بررسی مقدار طبیعی مکمل (Complement) در افراد سالم

مجلهٔ نظام پزشکی
سال پنجم ، شماره ۴ ، صفحه ۳۱۶ ، ۲۵۳۵

دکتر نوشین فروزانفر ـ دکتر فریدون علاء ـ احمد قوامی نژاد *

مقدمه :

مکمل سابقاً فقط بعنوان عامل کمکی در همولیز گلبولهای قرمز پوشیده از پادتن شناخته میشد . ولی اکنـون معلوم شده که این عامل تنهـا یك ماده نیست ؛ بلکه بصورت مجموعه‌ای از عوامل آنزیمی است که اعمال فیزیولوژیائی آن کاملا با آنچه در سابق شناخته میشد ، متفاوت است .

این عوامل آنزیمی باعلامت اختصاری C نامیده میشوند وبترتیب از C1 تا C9 شماره گذاری شده‌اند . C1 یا مکمل یك ، خود از سه واحد تشکیل شده است : C1q و C1r و C1s . بنابراین درمجموع، دستگاه مکمل ازیازده عامل آنزیمی تشکیل شده‌است. بطورخلاصه ، فعال شدن این عوامل آنزیمی باین ترتیب است که عامل‌اول یا C1 فعال می‌شود واین‌فعالیت تا C9 پیش‌میرودتامنجر به‌همولیز شود (۱). این طریق فعالیت دستگاه مکمل را فعالیت از راه اصلی یاکلاسیك مینامند (۱).

باید خاطر نشان ساخت که وقتی این آنزیم‌ها فعال میشوند، ترتیب فعالیت مطابق باترتیب شماره گذاری نیست. بدین معنی که‌فعالیت C1 منجر به‌فعالیت C4 سپس C2 وبعد C3 می‌شود. بعد از C3 نوبت فعالیت C5 فرامیرسد. سپس فعـالیت بترتیب شماره گذاری پیش میرود .

اخیراً راه فرعی برای فعالیت مکمل کشف شده است وآن بدین ترتیب‌است که عوامل دیگری غیراز C1، C4 و C2 موجب فعالیت مستقیم C3 میشوند وبقیه راه بهمان ترتیب راه کلاسیك‌است(۲). باوجود پیچیده بودن دستگاه مکمل میتوان اعمال فیزیولوژیائی آن را بطورکلی بسه دسته تقسیم کرد :

۱ـ خاصیت تولید ضایعه درغشاءهاکه منجر به‌همولیز میشود.

۲ـتولید مواد فعال‌ازنظر بیولوژیائی بنامهای Anaphlatoxin و Chemotaxin .

۳ـ تولید موادیکه از راه تأثیر گیرنده‌های سلولی موجب‌پیشرفت وتسهیل‌اعمال فیزیولوژیائی‌بدن میشود، مانندتحریك‌فاگوسیتوز.

باپیشرفتهای اخیر درعلم ایمونولوژی وبیوشیمی ، امکان اندازه‌گیری هریك ازعوامل ذکرشده در فوق وجود دارد . بدین‌ترتیب که بطور مثال میتوان C3 یا C4 و سایر عوامل‌آنزیمی دستگاه مکمل را برحسب خواص بیولوژیائی‌شان انـدازه‌گیری کرد . بعلاوه مقـدار کل فعـالیت مکمل برحسب واحد در یك میلی‌لیتر خون نیز بطریق همـولیز قابـل انـدازه‌گیری است (۵) . مقدار واحد اخیر در اغلب ممـالك پیشرفته در بین افـراد سالم اندازه‌گیری وگزارش شده است (۴). اما تاکنون از مقدار کل مکمل درایران گزارشی وجود ندارد ودر این مقاله مقدار مکمل درافراد سالم ایرانی وتغییرات آن گزارش شده است.

روش آزمایش و وسائل ـ ۵۰ دهنده خون بالغ که سن‌آنهابین ۲۰ تا ۵۰ سال بود ، برای آزمایش انتخاب شدند . در میان آنها ۳۰ تن مرد و بقیه زن بوده‌اند. برای انجام‌آزمایش‌از روش تغییر یافته Mayer استفاده شده است (۵).

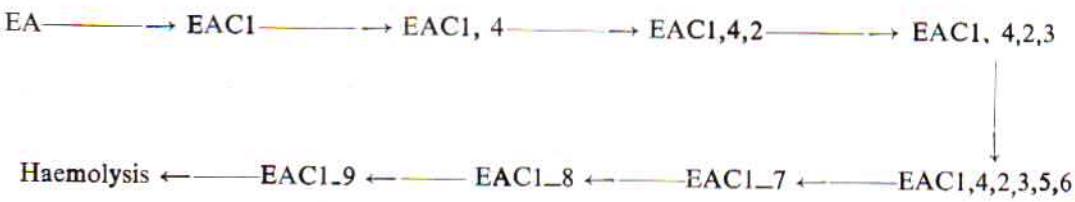
دراین روش ، خون بصورت لخته گـرفته میشود وسرم جدا شده فوراً مورد آزمـایش قرار می‌گیرد و یـا دریخچال ۸۰ ـ درجه سانتیگراد نگاهداری میشود .

* سازمان ملی انتقال خون ایران ـ تهران.

[Downloaded from jmciri.ir on 2024-09-21]

اساس آزمایش عبارت است از بررسی مقدار واحد مکمل در یك میلی‌لیتر سرم که بتواند ۵۰ درصد همولیز ایجاد کند . به‌همین جهت نام آزمایش CH50 است که C علامت Complement و H معرف همولیز است. درنتیجه CH50 مقدار مکملی است که‌بتواند ۵۰ درصدهمولیز ایجادکند. به‌آنچه در مقدمه گفته شدبایداضافه کرد که‌برای فعالیت آنزیمی دستگاه مکمل از راه کلاسیك، ایجاد مجموعه پادگن وپادتن «Antigen و Anti_body» لازم‌است که بصورت Ag/Ab نشان داده میشود .

حالا اگر (Antigen) پادگن گلبول قرمز باشد و (Anti-body) پادتن ضدگلبولهای قرمز، میتوان فعالیت این دستگاه را بصورت همولیز نشان داد واندازه گیری کرد (شکل ۱).



در این نمودار منظور از E اریتروسیت و A پادتن ضداریتروسیت و C ، همانطورکه در مقدمه آمده است، مکمل می‌باشد.

بدین‌ترتیب موادلازم برای آزمایش عبارتند از:

۱ـ E گلبول قرمز گوسفند (SRBC)

۲ـ A پادتن ضدگلبول‌قرمز گوسفندکه از کارخانه Wellcome تهیه میشود .

۳ـ محلول Mayer که درآزمایشگاه تهیه میشود.

۱ـ تهیه گلبولهای قرمز گوسفند ـ تحت‌شرایط سترون(Sterile) خون گوسفند گرفته میشود و سه حجم آن بایك حجم از محلول ضد انعقاد Alsever مخلوط میگردد . خون گرفته شده را باید حداقل ۴ روز دریخچال ۴ درجه نگهداری کرد تا قابل استفاده باشد. اگر نگهداری گلبول قرمز بیش ازیك هفته موردنظرباشد، باید مقداری آنتی‌بیوتیك بخون اضافه‌کرد تا از رشد باکتریها جلوگیری شود .

۲ـ پادتن ضدگلبول قرمز گوسفند در کارخانه Wellcome تهیه می‌شود ونوع آن سرم خرگوش است .

۳ـ محلول Mayer بطرق مختلف تهیه میشود ودر روش ما از محلولی که‌بوسیله Peltier (۵) درپاریس‌توصیه شده است، استفاده میگردد .

بدینترتیب که مخلوطی از یك مولار کلرورمنیزیوم و ۰/۳ مولار کلرورکلسیم‌تهیه می‌کنیم. سپس‌محلول دیگری که دارای ۴۱/۵ گرم در لیتر کلرورسدیم ، ۵/۰۹ گرم در لیتر باربیتون سدیم و ۱۷/۲۹ میلی‌لیتر اسیدکلریدریك طبیعی(نرمال)است ، می‌سازیم. محلول اول‌را نیز بمقدار ۲/۵ میلی‌لیتر به‌محلول دوم اضافه کرده، این محلول را در موقع مصرف $\frac{۱}{۵}$ رقیق می‌کنیم .

روش آزمایش :

۱ـ آماده کردن گلبولهای قرمز گوسفند: گلبول قرمز گوسفند را سه بار بـامحلول Mayer می‌شوئیم و بعد ۱ میلی‌لیتر از رسوب گلبول برداشته با ۱۸ میلی‌لیترمحلول Mayer مخلوط می‌کنیم. سپس یك میلی‌لیتر از این محلول را با ۱۴ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط مینمائیم تا کاملا همولیزشود سپس اسپکتروفوتومتررا با طول موج ۵۴۱ A میزان میکنیم و Optical Density (O.D.) محلول مذکور را اندازه میگیریم. باروشی که فوقاً ذکر شد این محلول‌باید (O.D.) ۷۰۰ داشته باشدکه باعقربه‌اسپکتروفوتومتر قابل سنجش است .

۲ـ رقت‌آنتی سرم ضدگلبول قرمز گوسفند یك در ۲۵۰ میلی‌لیتر محلول مایراست .

۳ـ رقت سرم مورد آزمایش : سرم مورد آزمایش را یك بیستم‌با محول Mayer رقیق میکنیم و در آخر محاسبه نتیجه حاصل شده را دربیست ضرب می‌کنیم.

۴ـ برای وارسی صحت آزمـایش لازم است لوله‌های شاهد نیز وجود داشته باشد . یك لـوله برای همولیز صفر درصد و لوله دیگری برای همولیز صد درصد.

سرم رقیق شده برطبق روش Peltier را در هفت لوله‌آزمایش که درجا لوله‌ای قرارگرفته‌اند بانسبت لگاریتمی درمحلول Mayer رقیق میکنیم و بهرکدام یك میلی‌لیتر ازگلبول قرمز گوسفند که درمحلول Mayer رقیق شده است ، اضافه میکنیم ومدت ۴۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداشته سپس بلافاصله درظرف یخ‌قرار میدهیم تا از ادامه همولیز جلوگیری شود . لوله‌های آزمایش‌را در ۴ درجه سانتیگـراد سانتریفـوژ می‌کنیم . سپس مجـدداً لوله‌هارا در جالوله‌ای قرار داده و O.D هرکدام را جداگانه باعقربه‌های اسپکتروفوتومترمی‌سنجیم. ازروی جداول لگاریتمی بامقایسه O.D. مقدار CH50 را روی کاغذهای مدرج لگاریتمی بدست میآوریم .

[Downloaded from jmciri.ir on 2024-09-21]

نتیجه : نتایج بدست آمده نشان میدهد که مقدار کل مکمل در سرم ارتباطی به جنس ندارد و در مردان و زنان یك مقدار را نشان میدهد. در جدول ۱ مقدار کل مکمل و S.D. * آن و همچنین میانگین مقدار مکمل ۵۰ شخص سالم نوشته شده است .

بحث : از آنچه از جدول برمیآید مقدار کل مکمل در هر یك میلی لیتر سرم شخص سالم با در نظر گرفتن S.D. ۱۰۵۶ (±۱۵۵) واحد است این مقدار با مقادیر گزارش شده بوسیله Mayer و Lachman مطابقت دارد (مقدار میانگین ۱۰۰۰ واحد) $P<0.1$ است. بدین ترتیب میتوان گفت که برخلاف آنچه تصور میرفت (که مقدار مکمل کمتر یا بیشتر از آمار خارجی باشد) مقدار مکمل در هر میلی لیتر خون شخص سالم تفاوتی با آمار مورد گزارش متخصصین فوق ندارد . شاید کمبود مقدار مکمل مربوط به سوء تغذیه و افزایش آن مربوط به زندگی در شرایط غیر بهداشتی و درگیری با عفونتهای مختلف باشد (۱).

بنظر میرسد دستگاه مکمل در مراحل خیلی پیشرفته سوء تغذیه دچار اختلال می گردد . تصور میشود علت مطابقت داشتن مقدار مکمل در افراد سالم ایرانی با آمار خارجی بستگی به نوع نمونه دارد ، چون نمونه هائی که از آزمایش فوق تهیه گردیده از اهداء کنندگان خون گرفته شده است که در شرایط خوب زندگی میکنند . البته بسیار ضرور است که با در نظر گرفتن مقادیر مذکور در فوق اندازه گیری مقدار کل مکمل در افراد مختلف بظاهر طبیعی در طبقات مختلف جامعه بعمل آید تا صحت یا سقم نظریه فوق مورد بررسی قرار گیرد.

خلاصه :

مقدار فعالیت دستگاه مکمل در ۵۰ مرد وزن ایرانی براساس واحد همولیز در هر میلی لیتر مکعب سرم اندازه گیری و گزارش میگردد. برای انجام آزمایش از روش Peltier استفاده شده است. مقدار واحد مکمل در هر میلی لیتر سرم که بتواند ۵۰ درصد همولیز در گلبولهای قرمز گوسفند ایجاد کند بنام CH50 نامیده میشود . میانگین این مقدار در ایرانیان ۱۰۵۶ واحد با تفاوت ±۱۵۵ است که بامقایسه باافراد اروپائی اختلاف محسوسی نشان نمیدهد .

جدول ۱ــ میزان واحد مکمل و میانگین SD ± در هر میلی لیتر سرم

تعداد	Unit/ml	تعداد	Unit/ml
۱	۶۱۶	۲۶	۹۵۲
۲	۸۸۸	۲۷	۷۸۶
۳	۸۰۰	۲۸	۱۲۹۸
۴	۱۰۲۴	۲۹	۱۱۷۶
۵	۱۱۷۶	۳۰	۹۳۶
۶	۱۲۸۸	۳۱	۹۵۲
۷	۱۲۸۸	۳۲	۱۰۲۴
۸	۱۱۱۲	۳۳	۱۰۵۲
۹	۱۰۵۲	۳۴	۱۱۷۶
۱۰	۱۲۱۲	۳۵	۹۵۲
۱۱	۹۵۲	۳۶	۱۱۷۶
۱۲	۶۶۸	۳۷	۹۷۶
۱۳	۹۵۲	۳۸	۹۵۲
۱۴	۱۲۱۲	۳۹	۱۲۸۸
۱۵	۹۵۲	۴۰	۹۵۲
۱۶	۹۵۲	۴۱	۱۰۵۲
۱۷	۱۱۷۶	۴۲	۸۶۰
۱۸	۱۰۵۲	۴۳	۹۵۲
۱۹	۱۲۱۲	۴۴	۱۰۵۲
۲۰	۱۱۴۴	۴۵	۱۱۷۶
۲۱	۱۱۷۶	۴۶	۱۲۵۶
۲۲	۱۱۷۶	۴۷	۱۰۲۴
۲۳	۱۰۵۲	۴۸	۱۱۷۶
۲۴	۱۱۷۶	۴۹	۱۱۷۶
۲۵	۱۰۵۲	۵۰	۱۱۱۲

میانگین ۱۰۵۶

S.D. ± ۱۵۵

* S.D. Standard Deviation

REFERENCES :

1- Ruddy, S , Gigli, I., and Austen, K.F. (1972) N.E.J. Med. 287, 489.
2- Pillemer, L., Blum, L., Lerow, I.H. (1954) Science. 120, 279.
3- Lachman, P.G. (1975) The XIV Congress of the international Society of Blood Transfusion, Helsinki. & Ikkala, Nykanen Ed. P, 73.
4- Lachman, P.G., (1973) Handbook of Experimental Immunology. Vol. I. Weir D.M. Ed. P.S.I.
5- Peltier. Paris, Personal Communication.

[Downloaded from jmciri.ir on 2024-09-21]