MINISTRY OF HIGHER EDUCATION AND SCIENTIFIC RESEARCH
UNIVERSITY OF MOSUL
COLLEGE OF MEDICINE

IMMUNOLOGICAL DIAGNOSIS OF CONNECTIVE TISSUE AND ORGANS-SPECIFIC AUTOIMMUNE DISEASES USING INDIRECT IMMUNOFLUORESCENT TESTS

A THESIS
SUBMITTED TO THE COUNCIL OF THE COLLEGE OF MEDICINE AT UNIVERSITY OF MOSUL IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY IN MICROBIOLOGY

BY

KHALID WALEED TURKEY AL-MOOLA
M.B.Ch.B., M.Sc.

DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY

SUPERVISED BY

PROF. DR. ZAINALABIDEEN A. ABDULLAH

MRCPI, Ph.D, FRCPath.

2018 A.D. **1439 A.H.**

Summary

Objectives To establish the diagnosis of clinically suspected connective tissue and organ-specific autoimmune diseases by the detection of autoantibodies using immunofluorescent studies. Furthermore, to detect the different staining patterns of antinuclear antibodies, and to study the value of anti-dsDNA antibodies in the diagnosis of these diseases. Finally, to establish a practical and reliable diagnostic protocol for the studied diseases.

Material and methods The current study was conducted from the period of 1st January 2013 up to 1st of April 2014. It included 230 patients suffering from different types of autoimmune diseases attending the Ibn-Sina, Al-khansaa Teaching Hospitals and Al-Wafaa Center for Endocrine Diseases, Mosul, Iraq. The group of patients included 50 connective tissue diseases (CTDs), 50 coeliac disease (CD), 30 autoimmune bullous diseases (ABD), 50 autoimmune liver diseases (AILD), and 50 patients with atrophic body gastritis (ABG). The indirect immunofluorescent (IIF) tests were used to test for ANA, anti-dsDNA, anti-parietal cell (APC), anti-intrinsic factor (AIF), anti-deaminated gliadin peptide (DGP), anti-endomysium (EM), anti-liver antigens, and anti-skin antigens autoantibodies. Other relevant laboratory tests including, complete blood count, ESR, renal function tests, liver function tests, viral hepatitis screening tests, and urinalysis were also conducted.

Results The ANA and anti-dsDNA antibodies were detected in 45/50 (90%) and18/50 (36%) patients with CTDs respectively. Thirteen ANA-IIF patterns were detected in patients with CTDs. The homogenous fluorescent pattern was found to be the most common pattern and detected in 17/50 (56.7%) patients with CTDs. The anti-dsDNA autoantibodies were detected specifically in patients with SLE (17/30) which showed an association with renal affection. In patients with CD, the anti-DGP and anti-EM antibodies of IgA class were detected in 29/50 (58%) and 31/50 (62%) patients respectively. The strong IIF intensities of anti-EM antibodies were found to be correlated with advanced mucosal architecture affection. Fourteen patients were reported to have ABD, of them six with PV, four with BP, two with PF, one with EBA and one with LAD. The anti-BP180 NC16A and anti-BP230 antibodies were detected in 4/4 (100%) patients with BP. Eighteen patients with AIH were reported, 13 patients were classified as type 1 and 5 patients were classified as type 2. The ASMA (anti-F-actin) were detected in 6/13 (46.1%) patients with type 1 AIH and in none of patients with type 2 AIH and the difference was significant (p=0.001). The anti-LKM antibodies were detected exclusively in patients with type 2 AIH and the difference was significant (p<0.001). The AMA were detected in 6/7 (85.7%)

patients with PBC. The difference was significant in comparison with patients AIH (p<0.001). The APC and AIF antibodies were detected in 13/50 (26%) and 9/50 (18%) patients with ABG. The IDA was evident in 17/50 (34%) patients with ABG. Thirteen out of fifty patients with ABG were found to have AIG. The PA was associated with dual positivity of both APC and AIF antibodies.

Conclusions Different ANA-IIF profiles are identified for the laboratory diagnosis of connective tissue diseases. However, for the organ-specific autoimmune diseases, the detection of anti-dsDNA, EM, DGP, "dermatology mosaic", "liver mosaic 8", APC, AIF autoantibodies provides a reliable and rapid diagnostic tool. Finally, a practical diagnostic protocol is established for these diseases.

كلية الطب

التشخيص المناعي لإمراض المناعة الذاتية للأنسجة الرابطة والخاصة بالأعضاء باستخدام فحوصات التألق المناعي غير المباشر

اطروحة

مقدمة إلى مجلس كلية الطب في جامعة الموصل وهي جزء من متطلبات نيل درجة الدكتوراه فلسفة في الأحياء المجهرية

من قبل

خالد وليد تركي المولى

بكالوريوس طب وجراحة عامة. ماجستير

فرع الأحياء المجهرية

بإشراف

الأستاذ الدكتور زين العابدين عبد العزيز عبد الله

١٤٣٩ هجري **٢٠١٨ ميلادي**

الأهداف: تأكيد تشخيص الحالات المشتبه بها سريريا لإمراض النسيج الضام وأمراض المناعة الذاتية الخاصة بالعضو باكتشاف الأجسام المضادة الذاتية بالاعتماد على فحوصات التألق المناعي غير المباشر. إضافة لما سبق, لكشف أنماط التألق المتنوعة للأجسام مضادة النواة ولدراسة أهمية الأجسام المضادة للحامض النووي ذي السلسلتين في تشخيص هذه الأمراض. ويتوخى البحث إلى وضع نظام تشخيص عملي و موثوق به للأمراض المدروسة .

المشاركون و طرق البحث: أجريت الدراسة الحالية في الفترة ما بين الأول من كانون الثاني من عام ٢٠١٣ و لغاية الأول من نيسان لعام ٢٠١٤. حيث شملت الدراسة ٢٣٠ مريضا بانواع مختلفة لأمراض المناعة الذاتية من المتواجدين في مستشفيات ابن سينا و الخنساء التعليميتين و كذلك مركز الوفاء لإمراض الغدد الصماء في الموصل /العراق. اشتملت مجموعة المرضى على ٥٠ مريضا بأمراض النسيج الضام, و٥٠ بأمراض جوفية, و٣٠ بأمراض المناعة الذاتية الفقاعي, و٥٠ بأمراض مناعة الكبد الذاتية, و٥٠ مريضا بالتهاب المعدة ضامرة الجسم. استخدمت اختبارات المناعة المتألقة غيرالمباشرة لاختبار الأجسام المضادة للنواة, والأجسام المضادة للحامض النووي ذي السلسلتين,والأجسام المضادة للخلايا الجدارية, والأجسام المضادة للعامل الداخلي المضاد, و الأجسام المضادة لبيبتيد الكلياديين الخالي من مجموعة الامين, والأجسام المضادة لغمد الليف العضلي, والأجسام المضادة للكبد, والأجسام المضادة للجلد. كذلك أجريت الاختبارات المختبرية الأخرى ذات الصلة كتعداد الدم الكامل, ومعدل ترسيب كريات الدم الحمراء, واختبارات وظيفة الكلى, وظائف الكبد, واختبارات التحري عن التهاب الكبد الفيروسي والفحص العام للإدرار.

النتائج: تم اكتشاف الأجسام المضادة للنواة والأجسام المضادة للحامض النووي ذي السلسلتين في ٤٥/ ٥٠ (٩٠٪) و ٥٠/١٨ (٣٦٪) من المرضى بأمراض النسيج الضام على التوالي. تم كشف ثلاثة عشر نمطا للمناعة المتألقة غير المباشرة للاجسام المضادة للنواة في مرضى النسيج الضام . وجد أن نمط التألق المتجانس هو الأكثر شيوعا و كشف في ١٧ /٥٠ (٥٦,٧٪) من مرضى النسيج الضام. كشفت الأجسام المضادة للحامض النووي ذي السلسلتين على وجه الخصوص في مرضى داء الذئب ألاحمراري (٣٠/١٧) والتي بينت ترابطا مع اعتلال الكلى. في مرضى الأمراض الجوفية كشفت الأجسام المضادة لبيبتيد الكلياديين الخالي من مجموعة الامين, والأجسام المضادة لغمد الليف العضلي

قرار مجلس الكلية

(IgA) في ٥٠/٢٩ (٥٨٪) و ٣١ /٥٠ (٦٢٪) مريضا على التوالي. وجد أن شدة التألق المناعي غير المباشر للأجسام المضادة لغمد الليف العضلي مرتبطة بدرجة اعتلال تركيبة الغشاء المخاطي.سجل أربعة عشر مريضا على أنهم مصابين بأمراض المناعة الذاتية الفقاعي, وستة منهم بالفقاعي الدارج, وأربعة بالفقاع الفقاعي, و اثنان بالفقاع ألقرطاسي وواحد بانحلال البشرة الفقاعي المكتسب و واحد بجلاد (IgA) الخطي. كشفت الأجسام المضادة للفقاع الفقاعي (NC16A) والأجسام المضادة للفقاع الفقاعي (BP230) في ٤/٤ (١٠٠٪) مرضى بالفقاع الفقاعي. سجل ثمانية عشر مريضا بالتهاب الكبد المناعي, و صنف ثلاثة عشر مريضا كنوع أول و خمسة مرضى كنوع ثاني. كشفت الأجسام المضادة للعضلات الملساء في ١٣/٦ (٤٦,١٪) مريضا بالنوع الأول ولم يسجل في أي مريض بالنوع الثاني. حيث كان الفرق معنويا (p=0,001). سجلت الأجسام مضادة المايكروسوم للكبد والكلى في مرضى النوع الثاني تحديدا حيث كان الفرق معنويا (p<0.001). كشفت الأجسام للمايتوكوندريا في ٧/٦ (٨٥,٧٪) مرضى بتليف الكبد الصفراوي الأولي. كان الفرق معنويا بالمقارنة مع مرض التهاب الكبد المناعي (p<0.001). كشفت الأجسام المضادة للخلايا الجدارية والأجسام المضادة للعامل الداخلي المضاد في ٥٠/١٣ (٢٦٪) و ٥٠/٩ (١٨٪) مريضا بالتهاب المعدة ضامرة الجسم على التوالي. كان فقر الدم نتيجة نقص الحديد واضحا في ٥٠/١٧ (٣٤٪) مريضا بالتهاب المعدة ضامرة الجسم. وجد أن ثلاثة عشر من أصل خمسين مريضا من هؤلاء المرضى كان لديهم التهاب المعدة المناعي. ويرتبط فقر الدم الوبيل بالايجابية المزدوجة لكلا من الأجسام المضادة للخلايا الجدارية والأجسام المضادة للعامل الداخلي المضاد.

الاستنتاجات : تم تحديد مرتسمات أجسام مضاد بطريقة التألق المناعي غير المباشر للتشخيص المختبري لأمراض النسيج الضام . فيما يتعلق بأمراض المناعة الخاصة بالعضو, كشفت الأجسام المضادة للحامض النووي ذي السلسلتين , والأجسام المضادة لغمد الليف العضلي, والأجسام المضادة لبيبتيد الكلياداين الخالي من مجموعة الامين , و فسيفساء الجلد , وفسيفساء الكبد , والأجسام المضادة للخلايا الجدارية , و الأجسام المضادة للعامل الداخلي المضاد.وتم توفير وسيلة تشخيص سريعة وموثوق بها و بالتالي تم تحديد نظام تشخيص عملي لهذه الأمراض.

الخلاصة