Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 18:11 IRDT on Sunday June 16th 2019

مجله دانشکده پزشکی تهران
شماره دوم ــ آبانماه ۲۵۳۵ صفحه ۹۱

بررسی سیستم ایمنی در مبتلایان به بیماری آسم

دکتر سیمین غازانشاهی

با تحقیقاتی که اخیرا" در مطالعه سیستم ایمنی در بیماران آلرژی بعمل آمده احتمال میرود که سیستم ایمنی در این بیماران طبیعی نباشد نقص در سیستم ایمنی سلولی در مبتلایان به‌اگزما گزارش‌داده‌شده (۷ــ۹ــ۱۰) و همچنین‌کاهش در جذب مواد رادیو اکتیو مثل تری‌تی‌ایتدتایمدین Tritiated thymidin بوسیلهٔ لنفوسیتها و نقص در حساسیتهای نوع دیررس به تزریق داخل جلدی آنتی‌ژنها مثل توبرکولین در مبتلایان به آسم مشاهده شده است (۵) بدین ترتیب با بررسی سیستم ایمنی در این بیماران ممکن است راه تازه‌ای در تشخیص و درمان آنان پیدا نمود.

یکی‌ازطرق‌بررسی سیستم ایمنی‌اندازه‌گیری‌لنفوسیتهای موجود در خون محیطی است این لنفوسیتها از نظر مبداء و عمل فیزیولوژیکی خود بدودسته تقسیم میشود دسته‌ای که‌در حساسیتهای نوع دیررس یا سلولی دخالت مینمایند که‌منشاء تیموسی دارند و با سم لنفوسیتهای T نامیده میشوند ودسته دوم که در واکنشهای ایمنی نوع هومورال دخالت دارند و به نام لنفوسیتهای B نامیده میشوند که‌در پرندگان از نقطه‌ای در لوله گوارش با سم بورساآوفابریشوز Bursa of Fabricius مشتق‌میشوند ولی‌در انسان محل‌مشابه‌ای مشاهده نشده‌است.

بهترین طریقه اندازه‌گیری تعداد لنفوسیتهای T تست روزت rosette test است برای اندازه‌گیری تعداد لنفوسیتهای B طرق مختلفی نیز وجود دارد که یکی از آنها تست روزت مخصوص لنفوسیتهای B میباشد که از نظر تکنیکی با تست‌روزت مخصوص‌لنفوسیتهای T فرق دارد. ما درمطالعه هردونوع لنفوسیتهای T و B از تست‌روزت استفاده‌نموده‌ایم.

روش کار

تعداد اشخاصی که برای اندازه‌گیری لنفوسیتهای T و B درخون‌محیطی‌شان انتخاب‌نموده‌ایم شامل ۲۲نفراز مبتلایان به بیماری آسم بودند سن نفرات بین ۱۰ تا ۴۴ سال و سن متوسط‌آنها بین ۲۲/۲۷ با (SD۹/۸بوده است. از آزمایش شدگان‌تعداد ۱۰نفر مذکر و۱۲ نفرمؤنث بوده‌اند درانتخاب بیماران سعی بعمل آمد که مبتلا به هیچ نوع بیماری دیگر بغیرازآسم نباشند و بغیرازداروهای ضدآسمی‌داروهای‌دیگری مصرف‌ننموده باشند همچنین هیچکدام از مبتلایان داروهای از نوع کورتیکواستروئید را حداقل‌به‌مدت یکسال قبل‌ازانجام تست مصرف نکرده باشند اشخاص کنترل هم از لحاظ سن و جنس متناسب با اشخاص آسمی انتخاب شده‌اند.

تهیه لنفوسیتها

بخش ایمونولوژی و میکربشناسی دانشکده علوم پایه پزشکی ــ دانشگاه تهران

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 18:11 IRDT on Sunday June 16th 2019

لنفوسیتها از خون محیطی بطریقه‌متد Thorby and Bratile 1970 (۱۳) جدا گردیده است دوسانتیمتر ـ مکعب از خون هپارنیزه شده را بعد از رقیق کردن با مقدار مساوی سرم فیزیولوژی بآرامی روی سه سانتیمترمکعب محلول Ficoll Sodium Metrizoate قرارداده‌و بعدازسانتریفوژ کردن در ۲۰ درجه سانتی‌گراد لنفوسیتها را که در حدفاصل قرار میگیرند جمع‌آوری نموده بعداز شستن با محلول بافربار بیتال طوری رقیق مینمائیم که در هر سانتیمترمکعب دارای ۴×۶^{-۱۰} عدد لنفوسیت داشته باشیم. و سپس لنفوسیت‌را با ذرات لاتکس Latex به مدت ۸۰ ـ ۶۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتیگراد قرار می‌دهیم تا ماکروفاژهای موجود ذرات لاتکس رافاگوسیتوز نموده و در امتحان میکرسکپی در موقع شمردن از روزتهای T و B مشخص گردند.

تست روزت برای اندازه‌گیری تعداد لنفوسیتهای T

لنفوسیتهای T دارای‌گیرنده‌های طبیعی برای‌گلبولهای قرمز گوسفند میباشند باین ترتیب که اگر گلبولهای قرمز گوسفندرابالنفوسیتهای T مدتی مجاورکنند اطراف لنفوسیتهای T بشکل دایره جمع میشوند و بعلت شباهتی که مجموعه یک لنفوسیت با گلبولهای قرمز محاصره کننده آن به گل پیدا میکنند آنرا روزت که به معنای گل سرخ است مینامند اگر سه عدد و یا بیشترگلبولهای قرمزگوسفند دور یک لنفوسیت جمع شده باشند بآن یک روزت گفته میشود بدین ترتیب تعداد روزتهای شمرده شده برابر تعداد لنفوسیتهای T خواهد بود ما برای انجام تست‌روزت از روش Jondal et al (۶) با کمی‌تغییر استفاده‌نموده‌ایم بدین ترتیب که لنفوسیتهای‌جدا شده را با مقدار مساوی محلول ۰/۵ درصد گلبولهای قرمز گوسفند مخلوط‌نموده و بعداز سانتریفوژکردن بمدت ۵دقیقه در RPM۶۰۰ در ۴ درجه سانتی‌گراد قرار می‌دهیم. از هر فردی دو نمونه آزمایش تهیه گردیده روزتهای یک نمونه را بعد از یک‌ساعت و نمونه دیگر را بعداز ۲۰ ساعت نگهداری در ۴درجه سانتی‌گراد شمرده‌ایم باین‌ترتیب که‌رسوب ته لوله را بآرامی درمایع بالای آن حل نموده برای شمردن از همو ـ ساتیومتر hemocytometer استفاده شده است.

تست روزت مخصوص لنفوسیتهای B

لنفوسیتهای B گیرنده‌طبیعی برای‌گلبولهای‌قرمزگوسفند ندارند ولی دارای گیرنده‌هائی برای کمپلمان هستند بدین جهت برای انجام تست روزت مخصوص لنفوسیتهای Bابتدا باید گلبولهای قرمز گوسفند را بوسیله کمپلمان و همولیزین حساس نمود یعنی تست باین صورت انجام میگیرد که ابتدا محلولEAC را که مخلوطی است از مقادیر متساوی محلول ۵ درصدگلبولهای‌قرمز گوسفند (E) و محلول $\frac{۱}{۵۰۰}$ همولیزین فراهم شده از روباه (A) و محلول $\frac{۱}{۱۰}$ سرم موش به عنوان منشاء کمپلمان (C) تهیه می‌نمایند.

محلول EACتهیه شده را ابتدا مدت ۳۰ دقیقه در حرارت۳۷ درجه گذاشته و بعداز شستن به غلظت۰/۵ درصد گلبولهای‌قرمز گوسفند میزان مینمایند و سپس‌با حجم متساوی از محلول‌لنفوسیتهای تهیه شده مخلوط‌نموده بعداز سانتر ـ یفوژ کردن به مدت ۳۰ دقیقه در RPM۱۲۰۰ نیمساعت در حرارت ۳۷ درجه میگذارند طرز خواندن روزتهای B مثل طریق خواندن روزتهای T است که در بالا شرح داده شده است.

روزت سلولهای منوسیت

چون سلولهای منوسیت هم دارای گیرنده‌های طبیعی برای کمپلمان میباشند در تست روزت مخصوص لنفوسیتهای B روزت سلولهای منوسیت هم تشکیل میشود که چون این سلولها ذرات‌لاتکس Latex را فاگوسیتوز مینمایند از روزت سلولهای B در امتحان میکرسکپی قابل تشخیص‌اند.

نتایج

لنفوسیتهای جدا شده از خون بیماران شامل تقریبا" صددرصد سلولهای‌تک هسته‌ای‌هستند که‌دارای ۱۴ ـ ۵درصد ماکروفاژ بوده‌اندکه با فاگوسیتوز کردن‌ذرات Latex مشخص گردیده‌اند.

گلبولهای سفید خون

تعدادکل ائوزنیوفیلها در آسمی‌های مطالعه شده‌خیلی بیشتر از اشخاص طبیعی بود ولی هیچ ارتباطی بین تعداد

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 18:11 IRDT on Sunday June 16th 2019

ائوزفیوفیلها و لنفوسیتهای T وB مشاهده نشد و تعداد کل لنفوسیتهای T و Bدر میلیمترمکعب خون این اشخاص آسمی خیلی کمتر از اشخاص طبیعی بود.

بحث

در مطالعه لنفوسیتهای Tو Bدر بیماران آسمی نتایج بدست‌آمده نشان‌میدهدکه‌دراین افراد تعدادکل‌لنفوسیتهای T و Bدر میلیمترمکعب خون کمتر از اشخاص طبیعی است (جدول۱). در مطالعه تعداد لنفوسیتهای T و B دربیماران آسمی فرضیه‌ای را که بیماریهای آلرژی ممکن است با نقص سیستم ایمنی همراه‌باشند تأئید مینماید درانتخاب بیماران ما سعی‌نمودیم آنهائی را برای مطالعه خود برگزینیم که‌عاری از عوامل ثانوی مثل استعمال داروهای کورتیکو استروئید و عفونت که لنفوسیتها را تحت تأثیر قرار می‌دهند باشند. ازدیاد تعداد روزتهایT را با طویل کردن زمان نگهداری در ۴ درجه سانتی‌گراد گزارش داده‌اند (۱۲).

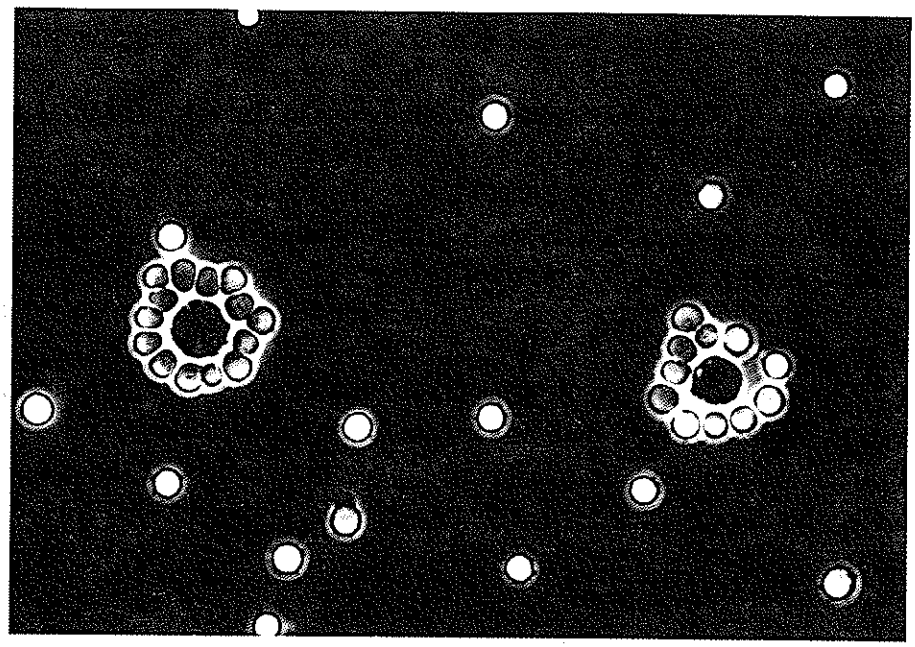
و مانیز درتجزیه اخیر شمردن‌روزتهایT رابه دوطریقه انجام داده‌ایم یکی نگهداری به مدت کوتاه (یکساعت) و دیگری طویل‌المدت (۲۰ ساعت) در ۴ درجه سانتی‌گراد که در نتیجه تعداد بیشتری روزت با طریقه طویل‌المدت (۲۰ـ ساعت) بدست آوردیم.

مکانیسم این و فورروزتهای T با افزایش‌زمان نگهداری در ۴ درجه سانتی‌گراد بدرستی شناخته نشده است احتمال دارد که دو دسته فرعی لنفوسیتهایT وجود داشته باشند که یک‌دسته سریعتراز دسته‌دیگر در تشکیل روزت شرکت میکنند. (۱۴).

بعلت گزارش کارشناسان و همچنین مطالعات ما بهتر است که شمارش روزتهای T بدوطریقه هم سریع المدت (یک ساعت) و هم طویل‌المدت (۲۰ ساعت) انجام گیرد.

خلاصه

بطور خلاصه در مطالعه لنفوسیتهای T و Bدر ۲۲ نفر بیماران‌مبتلا به آسم تعدادکل هر دو نوع لنفوسیتهایT وB درمیلیمترمکعب خون کمتراز اشخاص‌طبیعی بود و این‌مشاهده فرضیه‌ای را که بیماریهای آلرژی ممکن است با نقص سیستم ایمنی همراه باشند مستحکم‌تر مینماید تعداد روزتهای T با طریقه نگهداری نمونه بطور طویل المدت (۲۰ ساعت) در ۴ درجه سانتی‌گراد بیشتر از طریقه سریع المدت (یکساعت) بود. که احتمال میرود دو دسته فرعی لنفوسیتهایT وجود داشته باشد که یک دسته سریع‌تر از دسته دیگر با گلبولهای قرمز گوسفند ایجاد روزت مینماید پس بهتر است که شمارش روزتهای T بدوطریقه هم‌سریع‌المدت (یکساعته) و هم‌طویل المدت (۲۰ ساعته) انجام گیرد تعداد کل ائوزنیوفیلها در بیماران آسمی خیلی بیشتر از اشخاص طبیعی بود ولی هیچ نوع ارتباطی بین تعداد ائوزنیوفیلها و لنفوسیتهایT وBدر بیماران آسمی وجود نداشت.



تعداد روزتهای T و B در میلیمترمکعب خون

نفرات	تعداد روزتهای T (بطریق کوتاه مدت یا یکساعت) در میلیمتر مکعب خون ± SD	تعداد روزتهای T (بطریق طویل المدت یا ۲۰ ساعت) درمیلیمتر مکعب خون ± SD	تعداد روزتهای B در میلیمتر مکعب خون ±SD
(۲۲ نفر) سالم	۱۶۰۲/۷۴ ± ۶۰۴/۸۰	۱۸۵۵/۲۳ ± ۶۱۶/۱۰	۸۶۲/۷۴ ± ۳۵۲
(۲۲ نفر) آسمی	۱۲۷۶/۵۹ ± ۳۵۴/۲	۱۴۷۱/۲۴ ± ۳۷۹/۹۷	۶۸۰/۵۷ ± ۷۰/۴۰
SD	P<۰/۰۵	P<۰/۰۵	P<۰/۰۵

SD = Standard Deviation استاندارد دوی ای شن

References

1. Brain P. Gordon J and Willettes WA: Rosette formation by peripheral lymphocytes. Clin Exp. Immunol 6: 681, 1970.
2. Buskin SC, Pantic V and Incefy GS: Studies on the mechanism of human peripheral blood lymphocyte receptors formation in vitro. Fed Proc. 33: 629, 1974.
3. Bentwich ZS, Douglas SD, Siegal FP and Kunkel HG: Human lymphoytce sheep erythrocyte rosette formation some characteristics of the interaction. Clin Immunol Immunopath 1: 511, 1973.
4. COOmbs RRA, Gurner BW, Wilson AB, Holm G and Lingren B: Rosette formation between human lymphocytes and sheep red cells not involving immunoglobulin receptors. In Arch Allergy 39: 658, 1970.
5. Grove DI, Buston TO, Wellby ML, Munro Ford R and Forbes IJ: Humoral and cellular immunity in Asthma. J. Allergy 55: 152, 1975.
6. Jondal M, Holm G and Wigzell H: Surface markers on human T and B lymphocytes. J. Exp Med 136: 207, 1972.
7. Lobitz WC Jr., Honeyman JF and Winkler NW: Suppressed cell mediated Immunity in two adults with atopic dermatitis. Br J Dermatol 86: 317, 1972.
8. Luckasen JR, Sabad KJ, Gajl-Peczlaka KJ and Kersey JH: Lymphocytes bearing complement receptor, surface immunoglobulins and sheep erythrocyte receptors in primary immunodeficiency disease. Clin Exp. Immunol, 16: 536, 1974.
9. McGeady SJ and Buckley RH: Depression of cell mediated immunity in atopic eczema. J. Allergy 56: 393, 1975.
10. Rochelefsky GS, Opelz G, Mickey R, Kiuchi M, Terasaki PI, Siegel SC and Stiehm ER: Defective T cell function in atopic dermatitis. J. Allergy 57: 569, 1976.
11. Silveria NPA, Mendes NF and Tolinai MEA: Tissue localization of two populations of human lymphocytes distinguished by membrane receptors. J. Immunol 108: 1456, 1972.

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 18:11 IRDT on Sunday June 16th 2019

12. Steel C, Evans MJ and Smith MA: The sheep cell rosette test on human peripheral blood lymphocytes. An analysis of some variable factors in the technique. Br J Hematol 28: 245, 1974.
13. Thorby E and Bratile A: A rapid method for preparation of pure lymphocyte suspentions. Histocompatibility testing. 1970 ed. P.I.
14. Yu DTY: Human lymphocyte subpopulation: Early and late rosettes. J Immunol 115: 91, 1975.
15. Yu DTY, Petet JB, Paulus HE and Nice KM: Human lymphocyte subpopulations study of T and B cells and their density distribution. Clin Immunol Immunopath 2: 333, 1974.

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 18:11 IRDT on Sunday June 16th 2019