

پاسخ آنتی بادی به استرپتوکیناز

دکتر افشین افشاری * دکتر الیزابت هلم ** دکتر استوارت هیلیس **

Antibody response to streptokinase

A. Afshari E.R. Holme S. Hillis

Abstract

Background: Streptokinase is administered during acute myocardial infarction (AMI). It is prepared from beta haemolytic streptococci and in some cases pre-existing antibodies may compromise the use of streptokinase.

Objective: To study levels of anti-streptokinase antibodies in AMI patients during thrombolytic therapy.

Methods: Specific IgG, IgA, IgM and anti-streptokinase antibodies (ELISA) were studied in 246 cases. Pre- and post-therapy levels of these antibodies were examined in 10 cases given streptokinase for AMI.

Findings: Neutralising anti-streptokinase were detectable in 61.7% of the controls which 0.43% of them had levels above the normal range. Neutralising anti-streptokinase antibodies showed a positive correlation with the level of IgG anti-streptokinase antibodies ($r = +0.55$, $P < 0.001$). By streptokinase administration, antibody levels dropped in day 1; however, they rose to pre-therapy values afterwards. One patient with elevated antibodies to streptokinase had an adverse immunological reaction to streptokinase (serum sickness).

Conclusion: Elevated pre-therapy levels of antibodies, the isotype IgG and possibly IgA, appear to be contradictory for further treatment with streptokinase.

Key words: Streptokinase, Acute Myocardial Infarction (AMI)

چکیده:

زمینه: استرپتوکیناز در حمله حاد میوکارد تجویز می‌گردد و از استرپتوکوک‌های بتا همولیتیک تهیه می‌شود. وجود این آنتی بادی‌ها در بعضی از افراد ممکن است استفاده از استرپتوکیناز را تحت تاثیر قرار دهد.

هدف: این مطالعه به منظور تعیین دامنه آنتی بادی‌های ضد استرپتوکیناز در یک جمعیت سالم و بررسی تغییرات این آنتی بادی‌ها در بیماران دچار حمله حاد میوکارد که تحت درمان با استرپتوکیناز قرار می‌گیرند، انجام شد.

مواد و روش‌ها: IgG, IgM, IgA و آنتی بادی‌های خنثی کننده ضد استرپتوکیناز در ۲۴۶ فرد سالم اندازه‌گیری شد. مقادیر این آنتی بادی‌ها در ۱۰ بیمار دچار حمله حاد میوکارد که تحت درمان استرپتوکیناز قرار گرفتند قبل و بعد از درمان بررسی شد.

یافته‌ها: آنتی بادی‌های خنثی کننده ضد استرپتوکیناز در ۶۱/۷٪ گروه سالم وجود داشتند که تنها ۰/۴۳٪ آنها مفادیر بالاتر از حد طبیعی داشتند. این آنتی بادی‌ها با سطح IgG ضد استرپتوکیناز همبستگی مثبتی نشان دادند ($P < 0/001$) و $r = +0/55$ در طول درمان با استرپتوکیناز میزان آنتی بادی‌های ضد آن در روز اول درمان به طور محسوسی کاهش و بعد از آن به تدریج افزایش یافت و از مقادیر قبل از درمان هم بیشتر شد. یک بیمار با سطح آنتی بادی‌های ضد استرپتوکیناز بالاتر از حد طبیعی به تجویز استرپتوکیناز واکنش ایمنولوژیک نشان داد.

نتیجه‌گیری: بالا بودن سطح آنتی بادی‌های ضد استرپتوکیناز، به خصوص IgG و احتمالاً IgA قبل از درمان با استرپتوکیناز، ممانعتی برای تجویز آن است.

کلید واژه‌ها: استرپتوکیناز - حمله حاد میوکارد

□ مقدمه :

آلرژیک ناشی از درمان با استرپتوکوکیناز تعیین گردید. ۱۰ بیمار دچار حمله حاد میوکارد با متوسط سنی ۵۷/۶ سال مورد مطالعه قرار گرفتند. تمام آنها درد قفسه سینه با زمانی بین ۳۰ دقیقه تا ۶ ساعت داشتند. بروز حمله حاد میوکارد به وسیله الکتروکاردیوگرافی استاندارد تعیین گردید که در آن بلند شدن قطعه ST بیشتر از ۱ میلی متر در حداقل دو لید اندام یا بیشتر از ۲ میلی متر در حداقل ۲ لید قفسه صدری بود. این بیماران ۱/۵ میلیون واحد استرپتوکوکیناز ظرف یک ساعت به طریق داخل وریدی دریافت نمودند. نمونه‌های خون قبل از تجویز استرپتوکوکیناز و در فواصل زمانی بعد از تجویز برداشته شد. برای تعیین دامنه طبیعی آنتی بادی‌های ضد استرپتوکوکیناز ۲۴۶ فرد سالم با محدوده سنی ۱۴ تا ۷۹ سال که از حدود یک ماه قبل از خون‌گیری سابقه گلو درد چرکی نداشتند مورد مطالعه قرار گرفتند.

سرم نمونه‌ها با استفاده از یک کیت تشخیصی (ASK-Kit, Bio-Merieux) طبق دستور سازنده برای آنتی بادی‌های ضد استرپتوکوکیناز مورد بررسی قرار گرفتند.

ایزوتیپ‌های IgE , IgA , IgM , IgG ضد استرپتوکوکیناز به وسیله الیزا به طور غیر مستقیم اندازه‌گیری شدند. به طور خلاصه پلیت‌های الیزا (Dynatech, Immulon 4) به وسیله محلول استرپتوکوکیناز (۵ میکروگرم در میلی لیتر PBS) پوشانده شد. بعد از شستن وسیع توسط محلول PBS-Tween، پلیت‌ها به مدت یک ساعت با محلول ژلاتین در PBS در درجه حرارت اتاق بلوک شدند. سپس پلیت‌ها

امروزه تجویز استرپتوکوکیناز برای کاهش آسیب بافت قلبی و بهتر نمودن جریان مجدد خون عضله قلب در جریان حمله میوکارد یک روش درمانی شناخته شده است. (۱۳)

استرپتوکوکیناز یک پروتئین خارجی است که از استرپتوکوک‌های بتا همولیتیک تهیه می‌شود و آنتی ژنیک است. نشان داده شده است که تجویز آن باعث بروز عوارض ایمنولوژیک می‌شود. (۱۴) بیشتر گزارش‌های منتشر شده نمایانگر افزایش حساسیت نوع سوم هستند. (۱۱، ۱۰، ۱۲) با وجود آن که نقش آنتی بادی‌های ضد استرپتوکوکیناز در این بیماران روشن نیست، (۷) ضروری است در بیماران مبتلا به حمله حاد میوکارد که مقادیر بالای آنتی بادی‌های ضد استرپتوکوکیناز دارند، به خطرات بروز واکنش‌های افزایش حساسیت توجه شود. گذشته از آن حضور آنتی بادی‌های ضد استرپتوکوکیناز ممکن است اثرات درمانی این پروتئین را خنثی نماید. از این رو مطالعه زیر به منظور اندازه‌گیری IgE ، IgM ، IgA ، IgG ضد استرپتوکوکیناز با ایمنونواسی‌های (الیزا) متعدد انجام شد.

□ مواد و روش‌ها :

در سال ۱۳۷۳ سطح این آنتی بادی‌ها در یک جمعیت سالم برای تعیین دامنه طبیعی و نیز در بیماران دچار حمله حاد میوکارد بخش قلب بیمارستان وسترن شهر گلاسکو، قبل و بعد از درمان با استرپتوکوکیناز اندازه‌گیری شد. رابطه میزان این آنتی بادی‌ها با بازده بالینی درمان با استرپتوکوکیناز و نیز بروز عوارض

محدوده اطمینان ۹۵ درصد محاسبه گردید پاسخ IgE ضد استرپتوکوکیناز در هیچکدام از افراد گروه شاهد دیده نشد (جدول شماره ۱).

مقادیر آنتی بادی های خنثی کننده ضد استرپتوکوکیناز در اکثریت گروه شاهد (۶۱/۷ درصد) قابل تجسس بود که فقط ۰/۴۳ درصد این گروه مقادیری بالاتر از حد طبیعی داشتند. عیار آنتی بادی های خنثی کننده همبستگی مثبتی با سطح IgG ضد استرپتوکوکیناز داشتند ($P < 0/001$) و $r = +0/553$.

تجویز استرپتوکوکیناز در ۱۰ بیمار مورد مطالعه منجر به سقوط ناگهانی آنتی بادی های خنثی کننده (۱۵ واحد به ازای هر میلی لیتر) در مدت ۱۵ تا ۳۰ دقیقه گردید. سپس طی دو روز به همان حدود قبل از تجویز استرپتوکوکیناز (۴۰ واحد به ازای هر میلی لیتر) بازگشت نمود. پس از گذشت ۵ روز، سطح آنتی بادی های خنثی کننده شروع به افزایش نموده و در روز هفتم به ۲۷۰ واحد به ازای هر میلی لیتر رسید.

تغییرات IgG از الگویی مشابه با آنتی بادی های خنثی کننده پیروی می کرد. مقدار IgA مختصری سقوط نمود، ولی مقدار IgM پس از تجویز استرپتوکوکیناز دچار تغییرات قابل ذکری نشد.

در ۳ بیمار مقدار آنتی بادی ها پس از تجویز استرپتوکوکیناز به شدت کاهش یافتند. IgG ضد استرپتوکوکیناز قبل از درمان در تمام این بیماران در سطح بالایی (به ترتیب ۲۴ و ۴۶ و ۴۷ واحد در میلی لیتر) بود. که دو تن از آنها دارای مقادیری بالاتر از حد طبیعی بودند. دو تن از بیماران نیز IgA بالایی داشتند و در یکی از بیماران آنتی بادی های خنثی کننده

شسته و نمونه های سرم به مدت دو ساعت در روی آنها قرار داده شد. بعد از شستن مجدد، آنتی بادی های ضد IgE, IgM, IgA, IgG متصل شده به HRP (Dakopatts) اضافه و به مدت یک ساعت در درجه حرارت اتاق نگهداری شد. رنگ حاصله توسط OPD ($O - Phenylendiamine, Sigma$) برقرار گردید و واکنش توسط اسیدسولفوریک ۴ نرمال متوقف شد. منحنی های استاندارد هر پلیت جداگانه تعیین گردیدند تا غلظت نمونه های نامشخص اندازه گیری شود. به منظور تهیه منحنی های استاندارد برای اندازه گیری IgG, IgM, IgA از نمونه های سرم مثبت استفاده گردید و غلظت های اولیه به ترتیب ۵۰ واحد و ۱۰۰ واحد و ۱۰۰۰ واحد به ازای هر میلی لیتر در نظر گرفته شد. غلظت های آنتی بادی در نمونه های نامشخص با استفاده از منحنی های استاندارد محاسبه گردید و ارزش آنها با واحد در میلی لیتر بیان شد. برای IgE منحنی استاندارد تعیین نگردید و ارزش های به دست آمده بر اساس مثبت و منفی که بر پایه رنگ زمینه بود مشخص شد. بر اساس ارزش های به دست آمده در گروه شاهد و اطمینان ۹۵ درصد، حداکثر میزان طبیعی برای IgG, IgA, IgM و آنتی بادی های خنثی کننده محاسبه شد.

📌 یافته ها :

میزان IgE, IgA, IgM, IgG ضد استرپتوکوکیناز با استفاده از الیزا در ۲۴۶ فرد طبیعی اندازه گیری شد. مقادیر به دست آمده IgG, IgM, IgA به طرف پایین دامنه انحراف داشتند که برای نرمال کردن، داده ها به لگاریتم ۱۰ تبدیل شدند و سپس میانگین و میانه با

جدول ۱:

میانگین، میانه و محدوده آنتی بادی های اختصاصی ضد استرپتوکیناز (واحد به ازای هر میلی لیتر)

آنتی بادی ها	میانگین	میانه	دامنه
IgG	۵/۶۷	۳/۸	۲۷/۹
IgM	۱/۸۹	۰	۱۶
IgA	۳۱/۱	۱۵/۱	۳۳۰
آنتی بادی خنثی کننده	۲۹/۲	۲۰	۱۶۰

آنتی بادی بودند. از دو بیمار گروه سوم تنها یک نفر از سطح آنتی بادی های ضد استرپتوکیناز بالای برخوردار بود و هیچ کدام علائم برقراری جریان مجدد خون در عضله قلب را نشان ندادند.

بحث و نتیجه گیری:

وجود آنتی بادی های ضد استرپتوکیناز استفاده از این عامل نسبتاً ارزان ضد لخته را زیر سؤال می برد. زیرا این آنتی بادی ها باعث خنثی نمودن اثرات استرپتوکیناز و نیز برانگیختن واکنش های افزایش حساسیت می شوند.

در این بررسی تنها قسمت کوچکی از جامعه مورد مطالعه، دارای سطح بالای آنتی بادی های ضد استرپتوکیناز بودند. مطالعات انجام شده قبلی شیوع متفاوتی از این آنتی بادی ها را نشان می دهند. جیمز در یک مطالعه با استفاده از آزمایش آنتی بادی های خنثی کننده ضد استرپتوکیناز، نشان داد که ۸/۳ درصد از افراد طبیعی دارای مقادیری از این آنتی بادی ها هستند که می توانند ۲۵۰۰۰۰ واحد از استرپتوکیناز را خنثی نمایند.^(۶)

ضد استرپتوکیناز نیز بالا (۱۶۰ واحد در میلی لیتر) بود. بیماران بر اساس پاسخ به درمان با استرپتوکیناز به سه گروه تقسیم شدند: گروه اول (۵ نفر) که در کمتر از ۲ ساعت پس از درمان با استرپتوکیناز علائم جبران مجدد خون در عضله قلب را نشان دادند. گروه دوم (۳ نفر) که با تأخیر و ظرف ۲۴ ساعت علائم بهبودی را نشان دادند و گروه سوم (۲ نفر) که علائم جریان مجدد خون را نشان ندادند.

سطح آنتی بادی های ضد استرپتوکیناز قبل از درمان در تمام بیماران گروه اول در محدوده طبیعی قرار داشت و متوسط مقادیر آنتی بادی ها در این گروه کمتر از دو گروه دیگر بود ($IgG=۸/۲۶$ ، $IgM=۹/۷۶$ ، $IgA=۲۱/۴$ و آنتی بادی خنثی کننده = ۶). یک بیمار از گروه دوم علائم واکنش ناخواسته به تجویز استرپتوکیناز را نشان داد که مقادیر IgG ، IgA قبل از درمان وی بالاتر از حد طبیعی (به ترتیب ۴۷ و ۳۵۰ واحد در میلی لیتر) بود. این بیمار دچار تب و بیهوشی و در روز پنجم به آی.سی.یو منتقل گردید که پس از تشخیص بیماری و درمان با کورتیکواستروئید بهبود یافت. دو بیمار دیگر در گروه دوم دارای میزان طبیعی

هرچند بالا بودن IgG و احتمالاً IgA از مواردی است که می باید برای جلوگیری از درمان با استرپتوکیناز در نظر گرفته شود و مهم تر این که بالا بودن سطح این آنتی بادی ها در بروز واکنش های ایمنی ناشی از تجویز استرپتوکیناز، نقش اساسی دارد.

مراجع

1. Anderson JL, Sorensen SG, Monreno FL et al. Multicenter Patency trial of intravenous antistreplase compared with streptokinase in acute myocardial infarction. *Circulation* 1991; 83:126-40
2. Bindels A J G H, See T L, Peters W G. Cutaneous Leukolytotoxic vasculitis in relation to streptokinase. *Neth J Med* 1992; 129-33
3. Chouhan L K, Hajar H A, George T et al. Clinical and angiographic features of patients from the Indian subcontinent with streptokinase for acute myocardial infarction: experience in 1992; 43: Qatar. *Angiology* 641-6
4. Edelburg J M, Gonzalez Gronow M, Pizzo S P. Lipoprotein a inhibits streptokinase-mediated activation of human Plasminogen. *Biochem istr* 1989; 28: 2370-4
5. Fears R, Ferres H, Hillis W S et al. Monitoring of streptokinase resistance titre in acute myocardial infarction patients up to 30 month after giving streptokinase or anistreplase and related studies to measure specific

در مطالعه حاضر تماس جامعه با استرپتوکوک ۶۱/۷ درصد نشان داده شد. موران و لینچ این مقادیر را به ترتیب ۸۰ و ۷۵ درصد ذکر نموده اند. (۷ و ۹)

مطالعه سطح آنتی بادی های ضد استرپتوکیناز در جریان درمان نشان داد که مقادیر این آنتی بادی ها ظرف ۱۵ تا ۳۰ دقیقه پس از تجویز استرپتوکیناز کاهش می یابد. سقوط سطح آنتی بادی ها پس از تجویز استرپتوکیناز را سایر محققان نیز گزارش داده اند. لینچ نشان داد که مقدار IgG پس از تجویز استرپتوکیناز در روز اول سقوط می کند و سپس افزایش می یابد و تا روز چهارم به مقادیر قبل از درمان می رسد. وی نیز تغییری در IgM ضد استرپتوکیناز مشاهده نکرد. (۷) فیروز نیز متوجه شد که سطح IgG ضد استرپتوکیناز پس از درمان کاهش و بعد از روز چهارم، مقارن با پاسخ ایمنی به استرپتوکیناز تجویز شده، به طور چشمگیری افزایش می یابد. (۵)

در این مطالعه یکی از بیماران که دارای سطح آنتی بادی های ضد استرپتوکیناز در حد طبیعی بود نسبت به تجویز استرپتوکیناز پاسخ مثبت درمانی نداد. این بیمار را می توان جزء ۲۵ درصد از بیمارانی قلمداد نمود که به تجویز استرپتوکیناز پاسخ نمی دهند. علت این عدم پاسخ گویی احتمالاً ناشی از عوامل دیگری مانند افزایش لیوپروتئین - a است که جلوی اثرات استرپتوکیناز را می گیرند. (۴)

با تعیین محدوده طبیعی برای آنتی بادی های اختصاصی ضد استرپتوکیناز این امکان به وجود می آید تا افرادی که دارای مقادیر بالای آنتی بادی هستند شناسایی شوند. به نظر می رسد آنتی بادی ها به طور قطعی بازده درمان را تحت الشعاع قرار نمی دهند،

- antistreptokinase IgG. *Br Heart J* 1992; 68: 167-70
6. James D C O. Anti-streptokinase levels in various hospital patient group. *Postgrad Med J* 1973; 49: 26-9
7. Lynch L, Littler W A, Pentecost B L et al. Immunoglobulin response to streptokinase in acute myocardial infarction. *Br Heart J* 1991; 66: 139-42
8. MC Grath K G , Patterson R. Anaphylactic reactivity to streptokinase. *JAMA* 1984; 252: 1314-7
9. Moran D M , Sandring R, Lavender E A et al. Assessment of anti-streptokinase antibody levels in human sera using a micro radioimmunoassay procedure. *Thromb Haemost* 1984; 52: 281-7
10. Noel J, Rosenbaum L H, Gangadharan V et al. Serum sickness-like illness and leukocytoclastic vasculitis following intracoronary arterial streptokinase. *AM Heart J* 1987; 113: 395-7
11. Sibert W J, Ayres R W, Bulling M T et al. Streptokinase morbidity more common than previously recognised. *Aust NZ J Med* 1992; 22: 129-33
12. Totty W G , Romano T, Benian G M et al. Serum sickness following streptokinase therapy. *AJR* 1981; 138: 143-4
13. White H D, Cross D B, Williams B F et al. Safety and efficacy of repeat thrombolytic treatment after acute myocardial infarction. *Br Heart J* 1990; 64: 177-81