Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 15:37 IRST on Saturday December 7th 2019

مجله دانشکده پزشکی تهران
شماره دهم ــ تیر ماه ۲۵۳۵ صفحه ۳۹۱

مطالعه لنفوسیتهای T و B و ایمنی سلولی در بیماران جذامی ایران

دکتر احمدمسعود ــ دکتر غلامرضانظری ــ دکترفریدون علاء
حسین پاشاعمادی ــ دکتر ناصرعلی سیادت

۱ ــ مقدمه

بیماری جذام از یک نظر شبیه بیماریهائی مثل سل، بروسلوز، هیستوپلاسموز است که در آنها عموما" باسیل عامل بیماری در ماکروفاژها مخفی شده‌اند. از نظر بالینی بیماری مزبور بصور مختلف مثل اشکال توبرکولوئید، لپروئید و غیره دیده میشود تظاهرات بیماری احتمالا مربوط به یک سری مکانیسم های ایمنولوژیک میباشند که بدوصورت ایمنی سلولی و ایمنی‌هومورال ملاحظه‌می‌گردند. دپرسیون Depression ایمنی سلولی در بیمارانی که مبتلا به شکل لپروماتوزبیماری هستند میتواند از راههای ژنتیکی تا اندازه‌ای مشخص بشود. بدین معنی که به نسبتهای متغییر در بیماران مبتلا به شکل لپروماتوز برخی از آنتی‌ژنها قادر به ایجادحساسیت‌شدید دیررس میباشند. با اینحال در افرادی که مبتلا به شکل توبرکولوئید بیماری هستند دپرسیون‌ایمنی سلولی و اختلال آن به تناسب شکل لپروئید همیشه ثابت و زیاد نیست.

بطور کلی میتوان خصوصیات زیر را در بیماران مبتلا به شکل لپروئید بیان کرد. (۲ ــ ۳ ــ ۴)

۱ ــ نسبت به تزریق داخل پوستی لپرومین واکنش منفی نشان می‌دهند.

۲ ــ تزریق داخل پوستی آنتی‌ژنهای باکتریائی به‌این گونه بیماران حساسیت شدید سلولی چندان مهمی نشان نمی‌دهد.

۳ ــ انجام پاچ تست Patch Test بادی‌نیترو کلرو بنزین DNCB قدرت ایجاد واکنش حساسیت شدید دیررس مهمی ندارد.

۴ ــ چنانچه باینگونه افراد پوست آلوژنیک پیوند شود قدرت حیات آن بیشتر خواهد بود. (۱)

باوجودخصوصیات‌فوق‌پاسخ In-Vitro لنفوسیتهای اینگونه افراد در حضور فیتوهماگلوتینین PHA ضد و نقیض است وعده‌ای این‌واکنش را مثبت وبرخی آن‌را منفی‌میدانند.

ما برای بررسی بیشتر این بیماری سعی کردیم از یک طرف تعداد لنفوسیتهای T و B را در خون محیطی این بیماران بررسی نموده و از طرفی دیگر در شرایط‌آزمایشگاهی و اقلیمی و خصوصیات بیماران را پاسخ سلولی را در حضور PHAمورد مطالعه قرار دهیم.

۲ ــ بیماران و افراد شاهد

تعداد ۵۳بیمار جذامی از مرکزتحقیقات پوستی‌جمعیت

گروه میکربشناسی و ایمونولوژی دانشکده علوم پایه پزشکی ــ دانشگاه تهران
سازمان ملی انتقال خون ایران و جمعیت کمک بجذامیان.

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 15:37 IRST on Saturday December 7th 2019

کمک بجذامیان ایران مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. از این تعداد ۴۰ نفر مرد و ۱۳ نفر زن بودند. حد متوسط سن بیماران ۴۶ سال یعنی بین ۱۱ تا ۶۲ سال بوده است. ۳۰ نفر از بیماران مبتلا بشکل لپروماتوز ۲۳ نفر بقیه جزء شکل توبرکولوئید ــ بیماری گزارش شده‌اند (تابلو ۱) ــ کلیه بیماران آنطور که گزارش شده است بهنگام آزمایش تحت درمان با مواد ضد ــ جذامی بوده‌اند. از طرف دیگر برای کنترل نتایج خود تعداد ۱۰ نفر از افراد سالم از خون دهندگان سازمان ملی انتقال خون ایران انتخاب و بعنوان شاهد مورد مطالعه قرار گرفته‌اند.

تابلو ۱ ــ اشکال بالینی بیماری

توبرکولوئید	لپروئید	تعداد بیماران
۲۳	۳۰	۵۳

جنس بیمار

زن	مرد	تعداد بیماران
۱۳	۴۰	۵۳

۳ ــ روش کار

۳ ــ ۱ نحوه جدا نمودن لنفوسیتها و تشخیص لنفوسیتهای T و B .

برای این منظور مقدار ۱۰ میلی‌لیتر خون هپارینه بیمار یا شاهد را تا حد امکان بشکل استریل گرفته و بکمک محلول فایکول ایزوپاک لنفوسیتها را جدا نمودیم. لنفوسیتها را ۲ تا ۳ با محلول هانکس شست و شو دادیم و سپس از یک طرف به کمک روش روزت طبیعی (۵) به درصد لنفوستهای T درمیلی لیتر (بجای میلی‌مترمکعب) خون پی می‌بریم و از طرف دیگر بکمک روش روزت ایمون (۱۱) درصد لنفوسیتهای را در میلی‌لیتر مکعب خون محاسبه میکنیم. بعلت اشکال در جدا نمودن غده لنفاوی تعداد سلولهای T و B در این غدد را نتوانستیم تحقیق کنیم.

۳ ــ ۲ تست مهاجرت لکوسیتی در حضور PHA

برای این منظور ۱۰ میلی مترمکعب از خون هپارینه بیمار و همینطور افراد شاهد را گرفته و لوکوسیتهای خون محیطی را جدا نمودیم سپس این لوکوسیتها را در یک لوله موئی قرار داده و در محیط مخصوص TC ۱۹۹ که ۱۰ درصد سرم اسب بدان اضافه نموده بودیم میگذاریم. در محیطهای شاهد آنتی ژنی اضافه نکردیم ــ برعکس در محیطهائی که منظور بررسی تأثیر PHA بوده است مقدار ۱% و ۲% میلی لیتر از فیتوهمو آگلوتینین اضافه نمودیم. چون در مقالات متعدد این روش را تشریح نمودیم برای اطلاعات بیشتر به رفرانس‌های انتهای این مقاله میتوان مراجعه نمود.

(۹ ــ ۸ ــ ۷ ــ ۶) بهر حال پس از ۱۶ ساعت اندکس مهاجرت لوکوسیتی بیماران و افراد شاهد را محاسبه نموده و نتایج را مورد ارزیابی قرار می‌دهیم.

۴ ــ نتایج

۴ ــ ۱ نتایج حاصل از مطالعه سلولهای T و B در بیماران و افراد شاهد

تعداد متوسط سلولهای T و B در بیمارانی که مبتلا به شکل توبرکولوئید بیماری بوده‌اند به ترتیب عبارتند از ۳۶% و ۲۰% حال آنکه تعداد متوسط سلولهای T در بیماران مبتلا به شکل لپروئید بیماری عبارت است از ــ ۳۸% و بهمین صورت تعداد متوسط لنفوسیتهای B برابر است با ۲۱%

تعداد متوسط لنفوسیتهای T و B در افراد شاهد عبارت است از ۶۰% برای لنفوسیتهای T و ۲۵% برای لنفوسیتهای B (تابلو ۲).

۴ ــ ۲ ــ نتایج مربوط به اندکس مهاجرت لوکوسیتی در بیماران و افراد شاهد

در ۱۰ بیماری که تست مهاجرت لوکوسیتی در حضور PHA برای آنها انجام گرفته است عموما" با مقدار ۱% میلی لیتر از PHA پاسخ مثبت بوده است یعنی اندکس مهاجرت لوکوسیتی کمتر از ۸۰% بوده است و فقط در یک مورد که بیمار مبتلا به شکل توبرکولوئید بیماری بوده است اندکس مهاجرت لوکوسیتی برابر ۸۱% داشته‌ایم. برعکس عموم بیماران در حضور ۲% میلی لیتر PHA در هر سانتی‌مترمکعب از محیط کشت سلولی اندکس مهاجرتی بیش از ۰/۸ داشته‌اند و فقط ۳ بیمار از تعداد ۷ بیمار که مبتلا بشکل توبرکولوئید بیماری بوده‌اند اندکسی کمتر از ۰/۸ داشته‌اند. بعکس در ۱۵ مورد شاهدی که مورد آزمایش قرار گرفته‌اند همگی در حضور ۱% و ۲% میلی‌لیتر از PHA در میلی‌لیتر محلول TC ۱۹۹ اندکسی کمتر از ۰/۸ نشان دادند. (تابلو ۳)

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 15:37 IRST on Saturday December 7th 2019

تابلو ۲ ــ درصدلنفوسیتهای T و B در خون محیطی افراد طبیعی و بیمار

لنفوسیتهای B	لنفوسیتهای T	
۲۰	۳۶	شکل توبرکولوئید
۲۱	۳۸	شکل لپــروئیــد
۲۵	۶۰	افراد طبیعـــــی

تابلو ۳ ــ متوسط اندکس مهاجرت لوکوسیتی در حضور PHA در ۹ بیمار و ۱۰ نفر از افراد طبیعی

غلظت PHA	0/01 ml PHA/ml	0/02ml PHA/ml
شکل توبرکولوئید	%۷۳	%۴۸
شکل لپــروئیــد	۱۰۰	%۶۵
افراد طبیعـــــی	%۳۴	%۱۹

ــ بحث

مطالعه‌سلولهای T و B در بیماران‌مبتلا به جذام نشان میدهدکه از یکطرف‌تعداد سلولهای T در این‌بیماران بشدت کاهش یافته و بمقدار متوسط ۳۶% در اشکال توبرکولوئید و ۳۸% در اشکال‌لپروئید رسیده‌است و حال‌آنکه تعداد متوسط این لنفوسیتهادر افرادطبیعی حدود ۶۰% بوده است برعکس در تعداد سلولهای B این بیماران تغییر محسوس دیــده نمیشود. کاهش شدید سلولهای T بیماران که نشان دهنده درجه حساسیت شدید سلولی در افراد است تأئید بارزی بر اختلال ایمنی سلولی بیماران است. برعکس بنظر میرسد که در پاسخ ایمنی هومورال این بیماران ظاهرا" هیچ اختلال پیش نیامده است.

همانطور که در مقدمه گفتیم اختلال ایمنی سلولی در افرادی که مبتلا بشکل لپروئید بیماری هستند شدیدتر از بیمارانی است که مبتلا بشکل توبرکولوئید بیماری باشند ودر شمارش‌تعداد لنفوسیتهای T بیماران ملاحظه میشود درگروه بیماران لپروئیدی ما تعداد متوسط سلولهای T ۲% بیشتر از بیماران‌توبرکولوئیدی‌است. چگونه‌میتوان این‌مسئله را توجیه نمود. در مقدمه گفتیم که در جذام باسیل عامل بیماری در ماکروفاژها مخفی‌میشود ــ این‌خود میتواند دلیلی براختلال ایمنی‌سلولی باشد ــ زیرا اختلال‌در سیستم ماکروفاژها ماءلا" میتواندباعث اختلال در پاسخ سلولی بشود ــ از طرف دیگر بنظر من مطالعات کاملتری باید دراینمورد انجام بشود تا مشخص گردد کــه آیــا سلــولــهای T ســوپــر ســور ــ (Supressor Cells) چه نقشی در این بیماری دارند و تا چه اندازه باعث اختلال ایمنی سلولی میشوند؟ و آیا چنانچه این سلولها در این بیماری وجود داشته باشند در شکل لپروئیدی بیماری فعالیت بیشتری خواهند داشت و یا در شکل ــ توبرکولوئیدی؟

زیرا ظاهرا" کمبود سلولهای T در بیماران جذامی میبایست توجیه‌کننده کاهش‌پاسخ سلولی باشد. از طرف دیگر اندکس مهاجرت لوکوسیتی این بیماران در حضور PHA با مقایسه با اندکس مزبور در افراد شاهد رقم بالاتری را نشان میدهد (تابلو ۳). بعبارت‌دیگر توجیه ایمنولوژیک این‌مسئله بدان‌صورت خواهدبود که‌مقدار فاکتورممانعت کننده‌مهاجرت لوکوسیتی‌یا Leukocyte inhibitory Factor = LIF که فعالیتی مشابه Macrophage inhibitory Factor=MIF دارد در این بیماران کمتر از افراد طبیعی بوده‌است بعبارت واضح تر در افراد سالم بعلت وفور نسبی سلولهای T در حجم مساوی در محیط‌کشت‌امکان ترشح ماده فوق فراهم‌تر بوده است و حال آنکه در بیماران این امکان کمترشده‌است.

از طرف دیگر در کنفرانس که پروفسور TURK اخیرا" در تهران ایراد کردند حضور داشتیم. ایشان ضمن جداولی که ارائه کردند معتقد بودند انفیلتراسیون لنفوسیتی‌وبالطبع حساسیت شدید دیررس در شکل توبرکولوئیدی بیماری نقش مهمتری دارد ــ بهمین جهت تست لپرومین و DNCB در بیماران گروه فوق بخوبی پاسخگو خواهد بود ــ برعکس در حدود ۹۵% از بیماران مبتلا به شکل لپروئید بیماری آنتی ــ کرهای پرسپیتان پیدا نموده‌اند و بهمین‌ترتیب‌بنظر Truk (۱۲) درصد اوتوآنتی کر در بیماران توبر کولوئیدی حدود ۳ تا ۱۱% بوده‌است و حال آنکه‌تعداد اوتوآنتی‌کر دربیماران شکل‌لپروئیدی به‌حدود ۳۰ تا ۵۰%میرسد. همه این اطلاعات نشان می‌دهند که شکل توبرکولوئیدی بیماری بــا تستهای

هومورال با سهولت بیشتری مشخص می‌گردند. با اینجال با اطلاعات عملی‌وسیعتر، امکانات بیشتر ودقت وتوجه‌افزونتری باید به بررسی بیماری ای پرداخت که بسیاری از همنوعان ما را در کام خود فرو برده و سالهای سال با شکنجه خود لذت زندگی را از آنها سلب ساخته است.

خلاصه

بررسی‌های‌خود را برروی خون‌محیطی ۵۳ بیمارجذامی که ۴۰ نفر مرد و ۱۳ نفر زن بودند انجام دادیم سن متوسط این بیماران ۴۶ سال یعنی ۱۱ تا ۶۲ سال بوده است. ۳۰ نفر از بیماران مبتلا به شکل لپروئید بیماری و ۲۳ نفر بقیه مبتلا بشکل‌توبرکولوئیدی بیماری‌بوده‌اند. همه بیماران تحت درمان باموادضد لپر بوده‌اند. ـ ۱۰ نفر افراد سالم‌از میان خون دهندگان سازمان ملی انتقال خون ایران بعنوان شاهد انتخاب شدند.

لنفوسیتهای T و B بکمک‌روشهای In-Vitro روزت طبیعی و ایمون مشخص شده‌اند.

درصد سلولهای T و B در بیماران توبرکولوئیدی به ترتیب ۳۶ و ۲۰ درصد بوده است و حال آنکه در بیماران لپروئیدی ۳۸ و ۲۱ درصد بوده است. این سلولها در افراد طبیعی ۶۰ درصد برای سلولهای T و ۲۵٪ برای سلولهای B بوده است. نتایج بدست آمده از بررسی لنفوسیتهای T و B با اندکس‌مهاجرت لوکوسیتی بیماران و افرادطبیعی درحضور PHA مورد مقایسه قرار گرفته است.

مقایسه تعداد لنفوسیتهای T افراد طبیعی و بیماران نشان دهنده کاهش شدید این لنفوسیت در بیماران است و حال آنکه سلولهای B در این گروه تفاوت قابل توجهی باهم ندارند ازطرف دیگر کاهش پاسخ تحریکی سلولها بکمک PHA با تست‌مهاجرت لوکوسیتی نشان دهنده هماهنگی فروافتادن تعداد سلولهای T میباشد.

بنابراین مطالعات‌ابتدائی که بدین‌ترتیب‌گرفته‌میتواند تا اندازه‌ای فقدان ایمنی سلولی را در بیماران فوق بازگو کند.

References

1. Bullock W. E., Studies of Immune mechanism in leprosy. 1. Depression of delayed allergic response to skin test antigens. New. Engl. J. Med. 1968 a, 278, 298.
2. Delville. J., Diagnostic differentiel de Mycobacterium Leprae par son etude in-vitro dans le Macrophage human., Ann. Soc. Belge Med. Trop. 1973, 53.3, 195-199
3. Delville. J., In-Vitro Behavior of macrophaqes from healthy persons against M. Leprae and and other Mycobacteria; International J. Lep. 1973. 39. No. 2 , 329-39.
4. Dierks, R. E. and Shepard. C. C., Effect of PHA and various mycobacterial antigens on lymphocyte cultures from leprosy patients. Proc. Soc. Exp. Biol. 1968, 127, 391
5. Lay W. H. Bianco C. et al., Binding of sheep red blood cells to a large population of the human lymphocytes Nature 1971, 230, 531.
6. Massoud. A., Contribution a l'etude du test migration leucocytaire these d'etate No. 101, 1974 Lyon, France.
7. Massoud A., Etude de la migration des leucocytes en presence d'Ig G non denaturees dans la P. R., Iranien. J. Publ. Hith. 1975, 4, No. 2, 154-161
8. Massoud A., Leukocyte migration test in rheumatoid arthritis, 3rd Congress of the Southeast Asia and Pacific Area League Against Rheumatismes 1976

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 15:37 IRST on Saturday December 7th 2019

9. Massoud A., Effect of Immunosuppressives on the leukocyte migration inhibition test in Rheumatoid arthristis patients and normal subjects. The seventh Pahlavi Medical Congress 1976.
10. Myrvang. B., and Godal T. et al., Immune responsiveness to mycobacterium leprae of of healthy human. Acta. Path. Microbiol. Scand. Sect C. 1975, 83, 43-51
11. Silveria N. P. A. et al., Tissue localisation of two population of human lymphocytes distinguished by membran receptors. J. Immunol. 1974, 108. 1456
12. Turk, J. L. and Waters M. F. R., Immunological basis for depression of cellular immunity and the delayed allergic response in patients with lepromatous leprosy. Lancet 1968 ii 436

Downloaded from tumj.tums.ac.ir at 15:37 IRST on Saturday December 7th 2019