

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

دکتر احمد مسعود - دکتر غلامرضا نظری - دکتر فریدون علاء
حسین پاشا عمادی - دکتر ناصر علی سیادت

۱ - مقدمه

بیماری جذام از یک نظر شبیه بیماری‌هایی مثل سل، بروسلاز، هیستوپلاسموز است که در آنها عموماً با سیل عامل بیماری در ماکروفاژها مخفی شده‌اند. از نظر بالینی بیماری مزبور بصور مختلف مثل اشکال توبرکلوئید، لپروئید و غیره دیده می‌شود. تظاهرات بیماری احتمالاً مربوط به یک سری مکانیسم‌های ایمنولوژیک می‌باشند که بدو صورت ایمنی سلولی و ایمنی هومورال ملاحظه می‌گردند. دپرسیون Depression ایمنی سلولی در بیمارانی که مبتلا به شکل لپروماتوز بیماری هستند می‌تواند از راه‌های ژنتیکی تا اندازه‌ای مشخص بشود. بدین معنی که به نسبت‌های متغیر در بیماران مبتلا به شکل لپروماتوز برخی از آنتی‌ژنها قادر به ایجاد حساسیت شدید دیررس می‌باشند. با اینحال در افرادی که مبتلا به شکل توبرکلوئید بیماری هستند دپرسیون ایمنی 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. (۲-۳-۴)
۱- نسبت به تزریق داخل پوستی لپرومین واکنش منفی نشان می‌دهند.

۲- تزریق داخل پوستی آنتی‌ژن‌های باکتریایی به‌این گونه بیماران حساسیت شدید سلولی چندان مهمی نشان نمی‌دهد.
۳- انجام پاچ تست Patch Test بادی‌نیترو کلرو بنزین DNCB قدرت ایجاد واکنش حساسیت شدید دیررس مهمی ندارد.
۴- چنانچه باینگونه افراد پوست آلوژنیک پیوند شود قدرت حیات آن بیشتر خواهد بود. (۱)
با وجود خصوصیات فوق‌پاسخ In-Vitro لنفوسیت‌های اینگونه افراد در حضور فیتوهم‌آگلوتنین PHA ضد و نقیض است و عده‌ای این واکنش را مثبت و برخی آن را منفی میدانند. 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 شرایط آزمایشگاهی و اقلیمی و خصوصیات بیماران را پاسخ سلولی را در حضور PHA مورد مطالعه قرار دهیم.

۲- بیماران و افراد شاهد

تعداد ۵۳ بیمار جذامی از مرکز تحقیقات پوستی جمعیت

گروه میکروشناسی و ایمنولوژی دانشکده علوم پایه پزشکی - دانشگاه تهران
سازمان ملی انتقال خون ایران و جمعیت کمک جذامیان.

بدان اضافه نموده بودیم می‌گذاریم. در محیط‌های شاهد آنتی ژنی اضافه نکردیم - برعکس در محیط‌هایی 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 بیشتریه رفرانس‌های انتهای این مقاله می‌توان مراجعه نمود.

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

۴- نتایج

۴-۱ 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 توپرکولوئید بیماری بوده‌اند به ترتیب عبارتند از ۳۶٪ و ۲۵٪ حال آنکه تعداد متوسط سلول‌های T در بیماران مبتلا به شکل لپروئید بیماری عبارت است از ۲۸٪ 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).

۴-۲ 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 عموماً 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 توپرکولوئید بیماری بوده است اندکس مهاجرت لوکوسیتی برابر ۸۱٪ داشته‌ایم. برعکس عموم بیماران در حضور ۲٪ میلی لیتر PHA در هر سانتی متر مکعب از محیط کشت سلولی اندکس مهاجرتی بیش از ۸۰٪ داشته‌اند و فقط ۳ بیمار از تعداد ۷ بیمار که مبتلا به شکل توپرکولوئید بیماری بوده‌اند اندکسی کمتر از ۸۰٪ داشته‌اند. بعکس در ۱۵ مورد شاهدی که مورد آزمایش قرار گرفته‌اند همگی در حضور ۱٪ و ۲٪ میلی لیتر از PHA در میلی لیتر محلول ۱۹۹ TC اندکسی کمتر از ۸۰٪ نشان دادند. (تابلو ۳)

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 به شکل لپروماتوز ۲۳ نفر بقیه جزء شکل توپرکولوئید - بیماری گزارش شده‌اند (تابلو ۱) - کلیه بیماران آنطور که گزارش شده است بهنگام آزمایش تحت درمان با مواد ضد - 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 - اشکال بالینی بیماری

توبرکولوئید	لپروئید	تعداد بیماران
۲۳	۳۰	۵۳

جنس بیمار

زن	مرد	تعداد بیماران
۱۳	۴۰	۵۳

۳- روش کار

۳-۱ نحوه جدا نمودن لنفوسیت‌ها و تشخیص لنفوسیت‌های T و B

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

۳-۲ تست مهاجرت لوکوسیتی در حضور PHA

برای این منظور ۱۰ میلی متر مکعب از خون هیپارینه 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 ۱۹۹ TC که ۱۰ درصد سرم اسب

تابلو ۳ - متوسط اندکس مهاجرت لوکوسیتی در حضور PHA			تابلو ۲ - درصد لنفوسیت های T و B در خون محیطی افراد طبیعی و بیمار		
در ۹ بیمار و ۱۰ نفر از افراد طبیعی					
غلظت PHA	0/01 ml PHA/ml	0/02ml PHA/ml	لنفوسیت های T	لنفوسیت های B	
شکل توپرکلوئید	۷۳%	۴۸%	شکل توپرکلوئید	۳۶	۲۰
شکل لپروئید	۱۰۰	۶۵%	شکل لپروئید	۳۸	۲۱
افراد طبیعی	۳۴%	۱۹%	افراد طبیعی	۶۰	۲۵

- بحث

در شکل لپروئیدی بیماری فعالیت بیشتری خواهند داشت و یا در شکل - توپرکلوئیدی؟

زیرا ظاهراً کمبود سلولهای T در بیماران جذامی میبایست توجه کننده کاهش پاسخ 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). عبارت دیگر توجه ایمنولوژیک این مسئله بدان صورت خواهد بود که مقدار فاکتور ممانعت کننده مهاجرت لوکوسیتی یا $\text{Leukocyte inhibitory Factor} = \text{LIF}$ که فعالیتی مشابه $\text{Macrophage inhibitory Factor} = \text{MIF}$ دارد در این بیماران کمتر از افراد طبیعی بوده است.

بعبارت واضح تر در افراد سالم بعلت و فور نسبی سلولهای T در حجم مساوی در محیط کشت امکان ترشح ماده فوق فراهم تر بوده است و حال آنکه در بیماران این امکان کمتر شده است.

از طرف دیگر در کنفرانس که پروفیسور TURK اخیراً در تهران ایراد کردند حضور داشتیم. ایشان ضمن جداولی که ارائه کردند معتقد بودند انفیلتراسیون لنفوسیتی و بالطبع حساسیت شدید دیررس در شکل توپرکلوئیدی بیماری نقش مهمتری دارد - بهمین جهت تست لیرومین و DNCB در بیماران گروه فوق بخوبی پاسخگو خواهد بود - برعکس در حدود ۹۵٪ از بیماران مبتلا به شکل لپروئید بیماری آنتی - کرای پر سپیتان پیدا نموده اند و بهمین ترتیب بنظر Truk (۱۲) درصد اوتوآنتی کر در بیماران توپرکلوئیدی حدود ۳ تا ۱۱٪ بوده است و حال آنکه تعداد اوتوآنتی کر در بیماران شکل لپروئیدی به حدود ۳۰ تا ۵۰٪ میرسد. همه این اطلاعات نشان می دهند که شکل توپرکلوئیدی بیماری با تستهای

مطالعه سلولهای T و B در بیماران مبتلا به جذام نشان میدهد که از یکطرف تعداد سلولهای T در این بیماران بشدت کاهش یافته و بمقدار متوسط ۳۶٪ در اشکال توپرکلوئید و ۳۸٪ در اشکال لپروئید رسیده است و حال آنکه تعداد متوسط این لنفوسیتها در افراد طبیعی حدود ۶۰٪ بوده است برعکس در تعداد سلولهای B این بیماران تغییر محسوس دیده نمیشود. کاهش شدید سلولهای T بیماران که نشان دهنده درجه حساسیت شدید سلولی در افراد است تأیید بارزی بر اختلال ایمنی سلولی بیماران است. برعکس بنظر میرسد که در پاسخ ایمنی هومورال این بیماران ظاهراً 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 توپرکلوئید بیماری باشند و در شمارش تعداد لنفوسیت های T بیماران ملاحظه میشود در گروه بیماران لپروئیدی ما تعداد متوسط سلولهای T ۲٪ بیشتر از بیماران توپرکلوئیدی است. چگونه میتوان این مسئله را توجیه نمود. در مقدمه گفتیم که در جذام باسیل عامل بیماری در ماکروفاژها مخفی میشود - این خود میتواند دلیلی بر اختلال ایمنی سلولی باشد - زیرا اختلال در سیستم ماکروفاژها مایل است میتواند باعث اختلال در پاسخ سلولی بشود - از طرف دیگر بنظر من مطالعات کاملتری باید در این مورد انجام بشود تا مشخص گردد که آیا سلولهای T سوپر سور - (Suppressor 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

هومورال با سهولت بیشتری مشخص می‌گردند. با اینحال با اطلاعات عملی وسیعتر، امکانات بیشتر ودقت وتوجه افزونتری باید به بررسی بیماری ای پرداخت که بسیاری از هموعان ما را در کام خود فرو برده و سالهای سال با شکنجه خود لذت زندگی را از آنها سلب ساخته است.

خلاصه

بررسی‌های خود را بر روی خون محیطی ۵۳ بیمار جذامی 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 به شکل توبرکولوئیدی بیماری بوده‌اند. همه بیماران تحت درمان با مواد ضد لپر بوده‌اند. - ۱۰ نفر افراد سالم از میان خون دهندگان سازمان ملی انتقال خون ایران بعنوان شاهد انتخاب شدند.

لنفوسیت‌های T و B بکمک روشهای 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 اندکس مهاجرت لوکوسیتی بیماران و افراد طبیعی در حضور 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 از طرف دیگر کاهش پاسخ تحریکی سلولها بکمک PHA با تست مهاجرت لوکوسیتی نشان دهنده هماهنگی فروافتادن تعداد سلولهای T میباشد.

بنابراین مطالعات ابتدائی که بدین ترتیب گرفته می‌تواند 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 macrophages 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

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