مجله دانشکده پزشکی تهران

شماره نهم ــ خرداد ماه ۵۴ ــ صفحه ۲۳۵

# روشهای تشخیص ایمنی سلولی

دکتر احمد مسعود

## مقدمه

بدن در برابر ورود آنتی ژن بچند صورت پاسخ میگوید. ممکن است آنتی کر مخصوص آنرا بسازد که با پیوند اختصاصی با آنتی ژن فوق ایجاد واکنشهای مختلف مینماید. یا فقط با ایجاد سلولهای خاطره ای اکتفا مینماید ــ یا اصولا تولید تولرانس میکند وبالاخره ممکن است به بروز یک حساسیت شدید دیررس تکامل ببخشد. تا این اواخر برای مطالعه حساسیت شدید دیررس ( DELAYED, HYPERSENSITIVITY ) که درواقع یکنوع تحریک لنفوسیتهای تابع تیموسی است راهی جز تزریق متوالی داخل پوستی یازیرجلدی ماده آنتی ژنیک و بررسی نتایج حاصل نداشتند. ماده تزریقی که برای مطالعه استفاده میکنند. توبرکولین یا ppD (Proteine-pu Mified derivative) است اخیرا مشتقات نیتروبنزن مثل DNCB یا دی نیتروکلروبنزن یا DNFB یا دی نیتروفلوروبنزن را استفاده میکنند اما این روش که تزریق مجدد ماده آنتی ژنیک به شخصی که قبلا بوسیله همین ماده حساس شده چیز دیگری نیست، اشکالات متعددی دارد که بطور خلاصه میتوان از تغییر حالت ایمنی بدن ــ فرض ایجاد یک واکنش آنافیلاکتیک وقتی که حساسیت شدید فوری با نوع دیررس همراه بوده باشد، بعلاوه ایجاد آلرژی زودرس غالبا بعلت ناخالصیهای موجود در آنتی ژن تزریقی وبالاخره اشکال در اندازه گیری آن وهمینطور تجربیات مشکل بافت شناسی نزد انسان را نام برد در چند سال اخیر بعداز مطالعات مکانیسم سلولی و بیوشیمیک حساسیت شدید دیررس ــ راههای جدیدی پیداشد که بر مبنای واکنش آنتی ژن و سلولهای حساس بدان بصورت Invitro قرار دارد. درواقع سلولهای لنفوئیدی یک حیوان که بطور اختصاصی با یک آنتی ژن حساس شده اند قادرند سلولهای دیگری که برروی سطح خارجی خود آنتی ژن فوق را دارند تخریب نمایند این همان واکنش Lympho Cytotoxcite است. خصوصیات دیگر سلولهای لنفوسیتی فوق این است که بعد از کشت در حضور آنتی ژنی که مسئول حساسیت بوده است میتوانند موادی با فعالیتهای بیولوژیک مختلف ترشح کنند. این مواد قدرت انتقال حساسیت شدید دیررس را داشته میتوانند جلوی مهاجرت سلولهای پری توان را بگیرند، سلولهای مختلف را لیز کنند، قدرت میتوژنیک روی لنفوسیتهای غیر حساس داشته باشند وبالاخره با ایجاد التهاب در محل تزریق سلولهای تک هسته ای را بطرف خود جلب کنند.

LYNPHOKINES

## مدیاتورهای شیمیائی و ایمنی سلولی یا لنفوکین‌ها

کلمه لنفوکین بوسیله Dumonde و Walstencroft وضع گردید و به پروتئین هائی با فعالیت بیولوژیکی اطلاق میگردد که بعد از کشت لنفوسیتهای حساس شده با آنتی ژن مربوط به دست میآیند. این مواد ایمونوگلوبولین نیستند بنابراین با آنتی کرها تفاوت خواهند داشت وفقط توسط لنفوسیتهای حیوانی ترشح میشوند که از یک ایمنی سلولی یا حساسیت شدید دیررس برخوردار باشند این مواد برخلاف فاکتور ترانسفر بطور پیش رس ساخته شده در لنفوسیتهای حساس شده وجود ندارند. تاکنون

گروه میکروب شناسی و ایمونولوژی دانشکده طوم پایه پزشکی دانشگاه تهران

تعدادزیادی لنفوکین پیدا نموده‌اند که‌ما فقط بذکر چند نوع آن مبادرت مینمائیم ودرمقاله مفصل‌تری در مورداینگونه مواد بحث خواهیم نمود.

۱ ــ فاکتورممانعت کننده یا (مهارکننده) مهاجرت ماکروفاژها ( MIGRATION INHIBITION FACTOR – MIF ) ماده‌ای پروتئینی باوزن‌ملکولی‌حدود ۶۰۰۰۰ که بحالت آزاد درلنفوسیتهای‌حساس شده‌وجودندارد بلکه‌بعد از تاثیر آنتی ژن ایجاد میشود.

۲ ــ فاکتور Transformant یامیتوژنیک. ماده‌ای که در حضور آنتی‌ژن باعث تغییر شکل و ازدیاد لنفوسیتهای غیر حساس نسبت به آنتی ژن فوق میشود.

۳ ــ فاکتور ترانسفر Facteur Transfert . این‌ماده بوسیله Lawrence و Pappenheimer بعدازانکوباسیون‌لنفوسیتهای حساس شده درحضور آنتی ژن پیدا شد. ماده‌ایست قابل دیالیزاز عصاره لنفوسیت انسانی. تزریق آن در غیاب آنتی‌ژن ایجادحساسیت شدید دیررس نزد اشخاص عاری از خصوصیت‌فوق‌نسبت به‌آنتی‌ژنی‌که درکشت لنفوسیتها مصرف شده مینماید.

۴ ــ فاکتور شیمیوتاکتیک Moncyte Chemiotactic Factor این ماده‌باعث مهاجرت‌منوسیتها شده‌ولی بخاطر دارا بودن خصوصیاتی با MIF تفاوت خواهدداشت.

۵ ــ Skin Reactive Factor تزریق‌داخل‌عضلانی ماده فوق به شخصی که حساس شده‌ایجاد واکنش جلدی نوع دیررس مینماید. این واکنش‌بین ۸ تا ۱۶ ساعت به ماکزیمم خود میرسد. امتحان‌محل‌تزریق‌حضورلنفوسیتها و ماکروفاژها را نشان میدهد.

۶ ــ فاکتور سیتولیتیک CYTOLYTIC FACTOR یا لنفوتوکسین‌ماده‌ای که درغیاب‌کمپلمان‌باعث خراب‌شدن یا توقف رشد نسجهای مختلف در حال کشت میشود.

۷ ــ Histamine Releasing Factor ماده‌ای‌که‌باعث‌آزاد شدن هیستامین و مواد شناخته‌شده دیگر از پلاکتها میشود.

۸ ــ ماده‌ای که خصوصیاتی‌نزدیک‌به Interferon دارد.

تست روزت Rosette یا Immuno Cytoadherence

اساس‌این تست‌براین‌مبناست که‌سلولهای‌لنفوئیدی پیش حساس شده میتوانند در محیط مایع،آنتی ژن Corpusculaire ( پیکری) را بدورخود آگلوتینه کنند. سلولهای فوق را در بعضی‌کتب Antigen binding cells مینامند. یکی ازانواع‌این روشها Bacterio adherence خوانده‌میشود وبحالتی‌اطلاق میگردد که در آن لنفوسیتها بعد از حدود یکساعت Incubation باباکتریهامیتوانندآنها رابدورخودآگلوتینه‌کنند‌درصورتیکه آنتی ژن قابل مشاهده نباشد میتوان‌آنرا روی یک Support قرار داد و بدین صورت آنرا بصورت Corpusculaire درآورد. ازموادی‌که‌بعنوان Support استفاده میشوند‌میتوان BENTONITE و یاگلبول‌قرمز رانام برد وبدین وسیله میتوان از آنتی ژنهای گوناگون مثل توبرکولین، ایمونوگلو بولین‌ها و آلرژنهای مختلف استفاده نمود. در اینجابااشاره مختصری فقط یاد آور میشویم که‌بین این‌روزتهای‌اختصاصی وروزتهای غیر اختصاصی از یک طرف وروزتهای طبیعی‌ازطرف‌دیگربایدتفاوت قایل شد زیرا علاوه برلنفوسیتهای‌پیش‌حساس شده‌ماکروفاژهانیز باثابت نمودن آنتی‌کرهای‌سیتوفیل‌بدورخودونتیجتاجلب‌آنتی‌ژن میتوانند ایجادروزت‌نمایندحال‌آنکه‌روزتهای‌بعدازایمنی پذیرنده‌های خاص آنتی ژن حساس کننده را دارند. تست روزت علاوه بر استفاده فوق میتواند در مطالعه سینتیک تولید آنتی کر نیز موردبهره برداری قرار گیرد.

## تست ترانسفورماسیون لنفوبلاستیک Test Transformation Lymphoblastique

روش‌فوق‌براین‌مبناست که‌لنفوسیتهابعداز کشت در حضور آنتی‌ژنها میتوانند تغییرشکل‌داده‌تبدیل‌به‌لنفوبلاست‌بشوند. این‌تغییرشکل باازدیادسلولهاهمراه میباشد. افزایش و تغییر شکل‌لنفوسیتها درچنین‌شرایطی‌بهیچوجه با تشکیل آنتی کر همراه‌نیست ازاین واکنش نزد انواع حیوانات‌و لنفوسیتهائی که‌از پیش‌باآنتی‌ژنهای‌گوناگون‌حساس‌شده‌اند استفاده‌میشود. آنتی‌ژنهائی مثل‌تک‌یاخته‌ایها ــ باکتریها ــ لوورها ــ ویروسها PELLENS ــ داروها ــ پروتئینهای‌مختلف درپیوند اعضاء و آنتی ژنهای مصنوعی. چنین تغییر شکل و افزایش لنفوسیتی‌بوسیله دو دهنده‌لنفوسیت که از نظرآنتی ژنهای نسجی‌ناسازگارندنیزمشاهده‌میشود. بدین‌واکنش‌تغییرشکل‌لنفو

سیتی مختلط یا Mixte میگویند .ونیزچنانچه سلولهای لنفوسیتی یک دهنده طبیعی غیرحساس در حضور برخی محرکهای غیر اختصاصی مثل فیتوهموآگلوتینین یا PHA ویا صاف شده کشت استافیلوکوک ـ استرپتولیزین S ـ سرم آنتی ـ لنفوسیت یا سرم آنتی ایمونوگلوبولین کشت داده شود تغییر شکل لنفوسیتی ملاحظه میگردد . PHA

مکانیسم پدیده فوق را بطور بسیار مختصر بعد از تاثیر بر روی لنفوسیتهای طبیعی در اینجا بازگو میکنیم .

چنددقیقه بعدازافزودن PHA موادزیردر لنفوسیتها افزایش مییابند . منوفسفات آدنوزین ـ آدنیل سیکلاز ـ لیپیدها ـ فسفریلاسیون نوکلئوپروتئین‌ها ـ استیلاسیون ـ هیستونها و پینوسیتوز . یکساعت بعد سنتز اسیدهای ریبونو کلئیک ومخصوصا RNA ریبوزومیک افزایش مییابد . قابلیت نفوذ لیزوزومها و سنتزپروتئینها نیز زیاد میگردد .

۲۴ ساعت بعد گلیکوژنهای داخل سلولی زیاد میشوند و ۳۶ ساعت بعد دخول تیمیدین درترکیب DNA افزایش پیدا میکندو این خودوسیله‌ایست که بتوان بااستفاده از تیمیدین نشاندارپی به افزایش تعداد لنفوسیتها برد . بوسیله میکرو سینماتوگرافی میتوان تغییر شکل لنفوسیتهای کوچک را به لنفو سیتهای بزرگ بلاستیک مشخص ساخت .سلولهای اخیر دارای هسته بزرگ باکروماتین روشن و نوکلئول‌های مشخص هستند . سیتو پلاسم آنها غلیظ بوده که بوسیله میکروسکوپ الکترونیک وجودپلی‌ریبوزومهای زیادی را در آن ها تشخیص داده‌اند .

سلولهای فوق عاری ازدستگاه رتیکولوآندوپلاسمیک هستند . همین سلولها بعد از ۱۱ تا ۱۲ ساعت شروع به تقسیم شدن میکنند . بعلاوه به‌دو نکته نیزاشاره مینمائیم که اولا نظر غالب مولفین براین است که در واکنش فوق لنفوسیتهای تابع تیموس یا لنفوسیت T متحمل تغییرشکل میشوندزیرا برداشتن تیموس موش در بدوتولد باابرداشت Drainage لنفوسیت ازمجرای توراسیک وبالاخره استفاده از سرم آنتی لنفوسیت اختلالات زیادی در واکنش فوق ایجاد مینماید .ثانیا علت این تغییر شکل ترشح ماده‌ای بوسیله سلولهای T است که بدان فاکتور تغییر شکل دهنده یا Facteur Transformant میگویند .

## تست ممانعت ازمهاجرت سلولهای پریتوان

وقتیکه سلولهای مایع پریتوان یک کوبای را در داخل یک لوله موئی قرارداده و لوله فوق را بصورت افقی بداخل یک بوات دوپتری که محتوی محیط کشت میباشد چسبانده و در اوتو ۳۷ درجه بگذاریم سلولهای محتوی لوله موئی فوق بعد ازمدتی ( از ۴ ساعت تا ۲۴ ساعت ) بخارج از لوله مهاجرت میکنند . هرگاه سلولهای فوق رااز یک کوبای که قبلا بوسیله توبرکولین حساس شده است انتخاب نمائیم مهاجرت سلولهای محتوی لولد موئی در حضور توبرکولین بطور نسبی متوقف میشود . توقف مهاجرت سلول‌های داخل لوله موئین بستگی بدرجه حساسیت آنهاومقدارآنتی ژن درمحیط کشت دارد . درحالیکه هیچگونه تغییری درحضورآنتی ژن دیگرپیدا نمیگردد و حتی سلولهای حیوانی که بعد ازتزریق آنتی ژن تولید آنتی کرنموده و ایجاد حساسیت شدید دیررس ننموده‌اندنیز بصورت طبیعی درحضور آنتی ژن اختصاصی خود درچنین شرایطی مهاجرت مینمایند . بنابراین ممانعت ازمهاجرت لنفوسیتها درشرایط فوق واکنش اختصاصی وابسته به حساسیت شدید دیررس است . مطالعات متعدد برروی سلولهای مایع پریتوان نشان داده‌اند که سلول مهاجرت کننده ماکروفاژها بوده و لنفوسیتها بر عکس باعث ممانعت مهاجرت سلولی میشوند این ممانعت مهاجرت سلولی تحت تاثیر ماده‌ای بنام Migration Inhibition Factor انجام میگیرد .

مولفین سلولهای T را مسئول ترشح ماده فوق میدانند . اخیرانوع دیگری ازاین تست متداول گردیده که درآن بجای سلولهای مایع پریتوان ازسلولهای مایع پلاسما استفاده میشود . در واقع تصورمیکنند که مونوسیتها ولوکوسیتهای خونی قدرت جایگزینی ماکروفاژهاولنفوسیتهای روش قبلی راخواهند داشت . ماده‌ای که باعث جلوگیری از مهاجرت سلولی میشود بنام یا Leukocyte Inhibition Factor خوانده میشود .

## پدیده سیتولیتیک

کشت لنفوسیتهای حساس شده بایک آنتی ژن قدرت تخریب سلولهائی را خواهد داشت که از آنتی ژن فوق پوشیده شده باشد . براین مبناروشهای متعددی درست کرده‌اندکه خصوصیت

فوق‌را بتواند بصورت In-Vitro نشان بدهد. وقتی سگی‌را بوسیله‌پیوند یک‌کلیه Allogenrique حساس بکنیم لنفوسیتهای‌سگ فوق قادر خواهند بود کشت‌سلولهای کلیوی سگ‌دهنده کلیه‌را تخریب‌نمایند بهمین صورت وقتی‌یک‌حیوان نسبت به توبرکولین حساسیت نشان میدهد لنفوسیتهای آن حیوان‌قدرت‌تخریب‌سلولهای‌فیبروبلاستی راکه با توبرکولین پوشیده‌شده باشددارند. یا اگربخواهیم لنفوسیتهای حیوان غیرحساسی‌را بوسیله فیتوهموآگلوتینین‌یا PHA تحریک بکنیم قدرت‌تخریب‌گلبولهای‌قرمزجوجه‌ای راکه‌بالنفوسیتهای فوق‌کشت داده‌بشوند خواهندداشت. باتوجه‌بهمه این‌حالات مختلف‌میتوان‌دونوع‌واکنش برای‌پدیده سیتولیتیک (تخریب نسجی) بیان داشت.

۱ ــ واکنشی‌که بوسیله Perlman, Holm بیان شده وخصوصیت‌ایمونولوژیکی‌ندارد، تنهانتیجه تاثیرلنفوسیتهای فعال شده بوسیله یک تحریک کننده‌غیراختصاصی‌است.

۲ ــ واکنشی‌که بوسیله Brunner و Feldman وهمکارانش‌بیان شده که رابطه‌زیادی با خصوصیت آنتی‌ژنیک دارد.

بهرحال‌خاصیت‌سیتولیتیک‌ارتباط با افزایش و تغییرشکل لنفوسیتها داردولی‌نتیجه‌آن نیست. بعبارت واضحتر هرگاه که تغییر شکل و افزایش لنفوسیتی ایجاد میشود لنفوسیتهای حاصل حتما قدرت سیتولیتیک نخواهند داشت.

## استفاده‌های عملی از تست های فوق

۱ ــ کمبودایمنی‌خواه Humorale خواه سلولی‌مثل Luyhocyto phtisie یا آگاماگلوبولینمی‌لنفوپنیک نوع Suiss سندرم Dr. Gerorge بیماری Nazelof Ataxie telangiectasie Viscott-Aldrich سندرم Sareoidose Besnier Boeck هیپوگاماگلوبولینمی Schaumann ارثی ــ لوسمی لنفوئید مزمن ــ بیماری‌هوچکین Schaumann Sareoidose Besnier Boeck

۲ ــ مطالعه ایمونودپرسورها ــ برای‌مطالعه تاثیر ایمونودپرسور معمولا از ۳ روش زیر استفاده میشود.

۲ــ۱ ــ مطالعه‌تاثیرایمونودپرسورها مستقیما برروی‌لنفوسیتهای طبیعی.

۲ــ۲ ــ مطالعه تاثیر سرم اشخاصی که تحت تاثیر ایمونو ــ دپرسورها قرار گرفته‌اند بر روی لنفوسیتهای طبیعی.

۲ــ۳ــ مطالعه‌تاثیرایمونودپرسورها برروی‌لنفوسیتهای‌بیمارانی که تحت تاثیر ایمونودپرسورها قرار گرفته‌اند.

۳ ــ در پیوند اعضاء.

۳ــ۱ــ خواه‌برای‌اندازه‌گیری‌درجه سازگاری‌نسجی بین‌دهنده وگیرنده نسج.

۳ــ۲ ــ خواه‌مطالعه‌پاسخ ایمنی‌گیرنده‌نسبت به نسج یا عضو پیوند شده.

۴ ــ در اوتوایمونیته.

برای مطالعه لنفوسیتهای بیمار در حضور آنتی ژنها.

۵ ــ آلرژیها: در موارد مختلف آلرژی زود رس یا دیررس.

در تنظیم این مقاله از سخنرانیهای مولفین زیر استفاده شده‌است.

| | |
|---|---|
| F.T. VALANTINE | " نیویورک " |
| J.F. BACH | " پاریس " |
| J.P. LAMELIN | " ژنو " |
| G. BERKE | " اسرائیل " |
| R.A. WOLSTENCROFT | " لندن " |
| J.P. REVEILLARD | " لیون " |