک و لنفوما در مقایسه با نتایج افراد شاهد از نظر آماری کاهش داشت، اما بین مقادیر متوسط جزء C4 کمپلمان بیماران و افراد شاهد اختلاف معنی دار آماری مشاهده نگردید.

بنابراین با توجه به نتایج تحقیقات سایر محققین نظیر Greenfield و Gelfand کاهش و کمبود اجزاء کمپلمان و نیز کاهش فعالیت همولیتیک آن می توانند در بروز کاندیدیازیس در بیماران مبتلا به لوسمی و لنفوم تأثیر فراوان داشته باشند (۳، ۶، ۷، ۱۰، ۱۴).

نتایج حاصل از این بررسی نیز که با نتایج سایر محققین که در این زمینه تحقیق نموده اند مطابقت دارد (۲، ۳، ۶، ۱۰) و بیانگر وجود کمبود و کاهش در میزان فعالیت کمپلمان و نیز اجزاء این سیستم در بیماران مبتلا به بیماریهای میلو بلاستیک، لنفوبلاستیک و لنفوم بوده است و به دلیل آن که میانگین مقادیر جزء C3 کمپلمان و میزان متوسط فعالیت همولیتیک کمپلمان (CH50) در این بیماران در مقایسه با نتایج افراد شاهد کاهش یافته بود ( $P < 0/05$ ). به همین علت این گروه از بیماران به کاندیدیازیس مبتلا شده بودند. به عبارت دیگر کمبود و کاهش مقادیر جزء C3 و نیز فعالیت همولیتیک کمپلمان (CH50) در بروز و ایجاد کاندیدیازیس در این گونه بیماران نقش دارند.

بنابراین با توجه به کمبود و کاهش مشخص میزان فعالیت همولیتیک کمپلمان (CH50) و مقدار متوسط جزء C3 کمپلمان در سرم بیماران در مقایسه با گروه



**نمودار شماره ۱:** توزیع فراوانی بیماری برحسب نوع عفونت کاندیدیازیس در نواحی مختلف بدن.

در این مطالعه بیشترین تعداد بیماران (۳۶/۹٪) به کاندیدیازیس مخاط دهان و گلو مبتلا بودند و کمترین تعداد آنها (۱۰/۵٪) کاندیدیازیس دستگاه گوارش.

اکثر بیماران مبتلا به لوسمی میلو بلاستیک (۳۱/۵٪) به عفونت کاندیدیازیس تنفسی و اغلب بیماران مبتلا به لوسمی لنفوبلاستیک (۲۸/۹٪) به عفونت کاندیدیازیس مخاط دهان و گلو مبتلا بودند (نمودار شماره ۱).

مقادیر متوسط جزء C3 کمپلمان و میزان متوسط فعالیت همولیتیک کمپلمان (CH50) بیماران مبتلا به بیماریهای میلو بلاستیک، لنفوبلاستیک و لنفوما در مقایسه با نتایج افراد شاهد کاهش داشت. بکارگیری آزمونهای آماری ارتباط مشخصی را بین مقادیر متوسط جزء C3 کمپلمان و میزان متوسط فعالیت همولیتیک کمپلمان (CH50) نشان داد ( $P < 0/05$ ). بین مقادیر متوسط جزء C4 کمپلمان بیماران و افراد شاهد در بیماران مبتلا به لوسمی میلو بلاستیک (جدول شماره ۱)، لوسمی لنفوبلاستیک (جدول شماره ۲) و یا لنفوم (جدول شماره ۳) اختلاف معنی دار آماری مشاهده نگردید ( $P > 0/05$ ).

قوامی نژاد و نیز گروه ایمنولوژی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان که در اجرای این پژوهش همکاری و مساعدت مبدول فرمودند و همچنین از مسئولین محترم دانشگاه تربیت مدرس که هزینه‌های مالی این طرح را تأمین نمودند تشکر و تقدیر می‌نمایم.

شاهد بنظر می‌رسد این دو عامل نقش بسیار مهمی را در ابتلاء همزمان بیماران به کاندیدیازیس دارند.

### تشکر و قدر دانی:

بدینوسیله از زحمات استاد ارجمندم جناب آقای دکتر احمد

### References:

- 1- Bodey GP. What's new in fungal infection in Leukemic patients. J Article, 11(2): 127-35, 1993.
- 2- Calderon R.; Diamond R.; Senet JM.; Warmington J.; et al. Host cell- fungal cell intractions. J Med Vet Mycol, 32 (1): 151-68, 1994.
- 3- Cochrane CG.; Muller-Eberhard HJ.; Alkins BS. Depletion of plasma complement in vivo by a protein of cobra venom. J Immunol, 105: 55-69, 1970.
- 4- Frank MM.; Terr AI. Complement. In: Strtes DP.; Stobo JD.; Fudenberg HH.; Wells JV . Basic and clinical immunology: From Lange Medical Publications. California: USA, 7th ed. 161-76, 1991.
- 5- Gaitef TA.; Ank M. Complement. In: Henry JB. Clinical diagnosis and management by laboratory methods: From WB Saunders Company. Philadelphia: USA, 17th ed. 879-93, 1996.
- 6- Gelfand JA.; Hurley D1.; Faucl AS.; Frank MM. Role of complement in host defense against experimental disseminated Candidiasis. J Infect Dis, 138: 9-16, 1978.
- 7- Greenfield RA. Host defense system intraction with Candida. J Med Vet Mycol, 30: 89-104, 1992.
- 8- Howard Dexte H. Fungi pathogenic for humans and animals: phagocytic mechanisms in host response. In: Lemike PA. Mycology series: pathogenicity and detection from marcel dekker (Part B): From INC. New York: USA, 2: 123-40, 1996.
- 9- Lisbeth AS.; Henry G. Complement. In: Alex CS.; Leonard J. Gradwol's clinical laboratory methods and diagnosis: From Mosby Company. California: USA, 8th ed. 1229-34, 1980.
- 10- Lyon FL.; Hector RF.; Domer JE. Innate and acquired immune responses against Candida albicans in congenic B10D2 mice with deficiency of the C5 complement. J Med Vet Mycol, 24: 359-67, 1986.
- 11- Makysmiuk AW.; Thongprasert S.; Hopfer T.; Luna M.; et al. Systemic Candidiasis in cancer patients. J Med, 77: 20-7, 1984.
- 12- Rippon JW. Candidiasis and the pathogenic Yeasts. In: Rippon JW. Medical mycology: From WB Saunders Company. Philadelphia: USA, 3rd ed. 532-82, 1988.
- 13- Rook G. Immunology to viruses, bacteria and fungi. In: Roitt I.; Brostoff J.; male D. Immunology : From Churchill Livingstone Company. New York: USA, 2nd ed. Chap 16, 9-14, 1995.
- 14- Steward M.; Male D. Assay for complement. In: Roitt I.; Brostoff J.; Male D. Immunology: From Churchill Livingstone Company. London: UK, 2nd ed. Chap 25, 9-10, 1995.
- 15- Thong YH.; Ferrante A. Alternative pathway of complement activity by Candida albicans. J Med, 8: 620-22, 1978.
- 16- Walport M. Complement In: Roitt I.; Brostoff J.; male D. Immunology: From Churchill Livingstone Company. New York: USA, 2nd ed. Chap 13, 1-16, 1995.