

دکتر ابوالحسن فرهودی*

دکتر علی ربانی*

دکتر آریا ستوده*

توران سپهرزاد*

بررسی فاگو سیتوز در بیماران دیابتی وابسته به انسولین

این بررسی روی ۶۱ بیمار کودک دیابتی وابسته به انسولین که بطور سرپائشی به درمانگاه غدد مرکز طبی کودکان تهران مراجعه می کرده اند انجام شده است. دیابت این اطفال در موقع مطالعه اکثراً کنترل نشده بود. برای قضاوت در میزان کنترل قند بیماران علائم بالینی (تشنگی و پرادراری)، سطح قند خون ناشتا قبل از تزریق انسولین به روش گلوکز اکسیداز (حداکثر ۱۸۰ میلی گرم در دسی لیتر)، دفع قند و استون درادرار و از همه مهمتر، اندازه گیری سطح هموگلوبین گلیکوزوله (HbA_{1C}) به کار گرفته شدند. در مورد هموگلوبین گلیکوزوله اعداد زیر معیار قضاوت بودند (۷):

مقدار HbA_{1C} : کمتر از ۸/۵ درصد از کل هموگلوبین = کنترل عالی، ۸/۵ تا ۱۰/۵ درصد = کنترل خوب، ۱۰/۵ تا ۱۲/۵ درصد = کنترل متوسط، بالای ۱۲/۵ درصد = کنترل بد.

روشهای آزمایشگاهی

تست های فاگوسیتوز روی تمام بیماران انجام شده است. در مرحله اول وضع انتشار نوتروفیل ها با استفاده از فرمول شمارش گلبولی بررسی شد.

مراحل مختلف فاگوسیتوز بدین شرح بررسی شد:

اُپسونیزاسیون با روش Levinsky (چسبیدن نوتروفیل ها به مخمر و شمارش آنها با کولترکانتر) مطالعه شد.

کمو تاکسی با Boyden Chamber و اندازه گیری مسافت پیموده شده توسط نوتروفیل در منافذ کاغذ صافی (Millipore filter) بررسی گردید. این آزمایش یک بار بدون ماده کمو تاکتیک (-CF) و بار دیگر با افزودن ماده کمو تاکتیک (+CF) انجام

شد. سپس آزمایش کموتاکسی با ماده کموتاکتیک یک بار با سلول بیمار و پلاسمای نرمال و باردیگر با سلول نرمال ویلاسمای بیمار (+CFS) در مقابل شاهد انجام شد. مطالعه انهدام داخل سلولی (Killing) با روش (Nitroblue Tetrazo-ium test) NBT انجام گرفت. این ماده در مجاورت H_2O_2 و O_2 احیاء گردیده رنگ آبی به خود می‌گیرد. حساسیت این تست با افزودن ماده (Phorbol Myrestate Acetate) PMA به افزایش یافت.

مطالعه فعالیت سیستم کمپلمان (CH_{50}) یا Total Hemolytic Complement که در اعمال فاگوسیتوز دخالت دارد با روش Oxford انجام گرفت. این آزمایش در نیمی از بیماران انجام شد.

اندازه گیری سطح ایمونوگلوبولین های سرم (IgM و IgG، IgA) با روش Oxford Plate انجام گرفت و در مقابل شاهدان هم سن و ایرانی خود قرار داده شد. (برای اطلاع از جزئیات روشهای ذکر شده به مأخذ شماره ۱ مراجعه شود).

همچنین پرونده های بیماران از نظر شیوع عفونت بررسی گردید.

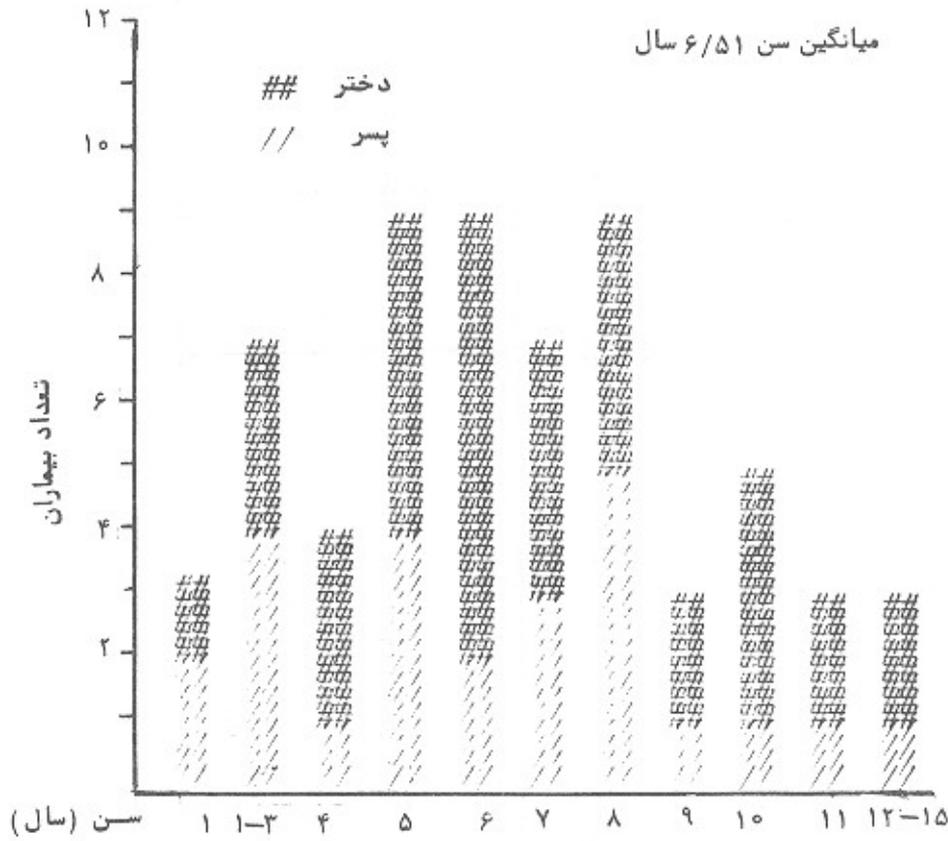
نتایج بدست آمده

توزیع سنی بیماران در شکل ۱ نشان داده شده است. سن شروع بیماری از ۵ ماهگی تا ۱۵ سالگی (میانگین سن ۶/۵۱ سال) و مدت گرفتاری از یک ماه تا ۱۳ سال (متوسط ۵/۴ سال) بود.

در ۴۰ مورد، عفونتی که (به علت خود عفونت یا به سبب کنواسیدوز ناشی از آن) منجر به بستری شدن آنان شده بود در پرونده ها مشاهده شد.

درصد گرفتاری سیستم های مختلف در شکل ۲ مشخص شده است.

عفونت های دهان و دندان که اکثراً شامل آبسه های ریشه دندان و فساد دندان بود در رأس قرار داشت (۱۸/۳٪). بدنبال آن عفونتهای تنفسی فوقانی و تحتانی تشکیل دهنده ۱۴/۷۵٪ از موارد بود که شامل یک مورد آبسه ریوی نیز بوده است. عفونت دستگاه ادراری در ۱۱/۴۷٪ از موارد وجود داشت. درکشت ادرار اکثراً اشریشیاکولی، کلبسیلا و در یک مورد کاندیدا رشد نموده است. سینوزیت مزمن به وسیله رادیوگرافی سینوسها در ۸/۲٪ از موارد به اثبات رسیده است. ضایعات قارچی شامل برفک دهان، ناخن و فولیکولیت در دختران تشکیل دهنده ۶/۵٪ از موارد عفونت بوده است. آبسه زیر گردن



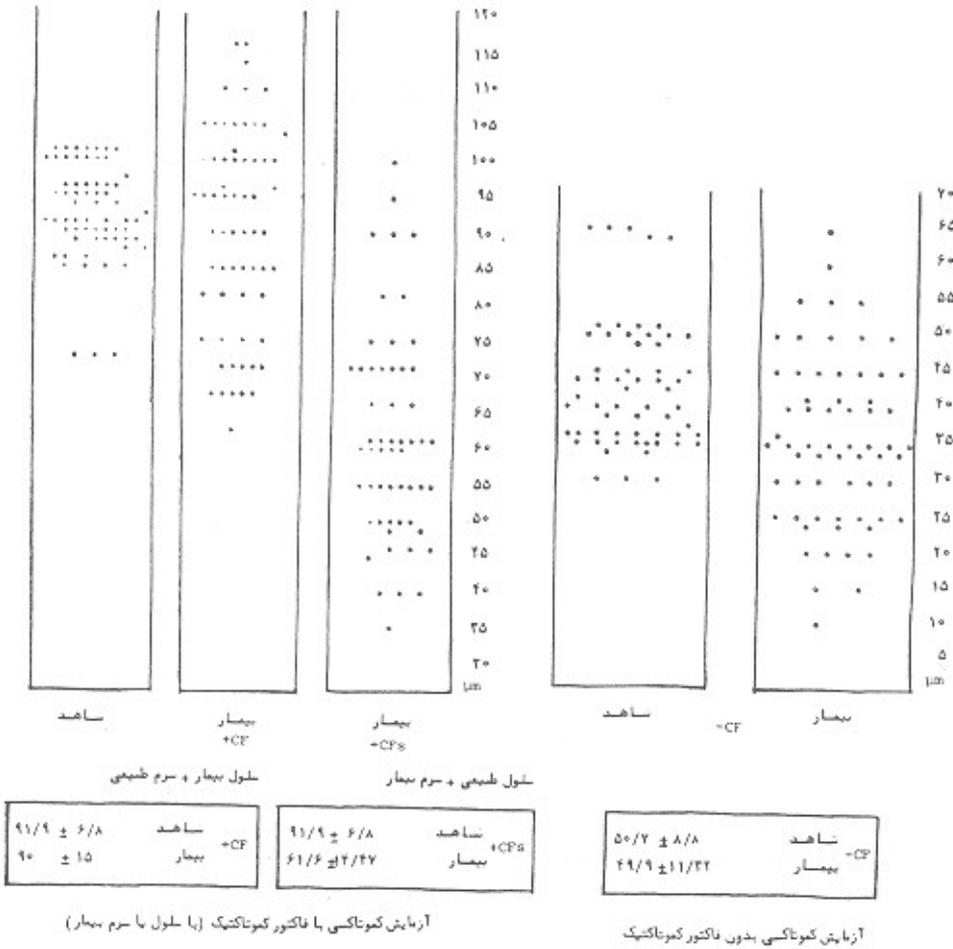
مجموع	% پسر	% دختر
۶۱	۴۱	۵۹

شکل ۱ - توزیع سنی بیماران دیابتی

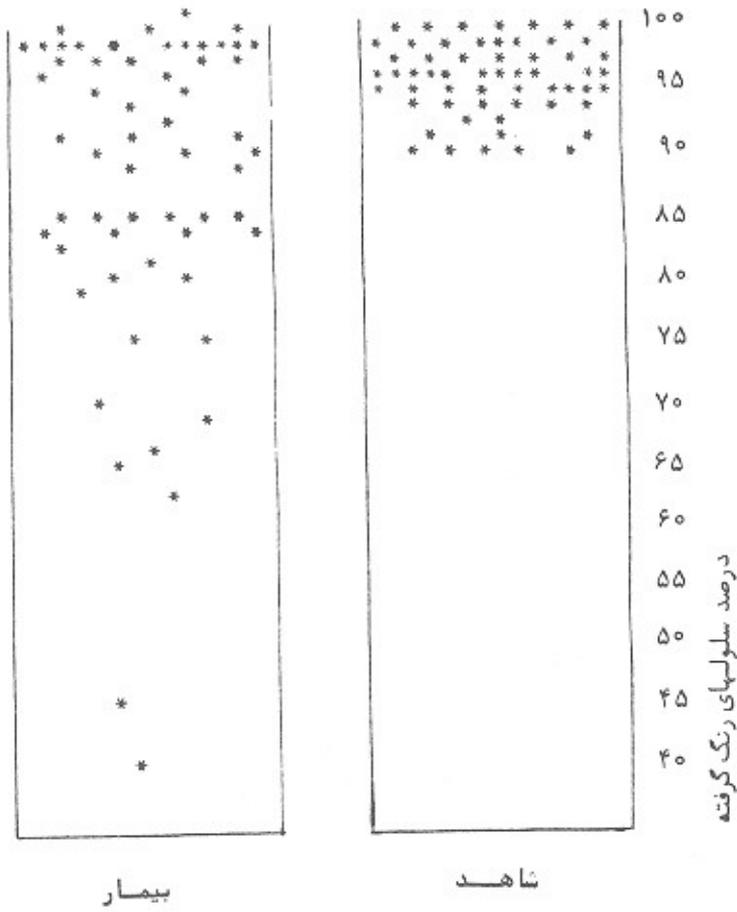
استوئومیلیت	آبسه ناحیه گردن	ضایعات فارچی (کاندیدا)	سینوزیت مزمن	عفونت دستگاه ادراری	عفونت تنفسی فوقانی و تحتانی	عفونت دندان	جمع کل عفونتها	تعداد درصد
۱ ۱/۶	۳ ۴/۹	۴ ۶/۵۵	۵ ۸/۲۰	۷ ۱۱/۴۷	۹ ۱۴/۷۵	۱۱ ۱۸/۰۳	۴۰ ۶۵/۵	

لازم به توضیح است کدر ۴۲٪ موارد، این عفونت ها منجر به کتواسیدوز بیمار شده بود که تا برطرف شدن کامل عفونت، کنترل دقیق قند خون همیسر نبوده است.

شکل ۲ - آمار عفونتهای منجر به بستری شدن بیماران دیابتی



شکل ۳ - آزمایش کمو تاکسی بدون یا با فاکتور کمو تاکتیک



شکل ۴ - آزمایش NBT تحریک شده با PMA

در ۴/۹٪ از موارد وجود داشت که در کشت آنها سالمونلا، استافیلوکوک طلائی و اشریشیاکولی، رشد کرده است. در یک مورد استئومیلیت باعث بستری شدن در بیمارستان بود. لازم به توضیح است که در ۴۲٪ از بیماران به دنبال این عفونت ها کتواسیدوز دیابتی وجود داشت که در این موارد کنترل کتواسیدوز و قند خون تا برطرف شدن کامل عفونت میسر نبوده است.

نتایج آزمایشگاهی

آزمایش کموناکسی بدون فاکتور کموناکتیک (CF-) در مقایسه با شاهدان تفاوت زیادی نداشت (در بیماران $11/32 \pm 49/9$ در برابر $8/8 \pm 50/7$ در شاهدان). آزمایش کموناکسی که با فاکتور کموناکتیک با سلول بیمار و سرم نرمال (CF+) انجام شده است در تعدادی از موارد با شاهد اختلاف داشت (در بیماران 15 ± 90 مقابل $6/8 \pm 91/9$ در شاهدان) (شکل ۳).
آزمایش NBT تحریک شده توسط PMA در ۴۵٪ موارد غیر طبیعی بوده است (شکل ۴).

اندازه گیری کمپلمان در نیمی از بیماران انجام شده مقدار C_4 نسبت به گروه شاهد در همه موارد در حد طبیعی ولی سطح C_3 در ۵۰٪ از موارد پائین بود. تست آپسونیزاسیون نیز در بیماران که C_3 پائین داشتند انجام گرفت که در ۶۱/۷٪ موارد مختل بود.

مقادیر ایمونوگلوبولینهای سرم که در یک سوم بیماران انجام شد در حد طبیعی ولی در اکثر مواقع از شاهدان همسن وایرانی خود بالاتر بود (شکل ۵، ۶ و ۷). آزمایشهای غیر طبیعی در مقابل HbA_{1c} قرار داده شد تا رابطه آن با کنترل قند مشخص شود (شکل ۸).

فرمول شمارش گلبولی خون در تمام موارد طبیعی بود.

بحث

از زمانی که کشف انسولین باعث کاهش مرگ و میر بیماران دیابتی و در نتیجه افزایش طول عمر آنان شده شیوع عفونت در افراد دیابتی توجه محققان را به خود جلب

نموده است. عده‌ای علت آن را به عوارض بیماری قند از قبیل اشکالات سیستم اتونوم و نوروپاتی‌های محیطی و اختلال عمل مثانه نوروژنیک نسبت می‌دهند. در سال ۱۹۰۴ مشخص شد که بعضی از کوکسی‌های گرام مثبت جهت رشد بهتر، غلظت‌های بالای قند را ترجیح می‌دهند. ولی مطالعات برای پیدایش علل زمینه‌ای این مساله ادامه پیدا کرد تا این‌که در سال ۱۹۶۲ Perrillie و همکاران، کندی حرکت فاگوسیت‌ها را در بیماران کتوتیک پیدا کردند (۴) و از آن زمان به بعد مطالعه بر روی سیستم ایمنی در رابطه با مبتلایان به دیابت توسعه یافت.

HbA _{1c} HbA _{1c}	درصد کل	۸/۵ کنترل عالی	۸/۵ تا ۱۰/۵ کنترل خوب	۱۰/۵ تا ۱۲/۵ کنترل متوسط	۱۲/۵ کنترل بد
+CFs غیر طبیعی	۹۶ / ۴	% ۸ / ۵	% ۸ / ۵	% ۲۸	% ۵۵
+C ₃ غیر طبیعی	۵۰	% ۵ / ۵	% ۵ / ۵	% ۴۱	% ۴۸
NBT غیر طبیعی	۴۵	-	% ۲۹	% ۳۱	% ۴۰

شکل ۸ - مقایسه موارد غیر طبیعی C₃، کموناکسی، NBT در رابطه با HbA_{1c}

از آنجائی که لکوسیت‌ها در واکنش‌های حاد آماسی نقش عمده‌ای دارند و سلول‌هایی هستند که اختلال آنها در افراد دیابتی در بررسی‌های قبلی به اثبات رسیده، از این رو اکثر مطالعات ایمنولوژیک بر روی این سلول‌ها انجام گرفته است.

در عمل فاگوسیتوز، فعالیت داخل سلولی جهت از بین بردن باکتری‌ها بر روی سیستم‌های مختلفی استوار است. در بین آنها سیستم وابسته به اکسیژن مثل پراکسیداز، H_2O_2 ، آنیونهای سوپراکسید و اکسیژن مولکولی قرار دارد. این مولکولهای اکسیژنی توسط مصرف فنل در سیستم پنتوز فسفات پدید می‌آیند. بنابراین فعالیت باکتری‌کشی گرانولوسیت‌ها رابطه مستقیم با متابولیسم کربوهیدرات‌ها دارد و از آنجائی که گرانولوسیت‌های بیماران دیابتی در مصرف گلوکز دچار اختلالند تست NBT و کمی لومینسانس در آنان مختلف می‌باشد (۳). این مسأله در مطالعات ما نیز به اثبات رسیده است.

در بررسی حاضر آزمایش کموتاکسی با فاکتور کموتاکتیک که با سرم بیمار و سلول نرمال انجام شده است در اکثر موارد غیر طبیعی بود که احتمالاً "به علت وجود مواد مهارکننده در سرم این بیماران و یا به سبب کمبود C_3 می‌باشد. در مطالعه‌ای که در آن با پانکراس مصنوعی به مدت ۳۶ ساعت قند خون را کنترل و قبل و بعد از کنترل قند، فاگوسیتوز و عمل باکتری‌کشی گرانولوسیت‌ها را بررسی کرده‌اند نتیجه گرفته‌اند که فعالیت باکتری‌سیدی گرانولوسیت‌های بیماران دیابتی مختل است و این اختلال بعد از تصحیح قند خون اصلاح می‌شود ولی به سطح طبیعی افراد سالم نمی‌رسد (۵).

اندازه‌گیریهای سطح ایمنوگلوبولینهای سرم که در مطالعه ما انجام شد حکایت از سطوح بالا نسبت به شاهدان همسن وایرانی خود دارد. بالا بودن IgM می‌تواند به علت عفونتهای مکرر در این بیماران و بالا بودن IgA و IgG به علت وجود آنتی‌کورهای بر ضد انسولین که تقریباً در تمام بیماران مبتلا به دیابت که تحت درمان با انسولین قرار دارند، باشد (۶).

اختلال آپسونینزاسیون در این مطالعه می‌تواند به علت پائین بودن C_3 در این بیماران باشد. حضور این کمپلمان برای آپسونینزاسیون ضرورت دارد.

مقایسه تعداد و عمل سلول‌های T و B در بیماران دیابتی تاکنون به نتیجه واحدی نرسیده است. در بعضی از گزارشها تعداد این سلول‌ها را نسبت به افراد سالم زیادتر ذکر کرده‌اند ولی در برخی از مطالعات مخصوصاً در افراد مبتلا به کتواسیدوز و دیابت خوب-

کنترل شده تعداد لنفوسیتها را کم گزارش نموده‌اند (۸). کاهش پاسخ لنفوسیت ها به PHA (Phytohemagglutinin) در بیماران دیابتی خوب کنترل شده دیده نشده است (۴).

اگرچه همه محققان در جهت شناخت علل عفونتهای مکرر بیماران دیابتی متفق القول نیستند و در بعضی از مطالعات نتوانسته‌اند رابطه‌ای بین اختلال فاگوسیتوز و دیابت پیدا کنند ولی اکثر بررسی‌ها دلالت بر وجود اختلال کموتاکسی وانهدام داخل سلولی دارد (۲، ۳). تحقیقات مادر ۶۱ بیمار دیابتی بیانگر وجود اختلال در کموتاکسی با سرم بیمار و سلول نرمال در مقابل ماده کموتاکتیک، انهدام داخل سلولی، کمبود C_3 و اختلال آپسونیزاسیون می‌باشد.

خلاصه

در رابطه با علت عفونت در بیماران دیابتی اعمال مطالعه عمل بیگانه خواری گرانولوسیت‌ها (شامل آپسونیزاسیون، کموتاکسی وانهدام داخل سلولی) و نیز اندازه‌گیری سطح کمپلمان‌ها و ایمونوگلوبولین‌ها در ۶۱ بیمار دیابتی وابسته به انسولین در مرکز طبی کودکان انجام گرفت. سن شروع دیابت در این گروه از ۵ ماهگی تا ۱۵ سالگی (میانگین سن ۶/۵۱ سال) و مدت گرفتاری از یک ماه تا ۱۳ سال (بطور متوسط ۵/۴ سال) بوده است. گرانولوسیت‌های بیماران دیابتی در آپسونیزاسیون، کموتاکسی وانهدام داخل سلولی مختل بودند. سطح در ۵۰٪ موارد نسبت به موارد شاهد پائین تر و مقدار ایمونوگلوبولین‌ها در اکثر بیماران بالاتر از حد طبیعی برای سن بود.

تشکر

نگارندگان از آقای دکتر آشتیانی و خانم پستان که در انجام آزمایش HbA_{1c} نهایت همکاری را نموده‌اند تشکر فراوان می‌نمایند.

A.H. Farhoodi, M.D.

A. Rabbani, M.D.

A. Sotoodeh, M.D.

T. Sepehrzad, M.D.

A Study of Phagocytosis in Insulin
Dependent Diabetes Mellitus

To investigate the cause of susceptibility of the diabetic patients to infection, phagocytic functions including chemotaxis, opsonization and NBT as well as levels of C_3 and C_4 complements and immunoglobulins were tested in 61 patients with insulin dependent diabetes.

Chemotaxis tests done with chemotactic factor on patients' serum plus normal cells were abnormal in 96.4% of cases with respect to controls. NBT test was abnormal in 45% of patients. C_3 and C_4 levels were tested in half of the patients in whom C_4 levels were normal in all cases and C_3 levels decreased in 50% of cases. Opsonization was also abnormal in the latter group. IgA, IgG and IgM were measured in one third of the patients which revealed higher levels than that of controls in all cases. Levels of HbA_{1c} which is a good indicator of glucose control, correlated well with the abnormal tests (i.e. higher percentage of abnormal tests with respect to higher percentage of HbA_{1c}).

مآخذ

- ۱ - فرهودی، دکتر ابوالحسن: بیماریهای نقص ایمنی - تشخیص و درمان. انتشارات علمی، تهران ۱۳۶۵.
2. Davidson, N.J. et al.: Defective phagocytosis in insulin controlled diabetes. J. Clin. Pathol. 37: 783-786, 1984.
3. Dziatkowiak, H. et al.: Phagocytic and bactericidal activity of granulocytes in diabetic children. Diabetes 31: 1041-1043, 1982.
4. Larkin, J.C. et al.: Diabetes mellitus and infection. Post Graduate Med. J. 61: 233-237, 1985.
5. Movat, A.G. et al.: Chemotaxis of PMNL from patients with diabetes mellitus. N. Engl. J. Med. 284: 621-626, 1971.
6. Sperling, M.A.: Metbolic disorders, diabetes mellitus. In: Behrman, R.E., Vaughan: V.C.: Nelson Textbook of Pediatrics, 13th ed., Pp. 1248-1260, W.B. Saunders, Philadelphia, 1987.
7. Sperling, M.A.: Outpatient management of diabetes mellitus. Ped. Cl. N. Am. 34(4): 926-928, 1987.
8. Valerius, N.H. et al.: Neutrophil and lymphocyte function in patients with diabetes mellitus. Acta Med. Scand. 211: 463-467, 1982.