Archiv

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲٤، شماره٤، مهر و آبان ۱۳۹۸(شماره پی در پی ۱۳۵)

مقاله پژوهشی

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:26 +0330 on Monday January 13th 2020

بررسی اثر سوپرآنتی‌ژن C استافیلوکوکوس آرئوس بر تولید پروتئین واکنشگر C در موش صحرایی

محمدرضا عطایی[۱،۲]، غلامحسین علیشیری[۳،۴*]، اردشیر حسام پور محلاتی[۲]، رمضانعلی عطایی[۱،۵]

[۱]مرکز تحقیقات میکروب شناسی کاربردی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج)، تهران، ایران. [۲]گروه بیولوژی، واحد تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، [۳]مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی، انستیتوی شیمیایی و سیستم بیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج)، تهران، ایران، [٤]گروه روماتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج)، تهران، ایران. [۵]گروه میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج)، تهران، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۷/۱۱/۱۳ تاریخ پذیرش: ۲٤/ ۱۳۹۸/۰۱

چکیده

زمینه و هدف: سوپرآنتی‌ژن‌های میکروبی در خون و مایع مفصل بیماران آرتریت روماتوئیدی گزارش شده است. آیا وجود آنها در خون القاگر تولید فاکتورهای تشخیصی از جمله پروتئین واکنشگر C در بیماران می‌باشد. هدف این تحقیق تولید و خالص سازی سوپرآنتی‌ژن C استافیلوکوکوس آرئوس و بررسی اثر آن بر تولید پروتئین واکنشگر C در موش صحرایی است.

روش بررسی: این مطالعه تجربی از آذر ماه ۱۳۹۶ تا شهریور ۱۳۹۷ شمسی در دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج)انجام شد، در این تحقیق۲۰ موش صحرایی از نژاد ویستار به وزن ۲۵۰ الی ۳۰۰ گرم انتخاب و به چهار گروه ۵ تایی تقسیم شدند و در مطالعه قرار گرفتند، ضمن شرکت در آموزش‌های مهار حیوان و نحوه تزریق داخل صفاقی و داخل مفصلی، تزریقات انجام شد. خالص‌سازی سوپرآنتی‌ژن C با اولترافیلتراسیون(Amicon Ultra Centifugal Filter Device) از کشت ۲۴ ساعته باکتری انجام شد. ابر آنتی‌ژن C با آنتی‌بادی اختصاصی و ایمونوبلات تأیید گردید. پروتئین حاصل تعیین غلظت شد. ۵۰ میکروگرم از آن به صورت داخل صفاقی و داخل مفصلی به هر یک از گروه‌های جداگانه موش صحرایی تزریق و در زمان‌های مختلف خون‌گیری و آزمایش CRP انجام شد. داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتیجه تزریق ۵۰ میکروگرم توکسین داخل مفصل و داخل صفاق توانست بعد از ۲۰ روز تولید CRP را به میزان ۰/۷ میلی‌گرم القاء نماید. بعد از ۴۰ روز این مقدار به ۲/۲ و پس از ۵۰ روز به ۴/۵ میلی‌گرم در لیتر افزایش یافت. نتیجه آنالیز واریانس یک‌طرفه، از وجود اختلاف بین گروه‌ها و در فاصله زمانی مختلف با سطح معنی‌داری به ترتیب برای گروه‌ها($P<۰/۰۰۱$) و برای فواصل زمانی تأثیر سوپرآنتی‌ژن($p<۰/۰۷۵$) خبر داد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاکی از آن بود که وجود و بقای سوپرآنتی‌ژن C استافیلوکوکوس آرئوس در بدن موش باعث القای تولید پروتئین واکنشگرC شد. هر چند این یافته مقدمه‌ای برای تحقیقات بیشتر است، احتمالاً بتواند راه‌های جدیدتری برای پاتوفیزیولوژی، پیشگیری و کنترل بیماری‌های التهابی از جمله آرتریت روماتوئید ارایه نماید.

واژه‌های کلیدی: خالص‌سازی، سوپرآنتی‌ژن C، استافیلوکوکوس آرئوس، پروتئین واکنشگر C، آرتریت روماتوئید

***نویسنده مسئول: غلامحسین علی‌شیری**، تهران، گروه روماتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج).
Email: gh.alishiri@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:26 +0330 on Monday January 13th 2020

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:26 +0330 on Monday January 13th 2020

مقدمه

معمولاً پروتئین واکنشگر C یا پروتئین فاز حاد[1] در عفونت‌های میکروبی در خون بیمار ایجاد می‌شوند، این پروتئین‌ها به‌عنوان یک بیومارکر به همراه سایر عوامل، جهت پایش و تشخیص بیماری‌های روماتوئیدی استفاده شده‌اند(۱). در حقیقت سطح خونی CRP با فعالیت بیماری‌های التهابی، از جمله لوپوس اریتماتوز، انواع عفونت‌ها و ایمونوپاتی‌هایی از جمله بیماری آرتریت روماتوئید رابطه نشان داده است(۲). برخی از پژوهشگران اعتقاد دارند، افزایش سطح سدیمانتاسیون اریتروسیت‌ها(ESR) به همراه CRP ممکن است نشانه تخریب بافت مفصل در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید باشد(۳). هر چند، علت تخریب مفصل در بیماران با سطح پایین ESR و CRP توضیح داده نشده ولی، انجام همزمان آزمون‌های تشخیص کلاژن تیپ ا، CRP و RF(فاکتور روماتوئیدی) با سطحی از تخریب بافتی همراه بوده و انتخاب رژیم درمانی مناسب ضرورت یافته است(۴). نظر به این که آرتریت روماتوئید یک بیماری سیستمیک التهابی است، لذا افزایش غلظت واسطه‌های التهابی از قبیل؛ IL-6، IL-1α و نیز TNF- α در خون محیطی بیماران با توجه به میزان فعالیت و پیشرفت بیماری متفاوت گزارش شده است. در حالی که ارتباط ESR و CRP بیش از سایرین بوده است(۵). در یک تحقیق سطح آمیلوئید سرمی[2] به همراه CRP را بررسی نموده و نسبت SAA به CRP را به عنوان یک معیار ارزیابی بیماری معرفی کرده و میزان پیشرفت بیماری با غلظت SAA نشان داده شده است(۶). محققین نشان دادند، این فاکتورها در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید افزایش یافته، در حالی که در افراد سالم غلظت آنها بسیار پایین است.

نتیجه اندازه‌گیری CRP در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید تحت درمان با داروی متروتروکسان، پردنیزولون و تاکرولیموس حاکی از آن بوده که طی ۶ ماه درمان با داروی اخیر میزان آن با کاهش همراه شده است(۷). البته برخی از محققین به‌منظور تعیین درجه بیماری آرتریت روماتوئید با استفاده از معیار ۲۸ فعالیت بیماری به همراه ESR و برخی دیگر، DAS28 به‌همراه CRP را ترجیح داده‌اند، اما نتایج حاصل از متاآنالیز همه آنها به منظور پی‌گیری روند درمان و نیز تعیین درجه بیماری یکسان بوده است(۸). در هر حال، فعالیت بیماری آرتریت روماتوئید و ایجاد ناتوانی بیماران ضرورت اتکا به روش استاندارد اندازه‌گیری میزان فعالیت بیماری با معیارهای DAS28 و ESR یا DAS28 با CRP اجتناب ناپذیر نموده است، هر چند نتایج آنالیزهای گسترده حکایت از کارآیی و اولویت DAS28 و CRP را نشان داده است، با این حال از علل ایجاد آنها ذکری به‌میان نیامده است(۹). اخیراً نشان داده شده است که استناد به معیارهای DAS28 و ESR ممکن است با خطا

1-C-Reactive Protein(CRP)
2-Serum Amyloid A(SAA)
3-Disease Activity Score 28(DAS28)

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:26 +0330 on Monday January 13th 2020

همراه گردد و درنتیجه مدیریت بیماری را با مشکل مواجه نماید(۱۰). این موضوع در بیماران با افزایش طول بیماری و یا حالت‌های مزمن بیماری کمی متفاوت می‌باشد(۱۱). به همین ترتیب، هم‌خوانی بین ضایعات مفاصل در رادیوگرافی و نتایج آزمون‌های DAS28 با CRP، anti-CCP و IgM- RF مطابقت نشان داده شده است(۱۲).

از طرفی، بررسی‌های ژنتیکی حاکی از آن است که هفت هاپلوتیپ مختلف از ژن رمز کننده آنتی‌بادی ضد CRP که حداقل در یک نوکلئوتید اختلاف دارند در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید گزارش شده است(۱۳). هیچ یک از تحقیقات منتشر شده به علل یا فاکتور تحریک تولید CRP در خون بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید اشاره نکرده‌اند و به بیان کلیات اکتفا شده است. لذا، توجه به این که در تحقیقات منتشر شده قبلی در مایع مفصل و خون بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید وجود سوپرآنتی‌ژن‌های کلاسیک استافیلوکوکوسی(۱۸-۱۴)، مایکوپلاسمایی (۲۰ و۱۹) و حتی ویروس EBV(۲۱) گزارش شده است. فرضیه‌ای مبنی بر این که احتمالاً، سوپرآنتی‌ژن‌ها قادر به تحریک تولید CRP در خون حیوان آزمایشگاهی باشند، مدنظر قرار گرفت، لذا هدف این تحقیق، تولید، خالص سازی و بررسی اثر تزریق سوپرآنتی‌ژن C استافیلوکوکوس آرئوس بر تولید CRP در موش صحرایی آزمایشگاهی بود.

روش بررسی

این یک مطالعه تجربی می‌باشد که طی ۹ ماه از آذر ماه ۱۳۹۶ تا شهریور ۱۳۹۷ شمسی در دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج)انجام شده است.

در این تحقیق ۲۰ سر موش صحرایی از نژاد ویستار به وزن ۲۵۰ الی ۳۰۰ گرم از مرکز حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله خریداری و به چهار گروه ۵ تایی تقسیم شدند، سپس طبق پروتکل جرلاک و همکاران(۲۲) موش‌ها تحت آزمایش قرار گرفتند. لازم به ذکر است، این پروژه در جلسه کمیته اخلاق با کد IR.BMSU.REC.1396.723 دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله(عج) مورد تأیید قرار گرفته است.

در این تحقیق ضمن شرکت در آموزش‌های مهار حیوان و نحوه تزریق داخل صفاقی و داخل مفصلی، تزریقات انجام شد؛ گروه اول: به هر یک از اعضای گروه ۵۰ میکرولیتر محلول حاوی ۱ میلی‌گرم سوپرآنتی ژن C به صورت داخل مفصلی با سرنگ انسولین تزریق گردید، گروه دوم: به هر یک از اعضای گروه ۵۰ میکرولیتر محلول حاوی ۱ میلی‌گرم سوپرآنتی ژن C به صورت داخل صفاقی با سرنگ انسولین تزریق شد، گروه سوم: به هر یک از اعضای گروه ۵۰ میکرولیتر محلول سالین نرمال به صورت داخل صفاقی با سرنگ انسولین تزریق شدند و گروه چهارم: به اعضای گروه به عنوان گروه کنترل ۵۰ میکرولیتر از سوپرآنتی ژن و آنتی‌بادی اختصاصی آن به صورت داخل صفاقی تزریق گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:26 +0330 on Monday January 13th 2020

خون‌گیری در زمان‌های ۰، ۱۰، ۲۰، ٤۰ و ۵۰ روز پس از بیهوش نمودن حیوان، خون‌گیری مستقیماً از قلب انجام و از نظر تولید CRP بررسی شدند.

به دلیل آن که خون‌گیری از طریق ورید دمی‌موش صحرایی با مشکلاتی مواجه بود و به اندازه مورد نیاز آزمایش‌ها خون‌دهی نداشت، لذا حیوانات را با استفاده از محلول کتامین هیدروکلراید(۰/٦ الی ۱ میلی‌لیتر از ویال حاوی ۵۰ میلی‌گرم در ۱۰ میلی‌لیتر) بیهوش و با رعایت شرایط آسپتیک مستقیماً از قلب خون‌گیری انجام شد. به این ترتیب در زمان صفر از هر یک از اعضای گروه خون‌گیری و آزمایش انجام شد. به همین ترتیب،در روزهای ۱۰، ۲۰، ٤۰، و ۵۰ بعداز تزریق به طور جداگانه از هر یک از حیوانات، نمونه‌خون گرفته شد و به حیوان باقی مانده تزریق بوستر انجام گردید. به این ترتیب در روز دهم از حیوانی خون‌گیری انجام شد که تنها یک مرحله تزریق داشت. در روز بیستم از حیواناتی خون‌گیری شد که اولین بوستر را دریافت کرده بودند. در روز چهلم از حیواناتی خون‌گیری شد که دومین بوستر را دریافت کرده بودند و در روز پنجاهم از حیواناتی خون‌گیری شد که سومین بوستر را دریافت کرده بودند.

به منظور اندازه گیری فاکتور CRP در نمونه‌های خون حیوان در این تحقیق از کیت آزمایش کمی با مشخصات زیر استفاده گردید.

CRP- LA: CRP- Latex Immunoturbidimetric assay; as a کهQuantitative test for C- Reactive Protein Detection مورد استفاده در آزمایشگاه تشخیص طبی بیمارستان بقیه الله(عج) بود بهره گرفته شد.

مراحل انجام آزمون CRP در این تحقیق عبارت بود از؛ ۱ـ در هر مورد یک میلی‌لیتر از نمونه خون گرفته شده از قلب حیوان را در داخل لوله کلات قرار داده و بلافاصله به منظور جدا نمودن سرم آن سانتریفیوژ(۳ هزار دور به مدت ۳ دقیقه و دمای ۵ درجه سانتی‌گراد) گردید. ۲ـ در هر ردیف چاهک پلیت الایزا ۹۶ چاهکی؛ ۲۰۰ میکرولیتر از سرم جدا شده را در هر سه چاهک وارد نموده و ۲۰۰ میکرولیت معرف CRP به آن اضافه شد. به همین ترتیب، ۲۰۰ میکرو لیتر از نمونه استاندارد را به همراه ۲۰۰ میکرولیتر از سرم مثبت وارد هر سه چاهک پلیت گردید. ۳ـ بلافاصله پس از مخلوط کردن(با شیکر الایزا ریدر) میزان جذب یا کدورت با دستگاه الایزا در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه گیری و A1 نام گذاری شد. پلیت به مدت یک دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری و مجدداً میزان جذب در طول موج فوق اندازه‌گیری و A2 نام گذاری گردید. ۴ـ کنترل کیفی، به همین ترتیب مقادیر حاصل از اندازه گیری چاهک‌های حاوی نمونه استاندارد که غلظت CRP آن مشخص بوده اندازه‌گیری و به As1 و As2 نام گذاری گردید. ۵ـ روش محاسبه نتایج، نتایج میانگین OD حاصل بر اساس فرمول زیر محاسبه گردید.

غلظت CRP نمونه برحسب میلی‌گرم بر لیتر= غلظت نمونه کنترل یا استاندارد× $\frac{(A2-A1)}{(As2-As1)}$

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:26 +0330 on Monday January 13th 2020

محیط کشت و مواد مورد نیاز در این تحقیق از مرک آلمان، فیلترهای میلی‌پور ۰/۴۵ میکرومتری از شرکت سارتریوس، سیستم اولترافیلتراسیون گرادیانی ۱۰، ۳۰، ۵۰ و ۱۰۰ کلیودالتون[1] از شرکت میلی‌پور خریداری گردید.

آنتی‌بادی پلی‌کلونال منواسپسیفیک اختصاصی انتروتوکسین تیپ C استافیلوکوکوس آرئوس[2] از Abcam خریداری شد.

سویه بومی استاندارد شده استافیلوکوکوس آرئوس تولید کننده انتروتوکسین C (سوپرآنتی ژن C) استفاده گردید(۲۳). در شرایط آسپتیک آمپول لیوفیلیزه سویه فوق باز و به محیط BHI-broth استریل تلقیح و پس از ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به عنوان پری‌کالچر به یک لیتر محیط فوق تلقیح(به نسبت ۰/۵ درصد) و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری شد. پس از آن، کشت فوق را در داخل دکانتور ریخته و ۴۸ ساعت در دمای آزمایشگاه و پس از آن به مدت ۵ روز در یخچال ۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در این حالت کلیه محتویات درون دکانتور ته نشین گردید. با باز نمودن شیر خروجی محتویات ته نشست شده جمع‌آوری و با اضافه نمودن KOH ۱۰ درصد pH آن به ۷±۱ رسانده شد. پس از آن به منظور جداسازی سلول‌های باکتری، در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد و ۵ هزار دور به‌مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. مایع رویی خارج و با فیلتر باکتریولوژیک(۰/۴۵ میکرومتری) استریل گردید. محلول استریل شده با سیستم اولترافیلتر به طور متوالی سانتریفیوژ(۶ هزار دور در ۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه) گردید. به این ترتیب که خروجی فیلتر ۱۰۰ با فیلتر ۵۰ و خروجی آن با فیلتر ۳۰ و خروجی آن با فیلتر ۱۰ کیلودالتون سانتریفیوژ شد. این عمل ۱۰ بار تکرار گردید و هربار ۳ میلی‌لیتر عصاره رویی فیلتر ۱۰ کیلودالتونی جمع‌آوری و جهت اقدامات بعدی در دمای یخچال نگهداری شد.

به منظور تعیین غلظت پروتئین استخراج شده در مراحل مختلف تولید و جدا سازی، از دستگاه نانودراپ[3] در طول موج ۲۸۰ نانومتر به همراه محلول پروتئین استاندارد استفاده گردید. در خلال مراحل مختلف غلظت پروتئین اندازه‌گیری شد. در تمام موارد از عصاره استریل شده محیط کشت برین‌هارت اینفیوژن براث به عنوان بلانک استفاده گردید.

به منظور بررسی توکسین جداسازی شده از محلول استخراج شده، ابتدا SDS ـ الکتروفورز با ژل ۱۵ درصد و سپس ایمونوبلات به انجام شد.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون آنالیز واریانس داده‌های حاصل تجزیه و تحلیل شدند.

1-Amicon Ultra Centifugal Filter Device; 10, 30, 50 and 100 KDa
2-PAb S. aureus Enterotoxin C 500 Ug 1mg/ml, Ab 15897, Abcam
3-Thermo Scientific NanoDrop 2000 Spectophotometer USA

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:26 +0330 on Monday January 13th 2020

یافته‌ها

نتیجه کشت و فعال سازی سویه استافیلوکوکوس آرئوس تولید کننده سوپرآنتی‌ژن C (انتروتوکسین تیپ C) با رشد و ایجاد کدورت همراه بود. نتیجه کدورت سنجی از محیط کشت با اسپکتروفوتومتر نوری و در طول موج ٥٦٠ نانومتر ٠/٥٣ حاصل گردید. از این کشت ٢٤ ساعته به عنوان پری‌کالچر استفاده شد.

نتایج تلقیح پری‌کالچر به محیط برین‌هارت اینفیوژن براث غنی شده به منظور تولید انبوه با کدورت همراه و نشانه رشد باکتری بود. نگهداری کشت ٢٤ ساعته در دکانتوردر دمای آزمایشگاه و پس از آن ٥ روز در یخچال ٤ درجه سانتی‌گراد باعث ته نشست محتویات گردید.

نتیجه سانتریفیوژ محلول در دمای ٥ درجه سانتی‌گراد و ٥ هزار دور به مدت ٥ دقیقه باعث حذف و ته نشست سلول‌های باکتری گردید.

نتایج اولترافیلتراسیون متوالی نشان داد، بیشترین مقدار پروتئین با خاصیت سوپرآنتی‌ژنی محلول خارج شده از اولترافیلتر ٣٠ کیلودالتونی بوده است.

نتایج استخراج آنتی‌ژن از یک لیتر محیط کشت ٣ میلی‌لیتر حاوی حدود ٧ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود.

جزییات نتایج اندازه‌گیری غلظت پروتئین (با استفاده از نانودراپ) حاصل از اولترافیلتراسیون متوالی مایع رویی حاصل از سانتریفیوژ(١٠ دقیقه با ٥٠٠٠ دور و ٥ درجه سانتی‌گراد) در جدول ١ ارایه شده است.

نتایج حاصل از سدیم دودسیل سولفات الکتروفورز فراکشن‌های متوالی (Sequential SDS- PAGE)، روند مطلوب جداسازی سوپرآنتی‌ژن C *استافیلوکوکوس آرئوس* را نشان داد که درآزمایش ایمونوبلات مورد تأیید قرار گرفت (شکل ١).

نتیجه تهیه غلظت کاری سوپرآنتی‌ژن C استافیلوکوکوس آرئوس، با توجه به این که حاصل یک لیتر محیط کشت حدود ٣ میلی‌لیتر محلول توکسین با غلظت ٧ میلی‌گرم(یعنی مجموعاً ٢١میلی‌گرم در ٣ میلی‌لیتر) در میلی‌لیتر حاصل گردید، به این ترتیب که حجم آن را با استفاده از بافر فسفات سدیم ٠/٠٥ مولار به ٢١ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس از محلول ١ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به هر یک از موش‌های صحرایی مورد نظر همانند تحقیق جرلاک وهمکاران با کمی‌تغییرات به صورت داخل صفاق یا داخل مفصل ٥٠ میکرولیتر تزریق شد. در حقیقت، با مخلوط کردن دو جزء نهایی(محلول حاصل از اولترافیلتراسیون ٣٠ و محلول بالای اولترافیلتر ١٠ کیلودالتونی) ٣ میلی‌لیتر عصاره با غلظتی حدود ٧ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از یک لیتر کشت حاصل گردید. که از آن غلظت کاری یک میلی‌گرم در میلی‌لیتر تهیه گردید.

نتایج حاصل از نمونه‌گیری موش‌های صحرایی و نتیجه آزمایش سرولوژیک CRP در جریان تحقیق بررسی و آنالیز گردید. نتایج حاصل از آنالیز

www.SID.ir

Archive of SID

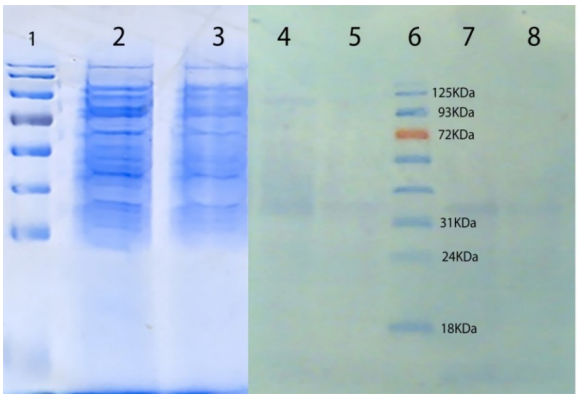
Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:26 +0330 on Monday January 13th 2020

واریانس برای نتایج آزمون CRP در نمونه‌های مختلف بررسی شده حاکی از آن بود که، وجود آنتی‌بادی ضدCRP در خون موش‌هایی که سوپرآنتی‌ژن C در پریتوان یا در مفصل پای راست دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه کنترل و نیز گروه سالین معنی‌دار بود. سطح معنی‌داری بین گروه‌ها برابر p=۰/۰۰۱ و برای فواصل زمانی تأثیر سوپرآنتی‌ژن برابر p<۰/۰۷۵ بود.

روند تأثیر آنتی‌ژن بر تولید CRP در گروه‌های مختلف در شکل ۲ نشان داده شده است. در این شکل رنگ قرمز مربوط به گروه کنترل(گروه سالین و نیز گروه کنترل منفی) می‌باشد. رنگ آبی روند تولید CRP در خون حیوانات دریافت کنند داخل مفصلی سوپرآنتی‌ژن C و رنگ سبز نشان دهنده تغییرات غلظت CRP ناشی از تزریق داخل صفاقی سوپرآنتی‌ژن C می‌باشد. در این شکل محور افقی نشان دهنده ۵ مرحله نمونه‌گیری در فاصله زمانی؛ ۱ برای زمان صفر: ۲ برای ۱۰ روزه: ۳ برای ۲۰ روزه: ٤ برای نمونه‌گیری روز ٤۰ و ۵ برای نمونه‌گیری روز ۵۰ بعد از تزریق و محور عمودی نشان دهنده غلظت محاسبه شده CRP بر حسب OD به وسیله دستگاه الایزا ریدر را نشان داده است.

جدول ۱: اندازه‌گیری کمی‌مراحل استخراج سوپرآنتی‌ژن C از عصاره کشت *استافیلوکوکوس آرئوس* سویه استاندارد شده بومی

نمونه‌ها	میزان جذب در ۲۸۰ نانومتر	غلظت بر حسب ملی گرم در میلی‌لیتر	نسبت جذب ۲٦۰ بر ۲۸۰
مایع رویی بخش ته نشین شده کشت ۲٤ ساعته	٦/۹٤	٦/۹٤	۲/۱۳
محلول بالای فیلتر ۱۰۰ کیلودالتون	۲۸/۲۷	۲۸/۲۷	۲
محلول بالای بالای فیلتر ۵۰ کیلودالتون	۱٤/۵	۱٤/۵	۱/۷
محلول بالای بالای فیلتر ۳۰ کیلودالتون	۲۳/۰۵	۲۳/۰۵	۱/۷۸
محلول بالای زیر فیلتر ۳۰ کیلودالتون	۲/۸۷	۲/۸۷	۱/٤٤
محلول بالای بالای فیلتر ۱۰ کیلودالتون	۵/۰۸	۵/۰۸	۱/٦۳

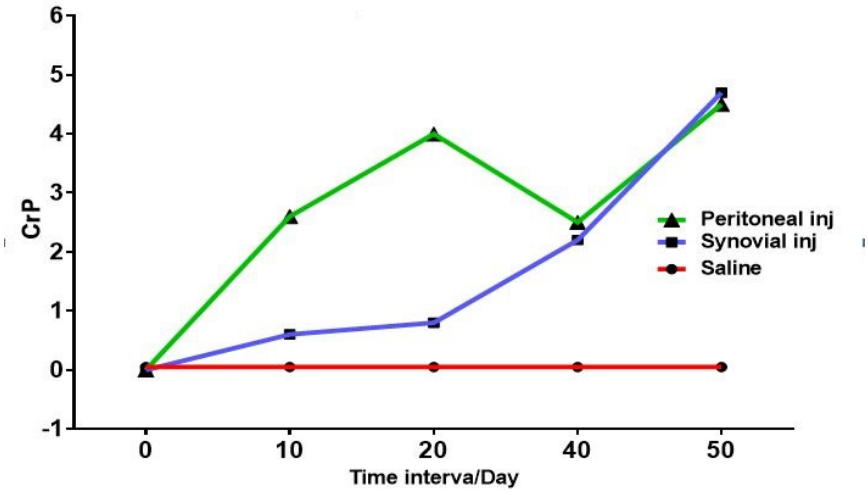


شکل ۱: الکتروفورز عصاره کشت ۲۴ ساعته استافیلوکوکوس آرئوس و روند جدا سازی سوپرآنتی‌ژن C از آن. در این شکل خط ۱ استاندارد وزن مولکولی، خط ۲ محلول ته نشست عصاره استریل شده کشت ۲٤ ساعته، خط ۳ محلول زیر فیلتر ۱۰۰ کیلودالتون، خط ٤ ایمونوبلات محلول زیر فیلتر ۱۰۰ کیلودالتون، خط ۵ ایمونوبلات محلول زیر فیلتر ۳۰ کیلودالتون، خط ٦ استاندارد وزن مولکولی، خط ۷ و ۸ ایمونوبلات محلول روی فیلتر ۱۰ کیلودالتون نشان داده شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:26 +0330 on Monday January 13th 2020



شکل ۲: تغییرات روند تولید CRP در نمونه‌های خون موش‌ها در گروه‌های مختلف طی دوره‌های زمانی نشان داده شده است.

بحث

یکی از نشانگر های مهم ازمایشگاهی در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید وجود پروتئین واکنشگر C (CRP) می‌باشد، ولی معلوم نیست چرا در برخی بیماران با وجود علایم و نشان های بیماری این پروتئین قابل رد یابی و تشخیص نیست. از طرفی چرا در خون برخی از افراد سالم مقادیر متنابهی از این پروتئین یافت می گردد. نظر به این که سوپر آنتی‌ژن‌ها مهم‌ترین عوامل ایجاد التهاب هستند، لذا هدف این تحقیق تولید و خالص‌سازی سوپرآنتی‌ژن C استافلیوکوکوس آرئوس و بررسی اثر آن بر تولید پروتئین واکنشگر C در موش صحرایی بوده است.

از آنجه که بررسی‌های آزمایشگاهی کمک کننده تشخیص و ارزیابی روند بیماری آرتریت روماتوئید می‌باشند(۱). یکی از آزمایش‌های روتین ارزیابی وضعیت بیماری آرتریت روماتوئید اندازه‌گیری ایمونوگلوبولین جی(IgG) ضد پروتئین‌های واکنشگرC(CRP) می‌باشد(۲۵ و۲۴)، ولی معلوم نیست چرا در برخی از بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید مزمن میزانCRP متغییر گزارش شده است. با این حال، در برخی موارد آنتی‌بادی ضد هاپلوتیپ‌های مختلفCRP در بسیاری از بیماری‌های عفونی و غیر عفونی گزارش شده است(۲۶). احتمالاً کیت‌های موجود نتوانند همه هاپلوتیپ‌های مختلف آنتی بادی ضد پروتئین‌های واکنشگر را ردیابی نموده و بنابراین در برخی بیماران به صورت کاذب منفی گزارش می‌گردد.

از طرفی نقش برخی عفونت‌های باکتریایی در ایجاد بیماری خود ایمنی از جمله آرتریت روماتوئید منتشر شده است که می‌تواند باعث ایجاد هرچه بیشتر چالش موجود گردد(۲۸ و۲۷). با این حال، اندازه‌گیری غلظت CRP به عنوان یک مارکر التهابی مورد توجه

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:26 +0330 on Monday January 13th 2020

می‌باشد(۲۹). افزون بر این، در سال‌های اخیر با بررسی سطح CRP ارتباط بیماری التهابی مزمن با رژیم های غذایی نشان داده شده است(۳۰).

نظر به این که سوپرآنتی‌ژن‌های *استافیلوکوکوس آرئوس* به عنوان مهم‌ترین عوامل التهاب‌زا معرفی شده‌اند، در این تحقیق ضمن تولید و استخراج یکی از سوپرآنتی‌ژن‌های شایع استافیلوکوکوس آرئوس (سوپرآنتی‌ژن C) اثر آن بر القای تولیدCRP بررسی گردید.

هر چند مکانیسم پاتوفیزیولوژی بیماری‌های التهابی از جمله آرتریت روماتوئید به طور دقیق مشخص نیست، ولی به نظر می‌رسد اختصاص واژه اتوایمیون یا خود ایمنی به این بیماری ناشی از عدم شناخت مکانیسم‌های اصلی دخیل در ایجاد بیماری باشد. به عنوان مثال مشخص نیست چرا برخی مولکول‌های IgG که علیه آنتی‌ژن‌های خارجی تولید می‌شوند به بافت‌های میزبان آسیب وارد می‌کنند. چرا، برای درمان برخی از بیماری‌های التهابی از IgGهای خالص به عنوان دارو استفاده می‌گردد، ولی در بیماری آرتریت روماتوئید آنتی‌بادی تولید شده خودش به بدن میزبان آسیب وارد می‌کند. شاید علت آن تغییرات ایجاد شده در ساختار آنتی بادی باشد(۲۸).

در تحقیق حاضر تزریق ۵۰ تا ۱۰۰ میکروگرم سوپرآنتی‌ژن C(انتروتوکسین C) *استافیلوکوکوس آرئوس* به صورت داخل مفصل و نیز داخل صفاق باعث تحریک تولید آنتی‌بادی ضد CRP در خون موش گردید که با کیت‌های انسانی قابل سنجش بود. در حالی که تزریق داخل صفاقی مخلوطی از سوپرآنتی‌ژن و آنتی‌بادی اختصاصی باعث تولید CRP در خون حیوانات نشد.

به عبارت دیگر غلظت قابل سنجش آنتی‌بادی ضد پروتئین واکنشگر C در خون موش‌های گروه تست تولید شد، ولی به وسیله موش‌های نر گروه کنترل و نیز گروه دریافت کننده سالین هیچ مقداری قابل اندازه‌گیری نبود. این امر حکایت از اثر این سوپرآنتی‌ژن بر تولید این فاکتور تشخیص آزمایشگاهی آرتریت روماتوئیدی دارد. با آن که گزارشی از تحقیق مشابه در دسترس نیست، ولی برخی از پژوهشگران آزمایش‌هایی را برای اندازه‌گیری سطح CRP به عنوان یک مارکر التهابی گزارش کرده‌اند. برای مثال در سال ۱۳۹۶ شمسی (۲۰۱۷ میلادی)، به منظور بررسی رژیم غذایی سالم اثر سولفات آلومینیم بر تولید فاکتورهای التهابی از جمله CRP گزارش و نشان داده شد که این فاکتور در فاصله ۵ ماه افزایش معنی‌داری در خون دریافت کننده ایجاد می‌نماید(۳۱). در تحقیق حاضر اثر سوپرآنتی‌ژن بررسی و در خلال ۵۰ روز نتایج مشابهی نشان داد.

هم‌چنین، روند تغییرات غلظت پروتئین واکنشگر C در آرتریت روماتوئید و اسپوندیلوارتریت نوجوانان نشان داده است (۳۲).

در حقیقت، تحقیق حاضر اثبات یکی از عوامل ایجاد کننده التهاب بوده است، ولی سایر تحقیقات

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:26 +0330 on Monday January 13th 2020

بررسی اثر عامل مهارکننده التهاب متمرکز بوده است (۳۲).

از آنجا که اگزوژنوس بودن علل علایم و نشانه‌های بیماری آرتریت روماتوئید دور از ذهن نیست، لذا علت انتخاب سوپرآنتی‌ژن C آن بود که این توکسین دارای سه تیپ سرولوژیک مختلف، ولی اثر یکسان را نشان می‌دهند.

در هر حال، پروتئین فاز حاد یا همان پروتئین واکنشگر C یک پروتئین غیر طبیعی است که در جریان التهاب در خون جانداران با پاسخ سایتوکاین‌های التهابی از جمله IL- 6 ایجاد می‌گردد(۳۴)، ولی منشاء دقیق آن مشخص نیست و معمولاً در خون انسان سالم یافت نمی‌شود، ولی در موارد ترومای شدید، عفونت‌های باکتریایی، متعاقب التهاب(۳۵) و بیماری‌های نئوپلاسمی‌غلظت آن تا ۱۰۰ برابر افزایش می‌یابد.

در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی از این مارکر به تنهایی یا به همراه سایر مارکرها جهت ارزیابی وضعیت بیماری‌های التهابی از جمله آرتریت روماتوئید استفاده می‌شود (۳۶). زیرا این مارکر آزمایشگاهی در بیماران روماتوئیدی به صورت افزاینده بروز می‌نماید. محدوده غلظت رفرانس CRP در بیماران التهابی از جمله آرتریت روماتوئید به قرار زیر است؛ ۱ـ غلظت کمتر از ۱ میلی‌گرم در لیتر در معرض خطر کم ، ۲ـ غلظت ۱ تا ۳ میلی‌گرم در لیتر در معرض خطر متوسط، ۳ـ غلظت بیشتر از ۳ میلی‌گرم در لیتر در معرض خطر زیاد و ۴ـ غلظت بیشتر از ۱۰ میلی‌گرم در لیتر در معرض زیاد و باید مورد توجه قرار گیرد و درمان اختصاصی شروع شود.

در تحقیق حاضر در هیچ کدام از موش‌های گروه کنترل منفی یا گروه کنترل سالین، CRP قابل تشخیص تولید نشد. در حالی که طی یک دوره زمانی ۴۰ روزه از ۰/۶ تا ۵/۴ میلی‌گرم در لیتر هم در گروه دریافت کننده سوپرآنتی‌ژن به صورت داخل مفصل و هم داخل پریتوان حاصل گردید. در این تحقیق حیوانات مورد آزمایش در ابتدا(زمان صفر)، از نظر وجود CRP منفی بودند، ولی بعد از دریافت سوپرآنتی‌ژن با گذشت زمان و دریافت بوستر غلظت CRP در خون آنها افزایش یافت. هرچند غلظت حاصل در محدوده خطرناک قرار داشت، ولی کمتر از محدوده نشان‌دهنده بیماری بود. با این حال این نتایج حکایت از آن دارد که سوپرآنتی‌ژن C *استافیلوکوکوس آرئوس* با اثر التهاب‌زایی که دارد می‌تواند تولید فاکتورهای ایمونولوژیک تشخیصی بیماری آرتریت روماتوئید را القاء نماید و پاسخی برای توضیح بیمارانی باشد که با وجود علایم و نشانه های بیماری آرتریت روماتوئید CRP آنها منفی و یا کمتر از حد انتظار است. زیرا ممکن است در این افراد هاپلوتایپ‌های دیگری از CRP ناشی از سایر سوپرآنتی‌ژن‌ها بوده باشد. این امر ضرورت توسعه آزمون‌های تشخیصی و پیگیری آرتریت روماتوئید و نیز سایر بیماری‌های التهابی را نشان می‌دهد.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:26 +0330 on Monday January 13th 2020

در هر حال، هدف این تحقیق تنها بررسی اثر یک آنتی‌ژن بود، اما از آنجا که بدن انسان همواره با بیش از یک سوپرآنتی‌ژن مواجه می‌گردد، به موازات این تحقیق، ترکیبی از ۵ سوپرآنتی‌ژن تحت عنوان آنتی‌ژن کامل به یک گروه از موش به صورت داخل پریتوانی تزریق و بعد از ۱۰ روز بررسی خون آنها نشان داد، غلظت CRP حتی از محدوده بیماری نیز فراتر رفت. چنان که عدد ۲۳/۳ میلی‌گرم در لیتر برای دریافت کننده داخل مفصلی و ۲۱/۷ میلی‌گرم در لیتر برای دریافت کننده داخل پریتوانی حاصل گردید.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این تحقیق نشان داد، سوپرآنتی‌ژن C *استافیلوکوکوس آرئوس* چه از طریق تزریق داخل صفاقی و چه از طریق تزریق داخل مفصلی تولید پروتئین واکنشگر C را القا نموده که با کیت‌های انسانی قابل تشخیص هستند. این یافته احتمالاً بتواند بخشی از پاتوفیزیولوژی بیماری آرتریت روماتوئید را توضیح دهد. هم‌چنین، بر تحقیقات گذشته مبنی بر وجود سوپرآنتی‌ژن‌های باکتریایی در بدن بیماران روماتوئیدی صحه گذاشته است(۱۸ -۱۴)، لذا، با مشخص شدن علل احتمالی بیماری‌های التهابی چشم‌انداز طراحی روش‌های درمان جدید به غیر از روش‌های موجود و نیز روش‌های پیشگیری و تولید واکسن را نزدیک‌تر نموده است. چون این تحقیق در حیوان کوچک آزمایشگاهی انجام شد، بنابراین، خون‌گیری متوالی امکان‌پذیر نبود که از ضعف‌های این تحقیق است، لذا انجام تحقیق مشابه با حیوان آزمایشگاهی بزرگتر که امکان خون‌گیری مکرر وجود داشته باشد پیشنهاد می‌گردد.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج)می‌باشد، که با حمایت مالی، راهنمایی‌ها و مشاوره ارزشمند واحد توسعه تحقیقات بالینی بیمارستان بقیه‌الله(عج) انجام شد، از همکاری و مساعدت محمدجواد سلطانپور رئیس آزمایشگاه بیمارستان بقیه‌الله(عج) و نیز محمد ثالثی که آنالیز آماری این تحقیق راانجام دادند تشکر و قدردانی می‌گردد.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:26 +0330 on Monday January 13th 2020

REFERENCES

1.Bartoloni C, Guidi L, Tricerri A, Baroni R, Pellegrino M, Scrimieri D, et al. Rheumatoid factors, C-reactive protein and circulating immunocomplexes: laser-nephelometric determination using the latex aggregation method. Preliminary evaluation in rheumatoid arthritis. Minerva Medica 1987; 78(23): 1775-8

2.Vogt B, Fuhrnrohr B, Muller R, Sheriff A. CRP and the disposal of dying cells: consequences for systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. Autoimmunity 2007; 40(4): 295-8.

3.McConkey B. It is said that elevated erythrocyte sedimentation rate and the elevation of C-reactive protein (CRP) may be indicators of continuing joint destruction in rheumatoid arthritis. What then is the explanation for joint destruction in some patients in whom there is no such apparent elevation of either the sedimentation rate of CRP? British Journal of Rheumatology 1990; 29(2): 88.

4.Aman S, Paimela L, Leirisalo-Repo M, Risteli J, Kautiainen H, Helve T, et al. Prediction of disease progression in early rheumatoid arthritis by ICTP, RF and CRP. A comparative 3-year follow-up study. Rheumatology 2000; 39(9): 1009-13.

5.Boss B, Neeck G. Correlation of IL-6 with the classical humoral disease activity parameters ESR and CRP and with serum cortisol, reflecting the activity of the HPA axis in active rheumatoid arthritis. Zeitschrift fur Rheumatologie 2000; 59(2): Ii/62-4.

6.Kokubun M, Imafuku Y, Okada M, Ohguchi Y, Ashikawa T, Yamada T, et al. Serum amyloid A (SAA) concentration varies among rheumatoid arthritis patients estimated by SAA/CRP ratio. Clinica chimica acta. International Journal of Clinical Chemistry 2005; 360(1-2): 97-102.

7.Aramaki T, Kawakami A, Iwamoto N, Fujikawa K, Kawashiri SY, Tamai M, et al. Prediction of DAS28-CRP remission in patients with rheumatoid arthritis treated with tacrolimus at 6 months by baseline variables. Modern Rheumatology 2009;19(6): 652-6.

8.Kawashiri SY, Kawakami A, Ueki Y, Imazato T, Iwamoto N, Fujikawa K. Decrement of serum cartilage oligomeric matrix protein (COMP) in rheumatoid arthritis (RA) patients achieving remission after 6 months of etanercept treatment: comparison with CRP, IgM-RF, MMP-3 and anti-CCP Ab. Joint, Bone, Spine: Revue Du Rhumatisme 2010; 77(5): 418-20.

9.Silva I, Mateus M, Branco JC. Assessment of erythrocyte sedimentation rate (ESR) and C-reactive protein (CRP) on rheumatoid arthritis activity prediction. Acta Reumatologica Portuguesa 2010; 35(5): 456-62.

10.Sengul I, Akcay-Yalbuzdag S, Ince B, Goksel-Karatepe A, Kaya T. Comparison of the DAS28-CRP and DAS28-ESR in patients with rheumatoid arthritis. International Journal of Rheumatic Diseases 2015; 18(6): 640-5.

11.Fleischmann RM, Van der Heijde D, Gardiner PV, Szumski A, Marshall L, Bananis E. DAS28-CRP and DAS28-ESR cut-offs for high disease activity in rheumatoid arthritis are not interchangeable. RMD Open 2017; 3(1): e000382.

12.Salaffi F, Carotti M, Ciapetti A, Gasparini S, Filippucci E, Grassi W. Relationship between time-integrated disease activity estimated by DAS28-CRP and radiographic progression of anatomical damage in patients with early rheumatoid arthritis. BMC Musculoskeletal Disorders 2011; 12: 120.

13.Ammitzboll CG, Steffensen R, Bogsted M, Horslev-Petersen K, Hetland ML, Junker P, et al. CRP genotype and haplotype associations with serum C-reactive protein level and DAS28 in untreated early rheumatoid arthritis patients. Arthritis Research & Therapy 2014;16(5): 475.

14.Ataee RA, Kahani MS, Alishiri GH, Ahamadi Z. Staphylococcal enterotoxin a detection from rheumatoid arthritis patients' blood and synovial fluid. Electronic Physician 2016; 8(2):1850-6.

15.Ataee RA, Karami A, Izadi M, Aghania A, Ataee MH. Molecular screening of staphylococcal enterotoxin B gene in clinical isolates. Cell Journal 2011; 13(3): 187-92.

16.Ataee RA, Kashefi R, Alishiri GH, Esmaieli D. Assay of blood and synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis for staphylococcus aureus enterotoxin d: absence of bacteria but presence of its toxin. Jundishapur Journal of Microbiology 2015; 8(12): e28395.

17.Ataee RA, Mehrabi-Tavana A, Izadi M, Hosseini SM, Ataee MH. Bacterial meningitis: a new risk factor. Journal of Research in Medical Sciences: the official Journal of Isfahan University of Medical Sciences 2011;16(2): 207-10.

18.Zahiri Yeganeh S, Ataee RA, Alishiri GH, Movahedi M. Bacteriological and molecular assessment of staphylococcal enterotoxin e in the blood of patients with rheumatoid arthritis. Jundishapur Journal of Microbiology 2015; 8(2): e16621.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:26 +0330 on Monday January 13th 2020

19.Ataee RA, Golmohammadi R, Alishiri GH, Mirnejad R, Najafi A, Esmaeili D, et al. Simultaneous Detection of Mycoplasma pneumoniae, Mycoplasma hominis and Mycoplasma arthritidis in Synovial Fluid of Patients with Rheumatoid Arthritis by Multiplex PCR. Archives of Iranian Medicine 2015;18(6): 345-50.
20.Golmohammadi R, Ataee RA, Alishiri GH, Mirnejad R, Mehrabi Tavana A ،Esmaieli D. Design of PCR-based method for detection of a gene-encoding Mycoplasma arthritidis mitogen superantigen in synovial fluid of rheumatoid arthritis patients. Iranian Journal of Microbiology 2014; 6(6): 415-20.
21.Mahabadi M, Faghihiloo E, Alishiri GH, Ataee MH, Ataee RA. Detection of epstein-barr virus in synovial fluid of rheumatoid arthritis patients. Electronic Physician 2016; 8(3): 2181-6.
22.Gerlach K, Tomuschat C, Finke R, Staege MS, Brutting C, Brandt J, et al. Experimental arthritis in the Rat Induced by the superantigen staphylococcal enterotoxin A. Scand J Immunol 2017; 85(3): 191-6.
23.Ataee RA, Kamali M, Karami A, Ghorbani M. Standardization of molecular method detection of the entC in Staphylococcus aureus isolated from human infections and determine it's sequence. Iranian Journal of Military Medicine 2012; 14(3): 232-40.
24.Tamhane A, Redden DT, McGwin G, Brown EE, Westfall AO, Reynolds RJ, et al. Comparison of the Disease Activity Score using Erythrocyte Sedimentation Rate and C-reactive Protein in African-Americans with Rheumatoid Arthritis. The Journal of Rheumatology 2013; 40(11): 1812-22.
25.Lee YC, Hackett J, Frits M, Iannaccone CK, Shadick NA, Weinblatt ME, et al. Multibiomarker disease activity score and C-reactive protein in a cross-sectional observational study of patients with rheumatoid arthritis with and without concomitant fibromyalgia. Rheumatology Oxford, England 2016; 55(4): 640-8.
26.Plant D, Ibrahim I, Lunt M, Eyre S, Flynn E, Hyrich KL, et al. correlation of c-reactive protein haplotypes with serum c-reactive protein level and response to anti-tumor necrosis factor therapy in uk rheumatoid arthritis patients: results from the biologics in rheumatoid arthritis genetics and genomics study syndicate cohort. Arthritis Res Ther 2012; 14(5): 40.
27.Ogrendik M. Rheumatoid arthritis is an autoimmune disease caused by periodontal pathogens. International Journal of General Medicine 2013; 6: 383-6.
28.Ebringer A, Rashid T ،Rheumatoid arthritis is an autoimmune disease triggered by Proteus urinary tract infection. Clinical & Developmental Immunology 2006; 13(1): 41-8.
29.Hedayati M, Suner A, Carr BI, Akkiz H, Karakulah G, Uskudar O, et al. C-Reactive protein and platelet-lymphocyte ratio as potential tumor markers in low-alpha-fetoprotein hepatocellular carcinoma. Phytotherapy Research 2019; 96(1): 25-32.
30.Suzuki N, Okuno T, Yang Y. Dietary inflammatory index positively associated with high-sensitivity C-reactive protein level in Japanese from nippon data2010. The New Phytologist 2019; 10: 56.
31.Pogue AI, Jaber V, Zhao Y, Lukiw WJ. Systemic Inflammation in C57BL/6J Mice Receiving Dietary Aluminum Sulfate; Up-Regulation of the Pro-Inflammatory Cytokines IL-6 and TNFalpha, C-Reactive Protein (CRP) and miRNA-146a in Blood Serum. Journal of Alzheimer's Disease & Parkinsonism 2017; 7(6): 40.
32.Hussein A, Stein J ،Ehrich JHH. C-reactive protein in the assessment of disease activity in juvenile rheumatoid arthritis and juvenile spondyloarthritis. Scandinavian Journal of Rheumatology 1987;16(2):101-5
33. Ito S, Kobayashi D, Hasegawa E, Takai C, Nemoto T, Lee H, et al. An Analysis of the Biological Disease-modifying Antirheumatic Drug-free Condition of Adalimumab-treated Rheumatoid Arthritis Patients. Internal Medicine(Tokyo, Japan) 2019; 58(4): 511-9.
34.Shadick NA, Cook NR, Karlson EW, Ridker PM, Maher NE, Manson JE, et al. C-reactive protein in the prediction of rheumatoid arthritis in women. Archives of Internal Medicine 2006;166(22): 2490-4
35.Dixon JS, Bird HA, Sitton NG, Pickup ME, Wright V. C-reactive protein in the serial assessment of disease activity in rheumatoid arthritis. Scandinavian Journal of Rheumatology 1984;13(1): 39-44.
36.Tanzer J. C-reactive protein is still a potential aid in rheumatoid arthritis predictors. Archives of Internal Medicine 2007;167(14): 1552.

www.SID.ir

Arc

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Study Effects of *Staphylococcus aureus* Superantigen C on Production of C-Reactive Protein in Rat

Ataee MR[1,2], Alishiri GH[3,4]*, Hesampoor Mahalati A[2], Ataee RA[1,5].

[1]Applied Microbiology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran. [2]Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. [3]Department of Rheumatology, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran. [4]Chemical Injuries Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran. [5]Department of Medical Microbiology, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Received: 02 Feb 2019 Accepted: 13 April 2019

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 13:26 +0330 on Monday January 13th 2020

Abstract

Background & aim: Microbial super antigens have reported in blood and synovial fluid of rheumatoid arthritis patients. Whether or not, the presence of these super antigens could provoke the induction of serologic diagnostic factors, including CRP in patients? the purpose of this study was to production and purification one of the super antigen C of Staphylococcus aureus and it٭ s effect on the induction of CRP in rat

Methods: In this experimental study which was performed from December 2017 to September 2018 at the Baqiyatallah University of Medical Sciences. Twenty Wistar rats weighing 250 to 300 Grams were selected and divided into four groups of 5 members, included. By participated to workshops of animal laboratory control as well as intraperitoneal and intera-articular injection were carried out. *Staphylococcus aureus* super antigen C was purified by ultrafiltration (Amicon Ultra Centrifugal Filter Device) form 24 hours culture media and use specific antibody for immunoblotting confirmatory was carried out. The protein concentration was measured. 50 micrograms of toxin were injected intraperitoneal and intra- articular into separate rat groups. In time course blood collection and CRP was tested. The results were analyzed.

Results: The results showed that 50 to 100 µg of toxin intra- articular and intraperitoneal after 20 days inducted CRP production at 0.7 mg. After 40 days, this increased to 2. 2 mg/lit and after 50 days it reached to 4.5 mg/lit. ANOVA analysis was shown the difference between the groups and with a significant level for groups was $P \leq 0.001$ and for the intervals of the effect of super antigen was $P \leq 0.075$, respectively.

Conclusion: The results indicate that the presence and survival of staphylococcal super antigen C in the body of wistar rats induced the production of CRP factor. Although this finding is an introduction to further research, it is likely to provide new ways to prevent and control inflammatory diseases, including rheumatoid arthritis.

Keywords: Purification, Superantigen C, Staphylococcus Aureus, C-Reactive Protein, Rheumatoid Arthritis

***Corresponding Author: Alishiri GH,** Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
Email: Gh.alishiri@gmail.com

Please cite this article as follows:
Ataee MR, Alishiri GH, Hesampoor Mahalati A, Ataee RA. Study Effects of *Staphylococcus aureus* Superantigen C on Production of C- Reactive Protein in Rat. Armaghane-danesh 2019; 24(4): 612--625

www.SID.ir