

2. استعراض المراجع

1.2. بروتين (C) المنشط : C-reactive protein (C-RP)

1.1.2. نبذة تاريخية:

لاحظ العديد من العلماء ان اصابة الانسجة tissue injury تؤدي الى زيادة في التركيز المصلي لبعض من المواد analytes وبالمقابل نقصان التركيز المصلي لبعض الاخر (Young et al., 1991, Thompson et al., 1992). هذا التغير في التركيز يعود الى استجابة الطور الحاد Acute phase response (APR). وبروتين (C) المنشط C-reactive protein (C-RP) هو واحد من هذه المواد، اذ يزداد تركيزه في مختلف حالات الالتهاب Inflammation او اصابات الأنسجة، من ضمنها اصابة عضل القلب Myocardial injuries او حالة الاحتشاء Infarction (Thompson et al;1992).

اكتشف البروتين (C) المنشط عام 1930 من قبل العالمين (William Tillet and Thomas Francis) حيث تمكنا من استخلاص المادة المنشطة (C) C-reactive substance من مصول المرضى المصابين بمكورات ذات الرئة التي تترسب مع متعدد السكريد (C) C-polysaccharide المشتق من الجدار الخلوي لمكورات ذات الرئة *Streptococcus pneumoniae*. وان التفاعل بين هذه المادة ومتعدد السكريد هو تفاعل نوعي (Specific)، لذا فقد استخدم لاحقا كفحص لتشخيص بعض الامراض واطلق عليه باختبار الترسيب Preciptin test (Gambino; 1997).

في عام 1941 اجريت سلسلة من البحوث برهنت ان المادة المنشطة (C) هي ذات طبيعة بروتينية وتم التعرف على العديد من خواصها، وسميت هذه المادة بروتين (C) المنشط (Burtis and Ashwood, 1999).

جرت محاولات عديدة وباستخدام تقنيات مختلفة لمعرفة مكان تصنيع بروتين (C) المنشط الا ان هذه المحاولات لم تف بالغرض وقد نجح علماء اخرون في تشخيص الكبد كموضع لتصنيع البروتين عن طريق استعمال مزرعة نسيجية ودمج الاحماض الامينية المعلمة C-labeled amino acid داخل البروتين المصنع حديثا والذي بعدها يميز بواسطة

فحص التصوير الشعاعي الذاتي. بعد ان اجري له ترحيل مناعي مع الحامل (Mc Carty, 1982).

اما وظيفة البروتين، فقد جرت عدة محاولات من قبل بعض العلماء باستخدام تقنية الخلية المنزقة (Slide cell technique) حيث وجد ان بروتين (C) المنشط بتركيز قليلة (مايكرو غرام/ ملتر) يحفز هجرة الكريات البيضاء الطبيعية البشرية ولكن بتركيزه العالية يكون ساما للخلايا. كما اظهرت الدراسات ان حدوث الزيادة في تركيز بروتين (C) المنشط في الأرناب له علاقة بزيادة انتاج الاضداد (McCarty, 1982).

استخدم بروتين (C) المنشط كفحص لأول مرة عام 1930 من قبل العالمين (Tillet and Francis) وسمي باختبار الترسيب البسيط. بقي هذا الفحص مستخدما لمدة خمسين عاما على الرغم من فقدانه الحساسية التحليلية. ومع بداية عام 1980، اصبحت الفحوصات المناعية متيسرة تجاريا واكثر حساسية ونوعية لتشخيص ومتابعة الكثير من الامراض وحالات الالتهاب (Gambino 1997).

2.1.2. بروتين (C) المنشط:

هو جزيء غير الكلوبولين المناعي Immunoglobulin موجود في المصل. يصنع في الكبد خلال استجابة الطور الحاد لحالات الالتهاب والخمج او تلف الانسجة. له القدرة على ترسيب المجموعة C-CHO لمكورات ذات الرئة بوجود ايونات الكالسيوم (Dasgupta, 1992) (Ca^{+2}).

يعود بروتين (C) المنشط الى عائلة Pentraxin التي تشمل البروتينات البلازمية قليلة القطع (Oligomere). وتعتمد ايونات الكالسيوم في ربط الربائط (Gewurz et al., 1995). كذلك يصنف بروتين (C) المنشط الى فوق العائلة (Lectin fold) نسبة الى الطية الثلاثية المميزة للتركيب البلوري لهذه البروتينات (Pepys, 1998) ان انتاج بروتين (C) المنشط هو جزء من استجابة الطور الحاد غير النوعية لمعظم اشكال الالتهاب Inflammation والخمج Infection وتلف الانسجة tissue damage لذا فهو لايعطي معلومات سريرية كافية. وان قيم البروتين لوحدها لا تكون تشخيصية، وانما يتم من خلالها تفسير الحالة السريرية لذلك فهو معلم جهازي حساس ومفيد في الخبرة السريرية

في كل من، كشف المرض العضوي وفي متابعة تطور المرض وايضا استجابته للعلاج (Wilkins et al., 1998; Pepys and Hirschfeld, 2003).

3.1.2. التركيب الكيمو حيوي لبروتين (C) المنشط:

تتكون جزيئة البروتين من خمس وحدات ثانوية (Subunits) متعددة الببتيد متماثلة خالية من السكر non-glycosylated. وزنها الجزيئي يتراوح بين (115.000 – 140.000) دالتون (Burtis and Ashwood, 1999). كل وحدة ثانوية ذات وزن جزيئي (23.027) دالتون. محتوية على (206) ثمانية (residue) حامض اميني. ترتبط بصورة غير تساهمية بشكل قرص حلقي متناظر. وان لكل جزء اول (Protomere) صفة مميزة هي طية اللكتين lectin fold المؤلفة من طبقتين من صفائح بيتا (β sheets) بينهما طبقة هلامية مسطحة (Pepys, 1998). موضع ربط الربطة Ligand – binding site مؤلفة من عروات (loops) مع ايوني كالسيوم تربط (4Å) اجزاء منفصلة بواسطة سلاسل البروتين الجانبية التي تقع على الوجه المقعر. اما الوجه الاخر فيحمل α - helix المفردة (Thompson et al., 1999).

جزيئة البروتين الاصلية (native-CRP) هي جزيئة مستقرة stable. وتحرير الاجزاء الاولية المنفصلة separate protomere يحتاج الى تعريض البروتين الى ظروف تحويل قاسية ولا يوجد دليل قوي لوجود جزيئة البروتين المحورة داخل الجسم. كما ان عملية الهدم الكامل والسريع لمثل هذه المواد سيكون متوقعا (Pepys and Hirschfeld, 2003). في حين يعطي (Kreiss et al., 2004) دليلا يقترح فيه ان جزيئة البروتين الاصلية (native - CRP)، خماسية القطع (Pentameric) يجب ان تخضع الى تحويل تركيبى (Structural modification) مكونا وحدات ثانوية احادية القطع monomeric، قبل تحفيز النمط المظهري البدء التهابي (Proinflammatory phenotype). وهذا الاكتشاف الجزيئي قد لا يخدم فقط البحث العلمي الجزيئي الاساسي مثبتا بذلك التأثير الضار للبروتين، ولكن قد يؤثر ايضا في الاستعمال المختبري لبروتين (C) المنشط كمعلم نذيري (Prognostic marker) (Verma et al., 2004).

كما ان هناك نسخة وظيفية مفردة لجين بروتين (C) المنشط البشري (Human C-RP gene) تقع على كروموسوم (1). ولا يوجد تعدد اشكال Polymorphism لكل من سلسلة التشفير او البروتين نفسه قد وصفت لحد الان، كما لم يكتشف شخص فاقد البروتين (C) المنشط (Pepys, 1998). في حين اشار (Verma et al., 2004). ان هناك (3) اشكال متعددة في جين بروتين (C) المنشط التي تترافق مع التغيرات في مستوى البروتين. يرتبط بروتين (C) المنشط مع متعدد السكريد الموجود في الكثير من انواع البكتريا والفطريات والطفيليات الابتدائية، وكذلك يرتبط مع Phosphocholine و Phosphatidylcholine مثل الليسيثين (Lecithin) ومتعدد الايونات السالبة (Polyions) مثل الحوامض النووية بوجود ايونات الكالسيوم. اما في حالة غياب ايونات الكالسيوم فان البروتين يرتبط مع متعدد الايونات الموجبة (Polycations) مثل الهستونات (Burtis and Ashwood, 1999).

4.1.2. تركيز بروتين (C) المنشط في الدم: Circulating CRP concentration

يعد بروتين (C) المنشط في الاشخاص الاصحاء ظاهريا، بروتينا بلازميا ذا مقدار ضئيل trace (Pepys, 1998). لذا فان متوسط تركيزه في أولئك الاشخاص (0.8) ملغرام / لتر. وفي (90%) منهم يقدر بحوالي (3) ملغرام / لتر (Hutchison et al., 2000). اما في (99%) منهم فيقدر بحوالي (10) ملغرام / لتر (Wilkins et al., 1998). ولكن تبعا لمنبه الطور الحاد، فان هذه القيم ربما ترتفع من اقل من (50) مايكروغرام / لتر الى اكثر من (500) ملغرام / لتر أي بما يعادل (10.000) ضعف (Pepys and Hirsch field, 2003).

ينتج بروتين (C) المنشط بواسطة الخلايا الكبدية (Hepatocytes) فقط. وينظم تركيزه بواسطة الوسيط الخلوي Interleukin-6 (IL-6) (Pradhan et al., 2001). حيث يبدأ الكبد بانتاج البروتين بسرعة وبصورة تدريجية بعد منبه واحد (Stimulus)، وترتفع التراكيز المصلية الى اكثر من (5) ملغرامات / لتر خلال (6) ساعات وتصل الذروة خلال (48) ساعة. كما ان نصف العمر البلازمي لبروتين (C) المنشط يبلغ (19) ساعة وهو ثابت تحت مختلف الظروف الصحية والمرضية، ولذلك فان المحدد الوحيد لتركيز البروتين هو معدل

البناء Synthesis rate (Vigushin et al., 1993; Pepys, 1998) الذي يعكس مباشرة شدة الحوادث المرضية المحفزة لانتاج البروتين المنشط (C). اما عند انقطاع المنبه المسؤول عن زيادة الانتاج بصورة كاملة، فان تركيز البروتين في الدم سينخفض بسرعة الى ما يقارب معدل بروتين (C) المنشط البلازمي الكامل (Hutchinson et al., 2000).

لقد لوحظ ان قيم بروتين (C) المنشط ذات الطور الحاد (Acute phase CRP) لا تظهر تغيرات يومية ولا تتأثر بتناول الطعام. في حين ان الفشل الكبدي Liver failure يضعف انتاج البروتين، ولا يمكن للمسببات المرضية المتعارضة (Intercurrent pathologies) وبعض الأدوية القدرة على اختزال قيم البروتين ما لم يؤثر في المسبب المرضي الأساسي (underling pathologies) مجهزين بذلك منبه الطور الحاد. لذا فان قياس بروتين (C) المنشط، يعتبر معلم كيموحيوي غير نوعي مفيد سريريا في: (a) فحص الامراض العضوية. (b) تخمين ومتابعة المرض الالتهابي مثل التهاب المفاصل الرثائي rheumatoid arthritis. (c) الكشف عن الاخماج المتعارضة في الأشخاص ضعيفي المناعة (Immunocompromised individuals) وفي بعض الامراض الخاصة التي تتميز باستجابة مناعية معتدلة او بغيابها مثل الأشخاص المصابين بمرض الذئب الاحمراري Systemic lupus erthrematosus. (d) يستخدم الكشف عن عدة حالات منها: حالة ابيضاض الدم Leukemia، وبعد العمليات الجراحية، وفي الكشف عن رفض الكلى لدى مستقبلها، وفي حالات انتان الدم الجنيني neonatal septicemia والتهاب السحايا menigitis عندما يكون من الصعب جمع العينات للأبحاث الجرثومية (Pepys, 1998; Burtis and

Ashwood, 1999; Pepys and Hirsch field, 2003).

5.1.2. ربط الربطة والدور الحيوي لبروتين (C) المنشط:

Ligand binding & biological role of CRP

يرتبط بروتين (C) المنشط وبألفة عالية بثمالات Phosphocholine ولكنه يرتبط ايضا مع مختلف الربائط الذاتية (autologous ligand) والخارجية (extrinsic ligand) ، وهو يكس أو يرسب التراكيب الخلوية (cellular) والجسيمانية (particulate) والجزيئية (molecular) حاملا هذه الربائط (Pepys, 1998).

عندما يرتبط بروتين (C) المنشط أو يتكس مع الربائط الجزيئية الكبيرة (macromolecular ligand) ، فان البروتين المنشط (C) البشري سيميز بواسطة جزيئه (C₁) (q) وبصورة فاعلة ينشط المسلك التقليدي للمتمم (Pepys, 1998; Burtis and Ashwood, 1999; Mortensen, 2001). جزيئه الالتصاق الكبيرة لنظام المتمم. والغشاء الطرفي يهاجم المعقد (C₅ C₉) (Volanakis, 1982; Mold et al., 1999). وان بروتين (C) المنشط ، ربما يجهز مواضع ربط ثانوية وبذلك ينظم تضخيم المسلك البديل للمتمم وانزيمات تحويل (C₅) (Pepys and Balts, 1983). كما يعمل بروتين (C) المنشط على تعديل تنشيط الصفيحة (modulation of platelet activation) من خلال ارتباطه بالعامل المنشط للصفيحة (Platelet activation factor) (PAF)، الوسيط البدء التهابي الفعال (Proinflammatory mediator) (Pradhan et al., 2001). كذلك يستطيع البروتين المتكس الارتباط مع البروتين الدهني القليل الكثافة Low density lipoprotein والاقول كثافة (Very low density lipoprotein (Lp)) (Pepys, 1998; Mortensen, 2001). أما التأثيرات الثانوية للبروتين المنشط (C) التي تلي ربط - الربائط فتشابه بعض خواص المفتاح للاضداد، موحية ان البروتين ربما يساهم تحت مختلف الظروف في دفاع المضيف ضد الخمج. وله اثر في بدأ عمليات الطهارة (Opsonization) والبلعمة (Phagocytosis) والحل (Lysis) للخلية الغازية (invader cell) كاستجابة للتفاعل الالتهابي. ولعل الدور الرئيس له هو تصفية الحطام الخلوي من مواضع الالتهاب الفعالة (Burtis and Ashwood, 1999; Pradhan et al., 2001; Pepys and Hirsch field, 2003).

يقوم بروتين (C) المنشط بتحفيز انتاج عامل النسيج (tissue factor) بواسطة الخلية البلعمية احادية النواة (mononuclear phagocytes) مما يجعل له تاثيرات على حدوث التجلط (coagulation) (Pepys, 1998; Dibra et al., 2003).

ومن الوظائف الأخرى، أن البروتين (C) المنشط يستطيع المشاركة وبصورة فاعلة في تكوين الآفة (lesion formation)، من خلال تنشيط الكريات البيض (Leukocyte activation) والخلل الوظيفي البطاني (Endothelial dysfunction) (Wang et al., 2003). وفي الخلايا الطلائية، يعمل البروتين على زيادة تعبير الجزيئات اللاصقة الخلوية (Cell adhesion molecules)، ينظم وسائط الجذب الكيميائي، زيادة تحرير (Endothelin-1(ET-1)، كبح تصنيع أكسيد النتريك (No)، زيادة الالتصاق الخلوي البطاني بالخلايا الأحادية، وأنه يسهل انتحار الخلايا البطانية ويثبط التكوين الوعائي (Angiogenesis) (Verma et al., 2002; Devaraj et al., 2003). بينما وجد أنه يحفز تنشيط (Endothelial NF_k-B). ويزيد التعبير والفاعلية (Plasminogen Activator Inhibitor-1 (PAI-1)) في الخلايا الطلائية للابهر البشري Human Aorta Endothelial cells (HAECs) وهذا له أثر أساسي في المتلازمة الأيضية (Metabolic syndrome) والخثار العصيدي (Atherothrombosis) (Devaraj et al., 2003). وله دور في زيادة تنظيم (Angiotensin Type1 Receptors (AT1-R)) المتوسط لاحداث التصلب العصيدي (Atherosclerotic events) في العضلة الوعائية الملساء سواء داخل الجسم (invivo) أو خارجه (invitro) وهذه الخصائص تدعم الاعتقاد أن البروتين عامل سابق للتصلب العصيدي (Proatherosclerotic Factor) فضلا عن كونه معلم خطورة قوي. ومؤخرا أثبت أن البروتين (C) المنشط يثبط بقاءية وتمايز الخلايا السلفية البطانية (Endothelial Progenitor cell) المشتقة من نخاع العظم، مفتاح العملية في تكوين الأوعية الحديثة بعد الولادة (Wang et al., 2003).

6.1.2. دور بروتين (C) المنشط في الاستجابة المناعية:

The role of CRP in immunological response

يظهر بروتين (C) المنشط في المصل مترافقا مع عدد من أنماط الالتهاب المختلفة وأيضا مستجيبا لعدد من المنبهات (Stimuli) وأكثرها شيوعا تلك المرتبطة مع الخمج الجرثومي (Bacterial infection) والإصابة الإقفارية للأنسجة (ischemic injury) كما في

حالة احتشاء العضلة القلبية، فضلاً عن حالات الالتهاب السريري مثل التهاب المفاصل الرثائي rheumatoid arthritis (Kapaln, 1982).

وفي جميع الحالات اعلاه فان آلية البروتين في احداث الاستجابة المناعية متشابهة، ففي حالة الالتهاب او الخمج، فان البروتين يرتبط مع الكائن المجهرى، ويعمل على تنشيط سلسلة المتمم، من خلال ارتباطه بالاجزاء الشبيهة بالكولاجين (Collagene-like parts) لجزيئه المتمم (C₁ q) (Janeway et al., 1999)، مؤديا الى ترسيب جزيئة (C₃b) الطاهية opsonin على سطح الكائن المجهرى، وبعد ان تعبر الخلايا البلعمية عن مستقبلاتها C₃b سرعان ما تلتهم الكائن المجهرى المغطى بـ C₃b، وبعدها يتم تحليل الخلية الغازية invading cell كاستجابة للتفاعل الالتهابي (Golds et al., 2000).

اما في حالة تلف الانسجة (tissue damage) فان البروتين له اثر رئيس في تمييز المواد الذاتية السامة (toxic autologous substance) المتمثلة بالأغشية الخلوية المنخورة او التالفة المتحررة من النسيج المتضرر والارتباط بها، بعدها ازالة سميتها او تصفيتها من الدم (Burtis and Ashwood, 1999; Pradhan et al., 2001; Pepys and Hirschfield, 2003).

7.1.2. دور بروتين (C) المنشط في تشخيص بعض الامراض الانتقالية:

Role of CRP in the diagnosis of certain infectious disease

استخدم بروتين (C) المنشط باعتباره فحصاً مسحياً بسيطاً screening test للكشف عن الاخماج الجرثومية واصابات الانسجة (Gambino, 1997). وفي التمييز بين الاخماج الجرثومية والفيروسية وخاصة عندما يستوجب وقت طويل لظهور نتائج الزرع الجرثومي وفي متابعة نتائج العلاج لتلك الامراض (Matesanz et al., 2003).

لذا فقد استخدم بروتين (C) المنشط كفحص مساعد للتقييم السريري في تشخيص ومنع الخمج الجرثومي لدى الرضع المولودين قبل الاوان الطبيعى للوضع (Preterm infant)، حيث وجد ان متوسط مستوى البروتين في Cord serum يبلغ (0.125) ملغرام/ لتر وبمدى (0.011 – 6.0) ملغرام/ لتر وخلال (24) ساعة، ويرتفع المتوسط الى (1) ملغرام/ لتر وبمدى (0.016 – 7) ملغرام/ لتر. اما في (48) ساعة فان متوسط مستوى البروتين يرتفع (2) ملغرام/ لتر وبمدى (0.400 – 8.0) ملغرام/ لتر. وله اثر في متابعة

الاستجابة للعلاج بالمضادات الحياتية وإيقافها عند عدم الحاجة إليها (Wasunna et al., 1990).

استخدم بروتين (C) المنشط باعتباره معلماً ذا قيمة في تشخيص الانتان (Sepsis) لدى الأطفال حيث لوحظ أن مستوى البروتين يرتفع أكثر من (1) ملغرام/ لتر في المراحل المبكرة من الإخماج الجرثومية (Huang et al., 2003) في حين أشار (Santolya et al., 2001) أن ارتفاع مستويات البروتين لأكثر من (90) ملغرام / لتر يساعد في التنبؤ بخطورة خمج الجراثيم الغازية (invasive bacterial Infection) لدى الأطفال الذين يعانون من السرطان (Cancer) ، الحمى (Fever) وقلة الخلايا المتعادلة (Neutropenia) .

لقد وجد أن القياسات المتسلسلة لتركيز بروتين (C) المنشط ربما يساعد في تحديد مدى التقييم الذي يحتاجه المرضى من البالغين والذين يعانون قلة الخلايا المتعادلة أثناء الحمى (febrile neutropenia) ومحتمل أن يعجل الكشف بطريقة أخرى عن الخمج غير المشكوك فيه (Manian, 1995) .

استخدم بروتين (C) المنشط باعتباره معلماً من الطراز الأول عالي الخصوصية وعالي الحساسية لتشخيص ذات الرئة الجرثومي (Community-acquired bacterial pneumonia) المكتسب من المجتمع (Requejo and Coccoza, 2003). وفي قياس الاشتداد الحاد (acute exacerbation) لالتهاب القصبات (Bronchitis) (Watanabe et al., 2001). واعتباره معلماً لقياس الاستجابة الالتهابية في المرضى الذين يعانون التليف الكيسي (Cystic fibrosis) والمصابين بجراثيم (*Pseudomonas aeruginosa*) الانتقالية (Jones et al., 2003).

وبينت الدراسات وجود بروتين (C) المنشط في السطوح المخاطية للقنوات التنفسية وبكميات جيدة في الإنسان وعن قابلية الخلايا الطلائية المبطننة لتلك القنوات للتعبير عن بروتين (C) المنشط وكذلك عن دور هذا البروتين في إزالة الجراثيم bacterial clearance في القنوات التنفسية للإنسان (Gould and Weiser, 2001).

كذلك استخدم البروتين معلماً التهابياً لتشخيص ومتابعة الحالات الحادة للحمى المتموجة (Acute brucellosis) فقد لوحظ زيادة معنوية في تركيز البروتين في طور الحاد من المرض مقارنة بانخفاضها بعد العلاج (Demirdag et al., 2003).

استخدم بروتين (C) المنشط معلماً مساعداً في تشخيص ومتابعة حالات الإصابة بجرثومة *Helicobacter pylori*، الجرثومة المسببة لحالة التهاب المعدة gastritis وقرحة المعدة والاثني عشر gastric and duodenal ulcer. (Saribas et al., 2004).

واثبتت العديد من الدراسات قابلية بروتين (C) المنشط على التمييز بين المرضى الذين يعانون التهاب السحايا الجرثومي (Bacterial meningitis) والتهاب السحايا الفيروسي (Viral meningitis) (Corrall et al., 1981; Steaman and Sauthgate, 1994). وفي التمييز بين التهاب السحايا المتسبب عن الجراثيم الموجبة لصبغة كرام (Gram's positive) والتهاب السحايا المتسبب عن الجراثيم السالبة لصبغة كرام (Gram's negative) في سائل النخاع الشوكي (Cerebrospinal fluid (CSF)) حيث وجد ان متوسط تركيز البروتين في السائل النخاع الشوكي يكون اعلى عند المرضى الذين يعانون (Gr⁻ meningitis) بالمقارنة مع أولئك الذين يعانون (Gr⁺ meningitis) (Rajs et al., 2002).

استخدم فحص بروتين (C) المنشط ايضاً في تشخيص حالات الاطفال الذين يعانون الإصابة بفيروس (EBV) (Epstein-Barr virus) دون (5) سنوات. حيث وجد ان مستوى البروتين يصل الى (172) ملغرام / لتر متخظياً مستوياته المكتشفة لدى المرضى الذين يعانون الاخماج الجرثومية الحادة (severe bacterial infection) (Matesanz et al., 2003) واستخدم بروتين (C) المنشط معلماً مختبرياً مساعداً لتشخيص المتلازمة التنفسية الحادة ((severe acute respiratory syndrome (SARS)) ، اذ يرتفع تركيز البروتين ويصل الى مستويات عالية الذروة عند أولئك المرضى (Jang et al., 2004).

وان قياس مستوى البروتين في السائل المهبلي (Vaginal Fluid CRP) ينبئ بحصول الخمج داخل السلى (Intraamniotic infection) والتهاب الحبل السري (Funisitis) في المريضات اللائي يعانين من تمزق الاغشية المبكر قبل الوضع Preterm (PROM) (Premature rupture of membrane) فقد وجد ان مستوى البروتين يرتفع لأكثر من (800) نانوغرام / ملتر مما اعطاه أهمية باعتباره معلماً اضافياً لتخمين ما سيؤول اليه الجنين عند المريضات اللائي يعانين (PROM) (Di-Naro et al., 2003).

2. 1. 8. دور بروتين (C) المنشط في تشخيص بعض الأمراض غير الانتقالية:

Role of CRP in the diagnosis of certain non-infectious diseases

استخدم بروتين (C) المنشط لفحص وتشخيص العديد من امراض القلب الوعائية (Cardiovascular Diseases (CVD)) ومتابعتها وخاصة امراض القلب الاكليلية (Coronary Heart Diseases (CHD)) (Koenig et al., 2001). وقد بينت العديد من الدراسات السريرية والوبائية ان تراكيز بروتين (C) المنشط تزداد عند المرضى الذين يعانون الذبحة الصدرية المستقرة وغير المستقرة (stable & unstable angina) (Koukkunen et al., 2001 ; Chambers et al., 2001). وقد اشار (Liuzzo et al., 1994) الى ان المرضى الذين يعانون الذبحة الصدرية غير المستقرة والذين لديهم مستوى البروتين اعلى من (0.3) ملغرام / 100 ملتر يعانون من عوارض اقفارية (ischemic episodes) اكثر من اولئك الذين يكون لديهم تركيز البروتين اقل من (0.3) ملغرام / 100 ملتر وقد وجد ان ارتفاع مستوى بروتين (C) المنشط الأساسي (Baseline CRP) ذو قيمة نذيرية (Prognostic value) كبيرة لتشخيص مرضى الذبحة غير المستقرة والذين يخضعون للتدخل الاكليلي خلال الجلد (intervention) (Chew et al., 2001).

بينما وجد (Dibra et al., 2003) ان ارتفاع مستويات البروتين اكثر من (5) ملغرام / لتر قبل اجراء التدخل الجراحي يكون اقل ايجابية في الانذار لدى مرضى الذبحة المستقرة الذين يخضعون للتضييق الاكليلي (Coronary stenting).

استخدم فحص بروتين (C) المنشط في تشخيص ومتابعة حالة احتشاء العضلة القلبية الحاد (acute myocardial infarction) (deWinter et al., 2000)، حيث يرتفع مستوى البروتين خلال (24) ساعة الاولى من بداية ألم الصدر ويصل الذروة حوالي (48) ساعة (Shaya et al., 2002; Pepys and Hirschfield, 2003). وقد اشار (Shaya et al., 2002) الى ان متوسط الحد الاعلى لتراكيز البروتين البلازمي يبلغ (68) ملغرام / لتر للمرضى الذين يعانون حالات الاحتشاء الحادة خلال اليوم الثاني من دخولهم المستشفى.

ودلت المستويات المرتفعة لبروتين (C) المنشط على وجود علاقة موجبة بحدوث السكتة (Stroke) وان كانت هذه العلاقة غير اكدية في امتلاكها المغزى نفسه للفئات العمرية المختلفة ، او عند اولئك الذين يعانون الحد الأدنى او الأعلى من خطورة الاصابة بامراض القلب الوعائية (Rost et al., 2001). في حين اشار (Curb et al., 2003) الى ان المستويات المرتفعة من تراكيز البروتين في متوسط سن البلوغ للرجال الذين لا يعانون عوامل الخطورة المهمة للاصابة بامراض القلب الوعائية ، قد تكون عامل خطورة مهم للاصابة بالسكتة الناتجة عن الانصمام الخثاري (Thromboembolic Stroke).

يعد بروتين (C) المنشط متنبأ التهابياً فعالاً استخدم في تشخيص التصلب العصيدي (Atherosclerosis) (Wang et al., 2002)، وفي متابعة الحد الأدنى من استجابة الطور الحاد للمرضى الذين يعانون التصلب العصيدي المزمن (Chronic Atherosclerosis) (Macy et al., 1997). وقد بين (Hashimoto et al., 2001) ان ارتفاع مستوى البروتين في المراحل المبكرة من التصلب العصيدي السباتي (Carotid Atherosclerosis) يعد معلماً لقياس فاعلية activity التصلب العصيدي السباتي افضل من اتساع extent التصلب العصيدي ، وان هناك علاقة بين زيادة مستوى البروتين المنشط (C) وزيادة حدوث التكلس الاكليلي النخابي دون السريري (epicardial coronary calcification) في النساء والرجال ، حيث يعد البروتين المعيار الاكثر فاعلية للتصلب العصيدي الاكليلي ، ويبلغ متوسط تركيز البروتين (1.5) ملغرام / لتر مما يؤدي بدوره الى زيادة خطورة الاصابة بالاحداث القلبية المستقبلية (Wang et al., 2002).

هناك بعض العوامل التي تؤثر في اختزال
 البروتين (C) المنشط ومنه اسـ _____
 (Statin) Hydroxymethyl glutaryl coenzyme A reductase inhibitors المستعمل باعتباره
 علاجاً وقائياً اولياً للإصابة بالحوادث الاكليلية الحادة (Ridker et al., 2001 (a)). حيث
 اشار (Albert et al., 2001) الى ان استخدام Paravastatin يختزل مستوى البروتين خلال
 (12-14) اسبوع بنسبة (16.9%) وبصورة مستقلة عن تأثيره على LDL.)
 Cholesterol (بينما وجد (Ridker et al., 2001 (b) ان مستوى البروتين ينخفض خلال
 (8) اسابيع من بداية المعالجة بـ (Cerivastatin) للمرضى المصابين بزيادة الكوليسترول في

الدم (Hypercholesterolemia) اما الباحث (Plenge et al., 2002) فقد وجد ان مستوى بروتين (C) المنشط ينخفض خلال (14) يوماً عند استخدام (Simvastatin). وان استخدام (Xuezhikang) وهو مستخلص من (Cholisten) والذي يعمل بصورة فاعلة على اختزال (Fasting Lp(a)) للمرضى الذين يعانون من امراض القلب الاكليلية ، يعمل ايضا على اختزال تراكيز البروتين (C) المنشط الصيامية (Fasting hsCRP) (Liu et al., 2003) (concentration).

لقد لوحظ ان هناك علاقة موجبة قوية بين تركيز الاساسي لبروتين (C) المنشط (Baseline CRP) ودليل كتلة الجسم (Body mass index (BMI)) (Danesh et al., 1999)، حيث وجد ان فقدان الوزن يخفض قيمة البروتين (CRP value)، وان زيادة الوزن وخاصة السمنة الحشوية (Visceral obesity) تتوافق مع زيادة تراكيز بروتين (C) المنشط (Chan et al., 2002). وقد اشار (Hiura et al., 2003) الى ان المستويات المرتفعة من البروتين تعد مؤشراً ذا دلالة للكشف عن السمنة في الاطفال والتي تؤثر بدورها في تقدم الاصابة المستقبلية بامراض تصلب العصيدى ، وان استخدام ستراتيجية الوقاية من السمنة في الطفولة قد يساهم في خفض الحوادث المستقبلية للاصابة بالمتلازمة الايضية ، ووجد ان السمنة تعد محدداً مهماً لتركيز البروتين (C) المنشط الاساسي في التوائم متماثلة الزيجة بصورة مستقلة عن تاثيراتها الجينية (Greenfield et al., 2004).

كذلك وجد ان ارتفاع قيم بروتين (C) المنشط تترافق مع اشكال من مقاومة الانسولين (Insuline resistance) او المتلازمة الايضية (Metabolic Syndrome). متضمنا داء السكري (Diabetes mellius) الواضح سريرياً (Frohlich et al., 2001; Pradhan et al., 2001; Chambers et al., 2000) اذ ان زيادة انتاج بروتين (C) المنشط تنبئ بتطور النمط الثاني من داء السكري بصورة مستقلة عن عوامل الخطورة التقليدية (Freeman et al., 2002). وفي الاشخاص ذوي السمنة المفرطة المقاومين للانسولين تنخفض قيم البروتين المرتفعة بصورة مساوية للتحسن في مقاومة الانسولين الذي يترافق مع فقدان الوزن، على الرغم من ان العلاقة بين بروتين (C) المنشط ومقاومة الانسولين هي مستقلة عن كتلة الجسم (McLaughlin et al., 2002).

من جانب آخر فان مستوى بروتين (C) المنشط ينخفض بصورة كبيرة لدى المرضى الذين يعانون السمنة المفرطة فضلا عن اصابتهم بالنمط الثاني من داء السكري عند اعطائهم (Troglitazon) لما لهذه المادة من تاثيرات ضد الالتهابات (antiinflammatory effects) فضلا عن تاثيراتها المضادة للمؤكسد (Antioxidant effects) (Aljada et al., 2001).

وقد استخدم بروتين (C) المنشط باعتباره معلماً التهابياً لتشخيص المرضى الذين يعانون هبوط الفا ليبوبروتين العائلي في الدم (Familial hypoalpha lipoproteinemia) فقد وجد ان مستويات البروتين ترتفع عند المرضى في حالة غياب العلامات والاعراض للالتهاب الموضعي او الجهازى او المرض المتكرر (Recurrent) بمدى يتراوح بين (0.02 - 4.66 مليغرام / لتر) مما يدعو لاقتراح التنظيم العالي للميكانيكيات السابقة للالتهاب التي قد تتفاقم بوجود مرض تصلب العصيدي الاكليلي (Sampietro et al., 2002).

لقد لوحظ ان بروتين (C) المنشط له علاقة مع ضغط الدم المرتفع (Ridker et al., 2003)، حيث اشار (Anonaymous, 2004) الى ان المستويات المرتفعة من البروتين تزيد من تفاقم خطورة ضغط الدم المرتفع عند النساء بنسبة (52%) ، وقد وجد المغزى نفسه عند النساء اللاتي يعانين ضغط الدم المنخفض، رافعاً احتمالية ضغط الدم المنخفض ربما تؤدي الى انخفاض مستويات البروتين في الدم، كذلك وجد ان المتلازمة الايضية لها علاقة مع المستويات المتزايدة من بروتين (C) المنشط، فقد اشار (Ridker et al., 2003) ان استخدام فحص (CRP) يضيف معلومات نذيرية سريرية مهمة للمصابين بالمتلازمة الايضية عندما يكون مستوى البروتين الاساسي (Base line CRP) اقل او اعلى من (3.0) ملغرام / لتر .

فضلا عن ذلك فقد وجد ان التدخين واستخدام مانع الحمل عن طريق الفم (Oral contraceptive) والجهازى ، ولكن ليس عن طريق الجلد (Transdermal) (Danesh et al., 1999; Frohlich et al., 1999). والمعالجة بالاستبدال الهرموني (Hormone Replacement Therapy) (HRT) للنساء المسنات ايضا يترافق مع زيادة ذات مغزى احصائي في تراكيز البروتين الاساسية بدون أي علامة للالتهاب الناشئ عن تلف الانسجة

(Cushman et al., 1999; Ridker et al., 1999). وتزداد هذه العلاقة أهمية لدى النساء المسنات اللاتي يعانين السمنة المفرطة واللاتي يستخدمن العلاج بالاستبدال الهرموني، حيث وجد (Barinas-Mitchill et al., 2001) ان المستويات العالية من البروتين موجودة عند النساء المستخدمات (HRT) وفي الربع الاعلى من السمنة الحشوية (4.29) ملغرام / لتر مقارنة بالنساء اللاتي لا يستخدمن (HRT) وفي الربع الادنى من السمنة الحشوية (0.96) ملغرام / لتر ، وعلى النقيض من ذلك فان الفعاليات الرياضية (Ford, 2002) والاستهلاك المعتدل للكحول (Imhof et al., 2001) كلاهما يترافق مع انخفاض التركيز الاساسي للبروتين.

استخدم فحص بروتين (C) المنشط كذلك في متابعة تقدم مرض الحمى الرثائية (Rheumatoid fever) وفي تشخيص التهاب المفاصل الرثائي (Rheumatoid arthritis) وفي متابعة تاثير العلاج للمرضى الذين يعانون التهاب المفاصل الرثائي المبكر (Very early Rheumatoid arthritis) (Peltomaa et al., 2001; Boon et al., 2002; Hardin, 2000; Ruddy, 2003) حيث وجد ان مستويات البروتين ترتفع عند اولئك المرضى. فضلا عن وجود علاقة بين مرض التهاب ما حول السن (Periodontitis Disease) وقيم بروتين (C) المنشط (Pepys and Hirsch field, 2003). فقد اشار Saito et al., (2003) ان مستوى البروتين يشهد زيادة بحدود (1.3) ملغرام/لتر او اكثر للاشخاص الواقعين في الثلث الاعلى من التوزيع والذين يعانون خسارة العظم السنخي (Alveolar bone loss (ABL) حول الاسنان الخلفية بالمقارنة مع اولئك في الثلث الادنى من التوزيع ويعانون (ABL).

استخدم بروتين (C) المنشط معلماً مساعداً في تشخيص التهاب الزائدة الدودية (Appendicitis) عند البالغين (Kessler et al., 2004). اما في الاطفال فقد برزت اهميته باعتباره معلماً توكيدياً للتشخيص المبكر لالتهاب الزائدة الدودية الحاد (Wu et al., 2003).

استخدم البروتين (C) المنشط في تشخيص ومتابعة الاورام السرطانية (santolaya et al., 1994). فقد وجد ان التراكيز الاساسية للبروتين (baseline-CRP) ترتفع لاكثر من (100) ملغرام/لتر اذا كانت الحمى تترافق مع الورم Tumor وينخفض هذا التركيز بعد

العلاج الكيميائي (Manian, 1995). في حين اشار Koc et al., (2003) ان مستويات بروتين (C) المنشط ترتفع عند مرضى السرطان خلال فترة العلاج بالاشعاع Radiotherapy (RT) وبعد فترة العلاج (Post-treatment) بالمقارنة مع مستويات البروتين قبل العلاج بالاشعاع (Pre-treatment). كما استخدم البروتين كمحدد تحذيري لتحديد بقاء سرطان البنكرياس بعد العلاج بـ (Palliative) (Ridwelski et al., 2001). وفي تقدير سرطان الثدي Breast cancer لدى النساء، حيث تزداد مستويات البروتين مع تقدم مراحل المرض (Zakrzewska et al., 2003).

كذلك استخدم البروتين (C) المنشط كمعلم التهابي وعامل خطورة مستقل للتنبؤ بالانحلال البقي Macular degeneration الذي يصيب العين والمرتبط بالعمر. حيث وجد ان مستويات البروتين تكون اعلى وذات مغزى احصائي بين الاشخاص الذين يعانون المراحل المتوسطة والمتقدمة من المرض (Seddon et al., 2004).

2. 1. 9. الطرق المختبرية للكشف عن بروتين (C) المنشط:

Laboratory procedures for quantification of CRP

ان التقدم الحاصل في التقنية المختبرية والاستحداث الالي للطرق القديمة وانتاج اجيال جيدة من المحلات الالية Automated analyzer قد مكنت من قياس تركيز البروتين بعدة طرق منها :-

1. Chemiluminescent enzyme immunometric assay:

هو فحص مناعي انزيمي للتألق الكيميائي. استخدم للكشف بحساسية عالية عن البروتين (C) المنشط (hs CRP) باستخدام المحلل الآلي. الحد الأدنى للتركيز القابل للكشف (0.10) ملغرام/لتر، ومدى التراكيز (0.10 - 500) ملغرام/لتر (Rothkrantz-Kas et al., 2002). من فوائد هذه الطريقة استخدامها للتنبؤ بالخطورة المستقبلية للاحداث القلبية الاكلية عند الاشخاص الاصحاء ظاهرياً (Roberts et al., 2001).

2. Particle – enhance immunonephelometry assay:

هو فحص مناعي بواسطة الجزيئة المعززة لقياس الكدر .Nephelometry
استخدم للكشف عن الحد الأدنى لتركيز البروتين (hs CRP). منجز بواسطة مقياس الكدر
nephelometer الحد الأدنى للتركيز القابل للكشف (0.18) ملغرام/لتر ومدى التراكيز القابلة
للكشف (0.18-1150) ملغرام/لتر (Rothkrautz-Kas et al., 2002). اما عند
قياسها بطريقة (Beckman Coulter) فإن الحد الأدنى للكشف هو (0.05) ملغرام/لتر
(Hegele et al., 2001). استخدمت هذه الطريقة لقياس الكثير من الأمراض وفي الدراسات
الوبائية لتوزيع تراكيز CRP بين عموم المجتمع (Yamada et al., 2001; Ford et al.,
2003(b)).

3. Immunoturbidimetric assay:

هي طريقة مناعية لقياس العكر (Turbidimetry). استخدمت للكشف عن الحد
الأدنى لبروتين (C) المنشط. تعتمد مبدأ التفاعل الحاصل بين (CRP) العينة والضد لمستضد
البروتين (anti-CRPAb) الذي يكون متحسسا لجزيئات لاتكس حيث يحدث التلازن. يعمل
معقد المستضد – الضد على زيادة تشتت الضوء. ويقاس الاخير بواسطة جهاز قياس
الطيف الضوئي Spectrophotometer (Seddon et al., 2004). وعندما تتجز بحسب طريقة
Tina-quant (CRP detection method; Roch diagnostics) ، فإن الحد الأدنى للتركيز
القابل للكشف هو (0.1) ملغرام/لتر ومدى التراكيز القابلة للكشف (0.1-240)
ملغرام/لتر (Khuseyinova et al., 2003). اما عند فحصها بطريقة (Orion
Diagnostica) باستخدام المحلل الآلي على الطول الموجي (550) نانوميتر فإن الحد
الأدنى للكشف هو (0.125) ملغرام/لتر. ومدى التراكيز القابلة للكشف هو (0.20-
2.24) ملغرام/لتر (Liu et al., 2003).

تستخدم هذه الطريقة في التنبؤ بالخطورة المستقبلية للاحداث الاكليلية عند الاشخاص
الاصحاء ظاهرياً (Roberts et al., 2001). وفي التنبؤ بخطورة الاصابة بامراض القلب
الوعائية (CAD) (Ridker et al., 2003)، وكذلك في تشخيص الانحلال البقعي للعين
المرتبط بالعمر (Seddon et al., 2004).

4. The IMAGE hs CRP (Beckman Coulter):

هي طريقة لقياس العكر، مبنية على معدل الذروة Peak rate، استخدمت للكشف عن الحد الأدنى لتركيز CRP. تقاس بواسطة الفحص المناعي near-infrared particle immunoassay مع الصمام الثنائي الليزري Laser diode على الطول الموجي (940) نانوميتر. الحد الأدنى للتركيز القابل للكشف هو (0.20) ملغرام/لتر ومدى التراكيز القابلة للكشف (0.20 - 1440) ملغرام/لتر ولتحسين الحساسية فقد طرأت زيادة على حجم جزيئة Latex بحدود (3-4) اضعاف (Rothkrantz-Kos et al., 2002).

5. Synchrom Lx[®] 20 CRP Method:

هي طريقة لقياس تركيز بروتين (C) المنشط اعتماداً على العكر. استخدمت للكشف عن البروتين المنشط (C) بواسطة المحلل الكيميائي السريري الروتيني (synchrom Lx 20) (Beckman Coulter). الحد الأدنى للتركيز القابل للكشف (5.0) ملغرام/لتر ومدى التراكيز القابلة للكشف (5.0-488) ملغرام/لتر (Rothkrantz-Kos et al., 2002).

6. The IM_xtm (Abott laboratories):

هو فحص مناعي انزيمي مؤسر للجزيئات الدقيقة Micro particle capture enzyme immunoassay (MEIA). ظهر لأول مرة في بداية الثمانينات (Fiore et al., 1988). تستخدم فيه اثنين من الاضداد وحيدة النسيلة لمستضد CRP للفأر (mouse anti-CRP monoclonal Ab). احدهما غير متحرك على الجزيئات الدقيقة والآخر يرتبط مع انزيم Alkaline phosphatase. الحد الأدنى للتركيز القابل للكشف (0.05-11) ملغرام/لتر. استخدمت هذه الطريقة في تشخيص الاخماج الجرثومية لدى حديثي الولادة وفي تقدير قيم بروتين (C) المنشط لدى الاشخاص الاصحاء ظاهرياً في المجتمع (Wilkins et al., 1998).

7. Solid phase radioimmunoassay for human CRP:

هو فحص مناعي اشعاعي حساس وسريع لقياس بروتين (C) المنشط معتمد على اساس استعمال المستضد المصلي (antiserum) الذي يزدوج مع جزيئات السليولوز الممغنطة

(magnetizable cellulose particle) التي تسهل فصل الطور ويستخدم هذا الفحص طريقتين احدهما طريقة الضد المفرد (single Ab) يستخدم anti CRP كطور صلب وبحساسية قدرها (50) مايكروغرام / لتر ومعامل تغير (10%) . والطريقة الثانية ، الضد المزدوج (double Ab) مستخدما rabbit anti serum كطور سائل لـ sheep anti rabet IgG معطيا حساسية قدرها (3) مايكروغرام/لتر (Shine et al., 1981). بعد تطوير هذه الطريقة واستخدام Polyclonal-monoclonal solid phase Immunoradiometric Assay (IRMA) . اصبح مدى التراكيز القابلة للكشف بهذه الطريقة (10.0-0.05) ملغرام/لتر. من استخدامات هذه الطريقة التنبؤ بامراض القلب الوعائية (CAD) والتنبؤ بحصول الورم العصيدي (Atheroma) في بعض مجاميع الخطورة في المجتمع (Hitchison et al., 2000).

8. Particle-counting immunoassay (PACIA):

هو فحص مناعي عالي الحساسية للكشف عن بروتين (C) المنشط يعتمد على تلزن جزيئات Latex المتحسسة للضد. والحساب اللاحق لهذه الجزيئات المتلزنة بواسطة اشعة ليزر Laser beam في المحلل الالي (PAMIA-20). التركيز الادنى القابل للكشف بهذه الطريقة هو (0.001) ملغرام/لتر. استخدمت هذه الطريقة للتنبؤ بالخمج الولادي المبكر (Ishibashi et al., 2002).

9. Enzyme-Linked immunosorbent assay (ELISA):

هو فحص مناعي منافس لوني للكشف عن الحد الادنى لبروتين (C) المنشط. يعتمد فحص البروتين النقي (Purified protein) والأضداد متعددة النسيلة المضادة للبروتين (Polyclonal anti-CRP antibodies). معامل التغاير يقارب (5%) (Crub et al., 2003). الحد الادنى للتركيز القابل للكشف (0.007) ملغرام/لتر (Macy et al., 1997). من فوائدها استخدامها في العديد من الدراسات الوبائية الخاصة بالتنبؤ بالاحداث الاكليلية لدى الاشخاص الاصحاء (Roberts et al., 2001). كذلك في تشخيص السكتة الناشئة عن الانصمام الخثاري (Crub et al., 2003).

10. Kinetic-One-step immunoassay:

هو فحص مناعي حركي غير منافس للكشف عن الحد الأدنى والاعلى لتركيز بروتين (C) المنشط. طور هذا الفحص لاستعمال جزيئات دقيقة مسامية كطور صلب. وهذه الجزيئات غطيت بصورة تساهمية مع الضد المؤسر وحيد النسيلة (monoclonal capture Ab.) يعلم الضد الكاشف احادي النسيلة بالاوربيوم. يحضن لمدة دقيقتين ويوقف التفاعل بواسطة الغسل لقياس اشارة التآلق Fluorescence signal للجزيئات المفردة. الحد الأدنى للتركيز القابل للكشف (0.00016). وللحصول على مدى قياس (0.064-1200) ملغرام/لتر تخفف العينة الواحدة (400) ضعف (Tarkkinen et al., 2002).

2.2. التهاب الكبد الفيروسي نمط (B): - Viral Hepatitis

B-

2.2.1. نبذة تاريخية:

يعد التهاب الكبد الفيروسي نمط (B) واحداً من الاخماج الواسعة الانتشار بين البشر والسبب الاعم لمرض الكبد حول العالم (Thomas and Waters, 1998). لقد كانت بداية اكتشاف فيروس التهاب الكبد نمط (B) (HBV) Virus -B- Hepatitis عام 1963 على يد العالم Baruch Blumberg (Blumberg et al., 1982). حيث اكتشف ان عينة المصل من مواطن استرالي اصلي تحوي مستضد (Antigen) يتفاعل بصورة نوعية مع الضد (Antibody) في مصل مريض امريكي يعاني الناعور Hemophilia دعي هذا المستضد (Australia-Ag). وهو قليل نسبيا عند سكان امريكا الشمالية واوربا الغربية. لكنه ينتشر في بعض قطاعات السكان في افريقيا واسيا وبين المرضى الذين يعانون ابيضاض الدم، الجذام *Lepromatous leprosy* ومتلازمة داون (Down syndrome). التصاحب الاضافي بين المستضد الاسترالي (Au-Ag) (حديثا يدعى بالمستضد السطحي HBsAg) مع ما عرف بالتهاب الكبد المصلي Serum hepatitis لم يكن مميزاً بالكامل حتى عام 1967 (Blumberg et al., 1967).

اما عام 1968 اثبت كل من Okochi، Prince و Murakami ان المستضد الاسترالي (Au-Ag) موجود بصورة نوعية في مصل مرضى التهاب الكبد نمط (B). وفي

عام 1970 اكتشف Dane جزيئة الفيروس الكاملة لالتهاب الكبد نمط (B) HBV-viron المتضمنة المستضد اللبي (HBc Ag) فضلا عن المستضد السطحي (HBs Ag). اما المستضد الثالث فقد وصف لاحقا من قبل العالمين Magnius and Espmark دعي مستضد الغلاف (HBe Ag) (Hollinger, 1996). صنع لقاح الالتهاب الكبد نمط (B) (HBV-vaccine) لأول مرة عام 1975 المشتق من البلازما. اما في عام 1981 حضر لقاح جديد باستخدام الهندسة الوراثية (Ganem et al., 2001)، وهذا اللقاح فضلا عن كونه اميناً جداً فقد اثبت فعالية عالية للحماية من الاصابة بهذا المرض (Hayes et al., 2002).

2.2. تعريف المرض:

هو خمج جهازي يصيب الكبد نتيجة الاصابة بفيروس التهاب الكبد نمط (B) الذي يعد احد الفيروسات الستة المسببة لالتهاب الكبد (A,B,C,D,E,G) (Dienstage and Isselbacher, 1998). يعد الالتهاب الكبد الفيروسي نمط (B) مشكلة صحية عالمية، حيث يوجد (2) بليون مصاب بالفايروس في العالم وهناك اكثر من (350) مليون شخص حاملون للفيروس بشكل مزمن (chronic carrier) (Manso et al., 2003). وسنويا يموت حوالي مليون شخص بسبب التشمع (cirrhosis) وسرطان الكبد (hepatocellular carcinoma) الناشئ عن الحالة المزمنة. وعلى الرغم من ذلك فالمرض قابل للسيطرة (preventable) من خلال التمتع باللقاحات الامنة والفعالة والتي أصبحت متيسرة منذ عام 1982. وعلى الرغم من ان اللقاح لا يشفي المرض المزمن ولكنه فعال بنسبة (95%) في منع الاخماج المزمنة من التطور وبذلك يعد اللقاح الاول ضد احدى السرطانات الخطرة التي تصيب البشر (Lok et al., 2001).

3.2.2. عائلة الفايروس وصفاته:

يعود فيروس التهاب الكبد نمط (B) الى عائلة *Hepadnaviridae* التي تضم مجموعة فيروسات (DNA-virus) تصيب انواع من الحيوانات منها القنادس wood chuck و السناجب الارضية و الشجرية squirrel و البط البكيني pekin duck وتشارك

هذه الفيروسات في عدد من المظاهر المهمة منها تركيب الفيرونيات والجزيئات المرافقة ، الحجم، الطبيعة، التنظيم والتضاعف لمورثة DNA وفي قابليتها لحدوث المرض الحاد والمزمن في مضائنها الطبيعية وعلاقتها بحدوث سرطان الكبد (Peutherer, 1997). يظهر المصل الممخج ثلاثة انماط مختلفة من الجزيئات هي الكروية spheres والانبوبية tubules وجزيئة Dane وتحمل جميع هذه الجزيئات المستضد السطحي لالتهاب الكبد (Dienstag and Isselbacher, 1998). حيث تتركب الجزيئة الكروية والانبوبية من الدهن والبروتين و الكربوهيدرات وهي غير مرضية (non -infectious) يبلغ قطر كل منها (22) نانوميتر ويحتوي المصل الممخج اكثر من (10^{13}) جزيئة / ملتر من كلا النوعين (Hollinger and Dienstag, 1999).

اما جزيئة Dane فهي جزيئة الفيروس الكاملة، كروية الشكل يبلغ قطرها (42) نانومتر . تتكون من جزئين رئيسيين ،هما غلاف خارجي مزدوج يتألف من البروتينات السكرية (glycosylated protien) والدهون النوعية فضلا عن المستضد السطحي (HBs Ag). ولب داخلي inner core ويدعى ايضا nucleocapsid تحوي المستضد اللبي (HBc Ag) ويقع في داخله المستضد الثالث (HBe Ag) وجزيئة DNA صغيرة حلقة مزدوجة الشريط تقريبا مؤلفة من 3,200 زوج قاعدي (Dienstag and Isselbacher, 1998) ويكون عدد الفيرونيات اقل بكثير من النوعين السابقين يصل الى (10^{10}) جزيئة /ملتر لدى المرضى الذين يعانون الخمج (Ganem et al., 2001).

Pathogenesis

4.2.2. الامراضية:

يدخل الفيروس الى الجسم خلال الجلد (percutaneous) وعن طريق الام المصابة بالفايروس الى الجنين او الوليد (perinatal) او عن طريق الاتصال الجنسي او الانتشار عبر الاغشية المخاطية (Hollinger, 1996; Hollinger and Dienstag., 1999) وينتقل عبر الدم الى الكبد، ثم الى داخل الخلايا الكبدية حيث يتم تناسخ الفيروس (replication). (Peutherer, 1997). وبعد اسبوعين من الخمج يظهر المستضد اللبي لفيروس التهاب الكبد نمط (B) (HBc Ag) في نوى الخلايا الكبدية فضلا عن دنا الفيروس (virus-DNA) ويصبح المستضد السطحي للفيروس HBs Ag مكتشفا في الدم خلال (2-8) اسابيع من بداية الاصابة بالفيروس او قبل ظهور الدليل الكيميائي لتلف الكبد (liver damage

(Harrison et al., 2000) . اما مستضد غلاف الفيروس (HBe Ag) ، فيظهر متزامنا مع ظهور المستضد السطحي HBs Ag في الدم او بعده بفترة قصيرة بالاضافة الى دنا الفيروس (Dienstag and Isselbacher, 2001)، معلنا عن بداية الطور الحاد acute hepatitis . وفي هذه المرحلة ، تظهر علامات الالتهاب في المثلاثات البوابية (portal triads) وخاصة قرب الوريد الكبدي النهائي (terminal hepatic vein) . والارتشاح للخلايا وحيدة النواة mononuclear cell infiltration (Peutherer., 1997) . هذا وقد يترافق بتكاثر بعض القنيات الصفراوية . اما الركود الصفراوي (cholestasis) فيكون اقل حدوثا في هذا النمط من الالتهاب الفيروسي . في حين تتكاثر كل من الخلايا البطانية وخلايا كبر (kupffer cell) (Kawai and Feinston, 2000) .

وتظهر خلايا برنكيما الكبد النخر (necrosis) الذي يتباين في الشكل والكثافة . والمناطق المنخورة عادة تكون متعددة البؤر (multifocal) والنخر غالبا ما يكون منطقي (zonal) مع التغيرات الاشد في مناطق مركز الفصيص (centrilubular areas) . وتظهر الخلايا الكبدية المفردة الانتفاخ (ballooning) وتكون الاجسام اليفة الحمض acidophilic body عندما تموت . اما الخلايا الميتة فتقذف داخل الفراغ حول الجيباني (perisinusoidal) (Harrison et al., 2000) .

في الحاملين الاصحاء Anti HBeAb positive تكون الاستجابة الالتهابية خفيفة (mild) . والخلايا الكبدية المتأثرة تكون شاحبة الصبغة pale-staining وزجاجية (glassy) (Peutherer, 1997) .

وفي حالة الالتهاب المزمن chronic hepatitis ، يمتد التلف damage بعيدا عن السبل البوابية portal tracts معطيا مظهر النخر التدريجي (piecemeal necrosis) . ويلاحظ بعض الالتهاب الفصيبي ، ومع تقدم المرض يظهر التليف fibrosis لينتهي اخيرا بالتشمع (Cirrhosis) (Ganem et al., 2001) .

Immune Response

2. 2. 5. الاستجابة المناعية:

تتضمن الاسـتجابة المناعية لالتهاب الكبد الحاد (acute hepatitis) الحل المناعي (lysis) للخلايا المخمجة وازالة الجزيئات الفيروسية

المعدية (Thomas and Waters , 1998). وخلال المراحل المبكرة من الإصابة وقبل تعبئة الجهاز المناعي بالكامل ، ينتج الانترفيرون (INF) interferon ، الذي يعد خط الدفاع الاول ضد الفايروسات. حيث أقترح ان العديد من الأعراض النذيرية (Prodromal) للخمج الحاد مثل الحمى (fever)، الصداع (headache)، ألم العضلات (myalgia) ، التوعك (malaise) والغثيان (nausea) متسببة عن الانترفيرون. وقد وجد ان الانترفيرون يظهر بصورة متزامنة مع المستضد السطحي (HBs Ag) وقبل ظهور الضد البلي (anti HBcAb) (Hollinger, 1996). بعدها يتبع بزيادة التعبير لمستضدات (HLA-I) Human Leukocyte Antigen Class I على الخلايا الكبدية . وارتفاع انزيمات نقل الامين transaminase (Nagafuchi et al., 1986) وزيادة انتاج بروتين (C) المنشط في الخلايا الكبدية حول البوابية periportal وحول الفصيص perilubular. بعدها في الخلايا الكبدية وسط الفصيص midlubular ومركز الفصيص centrilubular (Macintyre et al., 1982).

وللتخلص من الفيروس والقضاء على الخلايا الكبدية المصابة ، يعتمد تميز الخلايا للمفاوية التائية السامة cytotoxic T cells بالتعاون مع مستضدات (HLA-class I) للمحددات الفيروسية وبالاخص بروتينات nucleocapsid (HBc Ag + HBe Ag) على سطح الخلية الكبدية ثم تحليلها (Harrison et al., 2000). ان للانترفيرون تأثيرات ضد فيروسية antiviral في الخلايا المجاورة وبذلك يحميها من الخمج الفيروسي . وايضا له اثر في تثبيط تضاعف الفيروس وفي تنشيط فعالية الخلايا القاتلة الطبيعية (NKC) Natural Killer Cell وزيادة تعبير مستضدات التوافق النسيجي الصنف الاول (MHC-class I) (Roitt et al., 1998). وتعد الاستجابة المناعية الخلطية مهمة في اختزال حمل الفيروس (viral load) من خلال تكوين المعقدات المناعية (المستضد-الضد) التي تعمل على تنشيط المسلك التقليدي والبديل للمتمم (Ganem et al., 2001).

وان لبروتين (C) المنشط دورا في حالة الخمج من خلال امتلاكه لخواص الطهاية (Pepys, 1998). وزيادة عملية البلعمة وتحليل الخلية (Burtis and Ashwood, 1999). وتحت بعض الظروف قد يسلك البروتين سلوك مشابه لسلوك الضد بتكوينه معقدات مع

المستضد وذلك من خلال ارتباطه بالربائط المناسبة (Appropriate ligand) (Volanaks, 1982). وايضا له دور في تنشيط الخلايا البيضاء (Pasceri et al., 2001). مما يوحي بان له علاقة بعملية ارتشاح الخلايا الاحادية خلال المناطق البوابية (Harrison et al., 2000). اما في حالة تلف النسيج tissue damage، فلبروتين (C) المنشط القابلية على الارتباط بتراكيب غشاء الخلية المنخورة (necrotic cell membrane structure). منشط المسلك التقليدي للمتمم وبالتالي حث الحل الخلوي cytolysis . وازالة حطام الخلايا المنخورة، لهذا قد تكون لهذه الالية اهمية في تجديد النسيج و اصلاحه (Kaplan, 1982; Burtis and Ashwood, 1999; Pepys and Hirschfield, 2003).

في حالة الالتهاب المزمن للكبد (chronic hepatitis) يحدث قتل الخلايا الكبدية التي تعبر عن المستضدات nucleocapsid على سطحها بواسطة الخلايا اللمفاوية التائية السمية الدائرة (circulating cytotoxic T cell). ولو ان الاستجابة قد تعوق بالاضداد (anti HBe) و (anti HBc) الدائرة (Mondelli et al., 1982; Pignatelli et al., 1987). ويحدث موت الخلايا الكبدية ايضا بوجود الضد النوعي

للغلاف envelop specific-Ab وبصورة محتملة بواسطة Antibody-Dependent Cell Mediated Cytotoxicity (ADCC) (Ganem et al., 2001).