

## روشهای تشخیص ایمنی سلولی

دکتر احمد مسعود

### مقدمه

پیداشد که بر مبنای واکنش آنتی ژن و سلولهای حساس بدان بصورت *Invitro* قرار دارد. در واقع سلولهای لنفوئیدی یک حیوان که بطور اختصاصی با یک آنتی ژن حساس شده اند قادرند سلولهای دیگری که بر روی سطح خارجی خود آنتی ژن فوق را دارند تخریب نمایند این همان واکنش *Lympho Cytotoxicite* 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 در سر را داشته میتوانند جلوی مهاجرت سلولهای پری توان را بگیرند، سلولهای مختلف رالیز کنند، قدرت میتوز نیک روی لنفوسیت های غیر حساس داشته باشند و بالاخره با ایجاد التهاب در محل تزریق سلولهای تک هسته ای را بطرف خود جلب کنند.

### LYMPHOKINES

#### مدیاتورهای شیمیائی و ایمنی سلولی یا لنفوکین ها

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

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. یا اصولاً تولید تولرانس میکند و بالاخره ممکن است به بروز یک حساسیت شدید در سر تکامل ببخشد. تا این اواخر برای مطالعه حساسیت شدید در سر یک گونه تحریک لنفوسیت های تابع تیموسی است راهی جز تزریق متوالی داخل پوستی یا زیر جلدی ماده آنتی ژنیک و بررسی نتایج حاصل را نداشتند. ماده تزریقی که برای مطالعه استفاده میکنند، توپرکولین یا *ppD* (Proteine-pu Mified derivative) است اخیراً مشتقات نیترو بنزن مثل *DNCB* یا دی نیترو کلرو بنزن یا *DNFB* یا دی نیترو فلورو بنزن را استفاده میکنند اما این روش که تزریق مجدد ماده آنتی ژنیک به شخصی که قبلاً بوسیله همین ماده حساس شده چیز دیگری نیست، اشکالات متعددی دارد که بطور خلاصه میتوان از تغییر حالت ایمنی بدن - فرض ایجاد یک واکنش آنافیلاکتیک وقتی که حساسیت شدید فوری با نوع در سر همراه بوده باشد، بعلاوه ایجاد آلرژی زود رس غالباً بعلت ناخالصیهای موجود در آنتی ژن تزریقی و بالاخره اشکال در اندازه گیری آن و همینطور تجربیات مشکل بافت شناسی نزد انسان را نام برد در چند سال اخیر بعد از مطالعات مکانیسم سلولی و بیوشیمیکی حساسیت شدید در سر - راههای جدیدی

گروه میکروب شناسی و ایمنولوژی دانشکده علوم پایه پزشکی دانشگاه تهران

اساس این تست برای مناسبت که سلولهای لنفوئیدی پیش حساس شده میتوانند در محیط مایع، آنتی ژن Corpusculaire (پیکری) را بدور خود آگلوتینه کنند. سلولهای فوق را در بعضی کتب Antigen binding cells مینامند. یکی از انواع این روشها Bacterio adherence خوانده میشود و بحالتی اطلاق میگردد که در آن لنفوسیتها بعد از حدود یکساعت Incubation با باکتریها میتوانند آنها را بدور خود آگلوتینه کنند در صورتیکه آنتی ژن قابل مشاهده نباشد میتوان آنرا روی یک Support قرار داد و بدین صورت آنرا بصورت Corpusculaire درآورد. از موادی که بعنوان Support استفاده میشوند میتوان BENTONITE و یا گلبول قرمز را نام برد و بدین وسیله میتوان از آنتی ژنهای گوناگون مثل توبرکولین، ایمنوگلوبولینها و آلرژنهای مختلف استفاده نمود. در اینجا با اشاره مختصری فقط یاد آور میشویم که بین این روزتهای اختصاصی و روزتهای غیر اختصاصی از یک طرف و روزتهای طبیعی از طرف دیگر باید تفاوت قایل شد زیرا علاوه بر لنفوسیتهای پیش حساس شده ماکروفاژها نیز با ثابت نمودن آنتی کرها سیئوفیل بدور خود و نتیجتاً جلب آنتی ژن میتوانند ایجاد روزت نمایند حال آنکه روزتهای بعد از ایمنی پذیرندههای خاص آنتی ژن حساس کننده را دارند. تست روزت علاوه بر استفاده فوق میتواند در مطالعه سینتیک تولید آنتی کر نیز مورد بهره برداری قرار گیرد.

#### Test Transformation

#### تست ترانسفورماسیون لنفوبلاستیک Lymphoblastique

روش فوق برای مناسبت که لنفوسیتها بعد از کشت در حضور آنتی ژنها میتوانند تغییر شکل داده تبدیل به لنفوبلاست بشوند. این تغییر شکل با ازدیاد سلولها همراه میباشد. افزایش و تغییر شکل لنفوسیتها در چنین شرایطی بهیچوجه با تشکیل آنتی کر همراه نیست از این واکنش نزد انواع حیوانات و لنفوسیتهایی که از پیش با آنتی ژنهای گوناگون حساس شده اند استفاده میشود. آنتی ژنهای مثل تک یاخته ایها - باکتریها - لوورها - ویروسها PELLENS - داروها - پروتئینهای مختلف در پیوند اعضا و آنتی ژنهای مصنوعی. چنین تغییر شکل و افزایش لنفوسیتی بوسیله دو دهنده لنفوسیت که از نظر آنتی ژنهای نسجی سازگارند نیز مشاهده میشود. بدین واکنش تغییر شکل لنفو

تعداد زیادی لنفوکین پیدا نموده اند که ما فقط بذکر چند نوع آن مبادرت مینمائیم و در مقاله مفصل تری در مورد اینگونه مواد بحث خواهیم نمود.

۱ - فاکتور ممانعت کننده یا (مهارکننده) مهاجرت ماکروفاژها (MIGRATION INHIBITION FACTOR - MIF) ماده ای پروتئینی با وزن ملکولی حدود ۶۰۰۰۰ که بحالت آزاد در لنفوسیتهای حساس شده وجود ندارد بلکه بعد از تاثیر آنتی ژن ایجاد میشود.

۲ - فاکتور Transformant یا میتوزنیک. ماده ای که در حضور آنتی ژن باعث تغییر شکل و ازدیاد لنفوسیتهای غیر حساس نسبت به آنتی ژن فوق میشود.

۳ - فاکتور ترانسفر Facteur Transfert. این ماده بوسیله Lawrence و Pappenheimer بعد از انکوباسیون لنفو-سیتهای حساس شده در حضور آنتی ژن پیدا شد. ماده ایست قابل دیالیزاز عصاره لنفوسیت انسانی. تزریق آن در غیاب آنتی ژن ایجاد حساسیت شدید دیررس نزد اشخاص عاری از خصوصیت فوق نسبت به آنتی ژنی که در کشت لنفوسیتها مصرف شده مینماید.

۴ - فاکتور شیمیوتاکتیک Monocyte Chemiotactic Factor این ماده باعث مهاجرت منوسیتها شده ولی بخاطر دارا بودن خصوصیات با MIF تفاوت خواهد داشت.

۵ - Skin Reactive Factor تزریق داخل عضلانی ماده فوق به شخصی که حساس شده ایجاد واکنش جلدی نوع دیررس مینماید. این واکنش بین ۸ تا ۱۶ ساعت به ماکزیم خود میرسد. امتحان محل تزریق حضور لنفوسیتها و ماکروفاژها را نشان میدهد.

۶ - فاکتور سیتولیتیک CYTOLYTIC FACTOR یا لنفوتوکسین ماده ای که در غیاب کمپلمان باعث خراب شدن یا توقف رشد نسجهای مختلف در حال کشت میشود.

۷ - Histamine Releasing Factor ماده ای که باعث آزاد شدن هیستامین و مواد شناخته شده دیگر از پلاکتها میشود.

۸ - ماده ای که خصوصیات نزدیکه به Interferon دارد.

تست روزت Rosette یا Immuno Cytoadherence

### تست ممانعت از مهاجرت سلولهای پریتوان

وقتیکه سلولهای مایع پریتوان یک کوبای را در داخل یک لوله موئی قرار داده و لوله فوق را بصورت افقی بداخل یک بوت دوپتری که محتوی محیط کشت میباشد چسبانده و در اوتو ۳۷ درجه بگذاریم سلولهای محتوی لوله موئی فوق بعد از مدتی ( از ۴ ساعت تا ۲۴ ساعت ) بخارج از لوله مهاجرت میکنند . هرگاه سلولهای فوق را از یک کوبای که قبلا بوسیله توبرکولین حساس شده است انتخاب نمائیم مهاجرت سلولهای محتوی لوله موئی در حضور توبرکولین بطور نسبی متوقف میشود . توقف مهاجرت سلولهای داخل لوله موئین بستگی بدرجه حساسیت آنها و مقدار آنتی ژن در محیط کشت دارد . در حالیکه هیچگونه تغییری در حضور آنتی ژن دیگر پیدا نمیگردد و حتی سلولهای حیوانی که بعد از تزریق آنتی ژن تولید آنتی کرموده و ایجاد حساسیت شدید در بر سر ننموده اند نیز بصورت طبیعی در حضور آنتی ژن اختصاصی خود در چنین شرایطی مهاجرت مینمایند . بنابراین ممانعت از مهاجرت لنفوسیتها در شرایط فوق واکنش اختصاصی وابسته به حساسیت شدید دیررس است . مطالعات متعدد بر روی سلولهای مایع پریتوان نشان داده اند که سلول مهاجرت کننده ماکروفاژها بوده و لنفوسیتها بر عکس باعث ممانعت مهاجرت سلولی میشوند این ممانعت مهاجرت سلولی تحت تاثیر ماده ای بنام Migration Inhibition Factor انجام میگردد .

مولفین سلولهای T را مسئول ترشح ماده فوق میدانند . اخیرا نوع دیگری از این تست متداول گردیده که در آن بجای سلولهای مایع پریتوان از سلولهای مایع پلازما استفاده میشود . در واقع تصور میکنند که مونوسیتها ولوکوسیتهای خونی قدرت جایگزینی ماکروفاژها و لنفوسیتهای پرورش قبلی را خواهند داشت . ماده ای که باعث جلوگیری از مهاجرت سلولی میشود بنام Leukocyte Inhibition Factor خوانده میشود .

### پدیده سیتولیتیک

کشت لنفوسیتهای حساس شده بایک آنتی ژن قدرت تخریب سلولهای را خواهد داشت که از آنتی ژن فوق پوشیده شده باشد . بر این مبنای روشهای متعددی درست کرده اند که خصوصیت

سیتی مختلط یا Mixte میگویند . و نیز چنانچه سلولهای لنفوسیتی یک دهنده طبیعی غیر حساس در حضور برخی محرکهای غیر اختصاصی مثل فیتوهموآگلوتینین یا PHA و یا صاف شده کشت استافیلوکوک - استریپتولیزین S - سرم آنتی - 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 . چند دقیقه بعد از افزودن PHA مواد زیر در لنفوسیتها افزایش مینماید . منوفسفات آدنوزین - آدنیل سیگلز - لیپیدها - فسفریلاسیون نوکلئوپروتئینها - استیلآسیون - هیستونها و پینوسیتوز . یک ساعت بعد سنتز اسیدهای ریونو کلتیک و مخصوصا RNA ریپوزومیک افزایش مینماید . قابلیت نفوذ لیروزومها و سنتز پروتئینها نیز زیاد میگردد .

۲۴ ساعت بعد گلیکوژنهای داخل سلولی زیاد میشوند و ۳۶ ساعت بعد دخول تیمیدین در ترکیب DNA افزایش پیدا میکند و این خود وسیله ایست که بتوان با استفاده از تیمیدین نشان داری 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 با کروماتین روشن و نوکلئولهای مشخص هستند . سیتوپلاسم آنها غلیظ بوده که بوسیله میکروسکوپ الکترونیک وجود پلی ریپوزومهای زیادی را در آن ها تشخیص داده اند . سلولهای فوق عاری از دستگاه رتیکولو آندوپلاسمیک هستند . همین سلولها بعد از ۱۱ تا ۱۲ ساعت شروع به تقسیم شدن میکنند . بعلاوه به دو نکته نیز اشاره مینمائیم که اولاً نظر غالب مولفین بر این است که در واکنش فوق لنفوسیتهای تابع تیموس یا لنفوسیت T متحمل تغییر شکل میشوند زیرا برداشتن تیموس موش در بدو تولد با برداشت Drainage لنفوسیت از مجرای توراسیک و بالاخره استفاده از سرم آنتی لنفوسیت اختلالات زیادی در واکنش فوق ایجاد مینماید . ثانيا علت این تغییر شکل ترشح ماده ای بوسیله سلولهای T است که بدان فاکتور تغییر شکل دهنده یا Facteur Transformant میگویند .

نوع Nazelof Dr. Gerorge Suiss سندرم بیماری  
Ataxie telangiectasie  
Viscott-Aldrich  
سندرم Sareidose Besnier Boeck هیپوگاماگلوبولینمی  
Schaumann  
ارثی - لوسمی لنفوئید مزمن - بیماری هوچکین  
Schaumann Sareidose Besnier Boeck

۲ - مطالعه ایمنونودپرسورها - برای مطالعه تاثیر ایمنونودپرسور معمولاً از ۳ روش زیر استفاده میشود .

۲-۱ - مطالعه تاثیر ایمنونودپرسورها مستقیماً بر روی لنفوسیت‌های طبیعی .

۲-۲ - مطالعه تاثیر سرم اشخاصی که تحت تاثیر ایمنونودپرسورها قرار گرفته‌اند بر روی لنفوسیت‌های طبیعی .

۲-۳ - مطالعه تاثیر ایمنونودپرسورها بر روی لنفوسیت‌های بیمارانی که تحت تاثیر ایمنونودپرسورها قرار گرفته‌اند .

۳ - در پیوند اعضا .

۳-۱ - خواه برای اندازه‌گیری درجه سازگاری نسجی بین دهنده و گیرنده نسج .

۳-۲ - خواه مطالعه پاسخ ایمنی‌گیرنده نسبت به نسج یا عضو پیوند شده .

۴ - در اوتوایمنیته .

برای مطالعه لنفوسیت‌های بیمار در حضور آنتی ژنها .

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

در تنظیم این مقاله از سخنرانیهای مولفین زیر استفاده شده است .

" نیویورک " F.T. VALANTINE

" پاریس " J.F. BACH

" ژنو " J.P. LAMELIN

" اسرائیل " G. BERKE

" لندن " R.A. WOLSTENCROFT

" لیون " J.P. REVEILLARD

فوق‌رایتواند بصورت In-Vitro نشان بدهد . وقتی سگی را بوسیله پیوند یک کلیه Allogenreique حساس بکنیم لنفوسیت‌های سگ فوق‌قادر خواهند بود کشت سلول‌های کلیوی سگ دهنده کلیه را تخریب نمایند بهمین صورت وقتی یک حیوان نسبت به توبرکولین حساسیت نشان میدهد لنفوسیت‌های آن حیوان قدرت تخریب سلول‌های فیبروبلاستی را که با توبرکولین پوشیده شده باشد دارند . یا اگر بخواهیم لنفوسیت‌های حیوان غیر حساسی را بوسیله فیتوهموآگلوتینین یا PHA تحریک بکنیم قدرت تخریب گلبول‌های قرمز جوجه‌ای را که با لنفوسیت‌های فوق‌کشت داده بشوند خواهند داشت . با توجه به این حالات مختلف میتوان دو نوع واکنش برای پدیده سیتولیتیک (تخریب نسجی) بیان داشت .

۱ - واکنشی که بوسیله Perlman, Holm بیان شده و خصوصیت ایمنولوژیکی ندارد ، تنها نتیجه تاثیر لنفوسیت‌های فعال شده بوسیله یک تحریک کننده غیر اختصاصی است .

۲ - واکنشی که بوسیله Brunner و Feldman و همکارانش بیان شده که رابطه زیادی با خصوصیت آنتی ژنیک دارد .

بهر حال خاصیت سیتولیتیک ارتباط با افزایش و تغییر شکل لنفوسیتها دارد ولی نتیجه آن نیست . عبارت واضحتر هرگاه که تغییر شکل و افزایش لنفوسیتی ایجاد میشود لنفوسیت‌های حاصل حتماً قدرت سیتولیتیک نخواهند داشت .

#### استفاده‌های عملی از تست های فوق

۱ - کمبود ایمنی خواه Humorale خواه سلولی مثل Luyhocyto phtisie یا آگاماگلوبولینمی لنفوپنیک