

## تعیین گروه‌های لکوسیتی و اهمیت آن در پیوند اعضا

سیستم H. L. A یا Tissue Typing

دکتر بهروز نیک‌بین مقدم\*

و بخصوص پس از دریافتن این مطلب که آنتی ژنهای لکوسیتی آنتی ژنهای بافتی نیز میباشند [۴ و ۵] اهمیت تعیین آنها در امر پیوند که روز بروز رو به فزونی است روشن شد و تحقیقات دامنه دار و وسیع دانشمندان در ده سال اخیر منجر به تشخیص آنتی ژنهای لکوسیتی زیادی شده و سبب جمع آوری و طبقه بندی آنها بصورت گروه‌های واقعی شده است.

دربدو امر تحقیقات جداگانه و انفرادی دانشمندان در کشورهای مختلف سبب نامگذاری‌های مختلف شده بود همچنان تعداد آنتی ژنها و پلی‌والان بودن آنتی کور های مشخص شده در نزد پلی‌ترانسفوزها و یا زنان مولتی‌پار ( Multipart ) تولید اشکالاتی میکرد در چند سال اخیر برای از بین بردن این پراکندگی و بین المللی نمودن تحقیقات و نامگذاری این سیستمها کوششهای زیادی شده است همچنین تحقیقات دقیقی که از نظر ژنتیک و انتال ژنتیکی این سیستمها انجام شده به روشن شدن و آشنائی بیشتر سیستم‌های لکوسیتی کمک کرده است .

### آنتی ژنهای لکوسیتی:

لکوسیتها هم مثل همه بافتهای دیگر حامل آنتی ژنهای مخصوص رده خود میباشند. از سال ۱۹۵۰ این خصوصیات بوسیله بسردکا (Besredka) یادآوری شده بود و لشکه (Leschke) در ۱۹۱۳ بخوبی این مسأله را مطالعه کرده

مطالبی که در زیر میآید خلاصه‌ای است درباره تعیین گروه‌های لکوسیتی و اهمیت آن در پیوند اعضا و درمان لکوپنی‌ها: باین منظور مقدمه‌ای درباره گروههای لکوسیتی پیوند و اهمیت ایمونوهما-تولوژی در سالهای اخیر و تعیین گروه‌های لکوسیتی (سیستم H.L.A) در انتخاب دهنده و گیرنده عضو شرح داده خواهد شد و در خاتمه کارهایی که در بخش ایمونولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه تهران در این مورد بانجام رسیده بیان میشود.

ترانسفوزیون خون از مدت‌ها پیش رایج شده و بعد از تشخیص گروه‌های خونی ABO و پی بردن به فاکتور Rh روز بروز اهمیتی بیشتر پیدا کرد بطوریکه در حال حاضر دیگر بصورت روتین در آمده است در صورتیکه ترانسفوزیون لکوسیت و پلاکت نسبت به خون کامل هنوز مراحل اولیه خود را طی میکنند و فقط مراکز کاملاً مجهز اقدام باین عمل میکنند و مخصوصاً در سالهای اخیر که شیمیوتراپی سرطانها در مراحل نهائی و لوسمی‌ها اهمیت بیشتری پیدا کرده لزوم ترانسفوزیون لکوسیت و پلاکت نیز بعلت لکوپنی و ترمبوسیتوپنی که این درمانها بوجود میآورند اهمیت پیدا کرده است.

پس از مدت‌ها که تحقیقات در باره سیستم گروه‌های لکوسیتی بطور پراکنده و بظاهر بدون ارزش عملی انجام میشد مبحث گروه‌های لکوسیتی در سالهای اخیر بخصوص پس از پی بردن به اهمیت و ارزش تعیین آنها از نظر ترانسفوزیون لکوسیت

این ژنها که سیستم HLA را تشکیل می‌دهند هیچ نوع ارتباطی با ژنهای گروه‌های اریتروسیتی M.N.S و Rh، ABO و غیره و همچنین گروه‌های سربیک (گاما گلوبولینها) ندارند. اختصاصی بودن همه این آنتی‌ژنها قطعی نیست و بخصوص بعضی از آنتی‌ژنها بعلاوه دارا بودن واکنش متقاطع جلب توجه محققین را کرده‌اند. بهمین دلیل است که بعضی از آنتی‌کرها ی پلی‌والان قادرند بر سلولهای مختلفی که حامل آنتی‌ژنهای مربوط به آلهای یک لوکوس میباشند اثر کنند [۹].

۲۷ آنتی‌ژن سیستم HLA که تا بحال شناخته شده‌اند از نظر ژنتیک در روی دو لوکوس قرار دارند باین ترتیب هر فرد دارای یک فنرتیپ میباشد که شامل حداکثر چهار آنتی‌ژن HLA است و یک ژنوتیپ که از دو هاپلو تیپ که مربوط به دو کوموزم HLA میباشد. بعضی از این آنتی‌ژنها بوسیله هر دو متد Leucoagglutination و Lymphocytotoxicity و بعضی دیگر فقط بوسیله یکی از این دو متد شناخته شده‌اند [۹ و ۱۶].

پیدایش آنتی‌کرها ی آنتی‌لکوسیت و آنتی‌پلاکت اغلب در اثر ایمنو نیزاسیون بین جنین و مادر (Foeto\_Maternelle) و یا ترانسفوزیونهای متعدد میباشد [۱، ۴، ۷، ۸ و ۹]. باین ترتیب منبع اصلی آنتی‌کرها زنان مولتی‌پار و پلی‌ترانسفوزها میباشد. اکثر پلی‌ترانسفوزها به مقدار فراوان دارای این آنتی‌کرها میباشند ولی اکثراً بعلاوه پلی‌والان بودن کمتر میتوانند مورد استفاده قرار بگیرند.

#### پیوند اعضا:

پیوند سلول و یا عضو مبحثی از درمان را شامل میشود که در حال رشد و پیشرفت فوق‌العاده سریعی است. در حقیقت اولین پیوندی که به طور رایج انجام شد و میشود و از آن میتوان یاد کرد ترانسفوزیون خون میباشد ولی این یک پیوند حقیقی نیست یعنی نوعی پیوند موقتی است که گیرنده را از یک وضع خطرناک نجات میدهد تا اینکه سلولهای سازنده اش بتدریج کمبود پیش آمده را جبران کنند و اگر در مورد همین پیوند ساده و بسیار رایج هم تدابیر اولیه، که عبارت از همان انتخاب دهنده مناسب یعنی سازگاری سیستم ABO و Rh میباشد، در نظر گرفته نشود نه فقط نتیجه مطلوب گرفته نخواهد شد حتی باعث نابودی گیرنده نیز میشود. بطور کلی میتوانیم پیوندها را به دو دسته حقیقی و غیر حقیقی تقسیم بندی کنیم که در دسته

است. این مؤلف با ایمنو نیزه کردن خرگوش بر علیه انسان واسب نشان داد که سرم این خرگوشها بر روی لکوسیت‌های رده‌ای که بر علیه آن ایمنو نیزه شده‌اند اثر میکنند در عین حال این خصوصیت رده‌ای مطلق نیست و اشتراک آنتی‌ژنی بین لکوسیت‌های انسان و بعضی از حیوانات نشان داده شده است [۱۵]. لکوسیتها علاوه بر آنتی‌ژنهای رده‌ای که در سایر اعضا و بافتها یافت میشود دارای آنتی‌ژنهای مخصوص بخود نیز میباشد که آنها را از سایر عناصر خونی و همچنین اعضا بدن مشخص میکند. علاوه بر این خصوصیات سلولی بین انواع مختلف لکوسیتها نیز میتوان اختلاف آنتی‌ژنی یافت از آنجمله بین گرانولوسیتها و لنفوسیتها [۴، ۱۰]. بالاخره لکوسیتها را میتوان بصورت گروه‌های لکوسیتی و جدا از گروه‌های مشترک لکوسیتی و اریتروسیتی و به تنهایی دسته بندی کرد.

کاملاً روشن است که لکوسیتها حامل آنتی‌ژنهای A و B و یا AB مربوط به گروه‌های ABO میباشند ولی تا بحال نشان داده نشده است که لکوسیتها حامل آنتی‌ژنهای Rh باشند و اینطور که تا بحال ثابت شده فاکتورهای Rh فقط مختص به گلبولهای قرمز میباشند و روی این اصل در تعیین گروه‌های اکوسیتی و انتخاب دهنده و گیرنده مناسب در پیوند تشابه Rh در درجه دوم اهمیت قرار دارد و عملاً در نظر گرفته نمیشود. [۴ و ۱۳]

#### سیستم H.L.A:

همانطور که قبلاً ذکر شد آنتی‌ژنهای لکوسیتی آنتی‌ژنهای بافتی نیز میباشند که در نتیجه رل مهمی در واکنشهای هیستو کمپاتیبیلیته (Histocompatibilite) دارند [۳ و ۹]. بهمین دلیل تعیین و پیدا کردن این آنتی‌ژنها در امر پیوند اهمیتی بسیار یافته است. با تحقیقات و جستجوهای که تا بحال از نظر ژنتیک انجام شده توانسته‌اند این آنتی‌ژنها را در یک گروه با سم سیستم H.L.A دسته بندی و نامگذاری کنند. گرچه امکان وجود دسته بندیهای دیگر نیز هست ولی تا بحال موفق به پیدا کردن سیستمهای دیگر نشده‌اند [۲ و ۳].

تا بحال حداقل ۲۷ آنتی‌ژن از سیستم H.L.A پیدا شده است. تحقیقات ژنتیکی فامیلی نشان داده‌اند که بعضی از این آنتی‌ژنها تحت تأثیر ژنهای متناوب در روی دو لوکوس که خیلی نزدیک بهم در روی یک کروموزوم میباشند قرار دارند.

داشت و امروز دیگر در هیچ جای دنیا بدون تعیین سیستم HLA و مقایسه سازگاری گیرنده و دهنده عمل پیوند انجام نمی‌شود. بهمین دلیل انتخاب دهنده مناسب ضروری است. انتخاب دهنده در وهله اول بر روی مطالعه گروه لکوسیتی (سیستم HLA) گیرنده و دهنده قرار دارد. هنگامیکه عضو از یک دهنده داوطلب که فامیل گیرنده است گرفته می‌شود امکان انجام تست‌های مختلف سازگاری وجود دارد تا نزدیکترین داوطلب انتخاب شود ولی در مواردی که عضو از جسد برداشته می‌شود شرایط و امکان انجام تست‌های مختلف کمتر است و فقط از دو متد ( لئوسیتو توکسیک ولو کو آگلوتیناسیون) استفاده می‌شود.

اکنون دیگر کاملاً روشن شده است که موفقیت در امر پیوند کلیه در مرحله اول بستگی به در نظر داشتن و مراعات سازگاری گروه‌های ABO و HLA دارد. موقعیکه دهنده جسد می‌باشد آزمایش‌های زیربایستی انجام شود: اول تعیین گروه‌های ABO و HLA سیستم لکوسیتی دهنده، سپس جستجو در لیست گیرنده‌های در حال انتظار که قبلاً گروه ABO و HLA آنها مشخص شده و انتخاب نزدیکترین گیرنده از نظر ژنتیکی یعنی اولاً تشابه گروه ABO که صددردبایستی رعایت شود و کاملاً مشابه باشد. ثانیاً تشابه ویانزدیکی خیلی زیاد سیستم HLA و بعد از این مرحله، تست سازگاری (Cross match) بین لئوسیت‌های گیرنده و دهنده را انجام می‌دهیم.

برقراری این سازگاری بستگی به دوسری آنتی ژن دارد که دو نوع ناسازگاری مشخص و پتانسیل (نسبی) را بوجود می‌آورند. اول ناسازگاری مشخص (آنتی ژن‌های موجود در نزد دهنده و نبودن آنها در گیرنده) دوم ناسازگاری نسبی (آنتی ژن‌های ناشناخته و یا مشکوک) [۹].

همانطور که در مقدمه ذکر شد مادست بکار تعیین گروه‌های لکوسیتی در بخش ایمونولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه تهران شده‌ایم، اساس کار ما تعیین گروه‌های لکوسیتی به روش Leucoagglutination و Lymphocytotoxicity میباشد (روشی که اکثر مراکز بزرگ جهانی پیوند دارند). خلاصه تکنیکی که بکار می‌بریم از این قرار است:

۱- روش لوکو آگلوتیناسیون: پس از جدا کردن لکوسیت‌های شخص مورد نظر (با تکنیک خاص) آنها را با آنتی سرم‌های مختلف مجاور می‌کنیم و پس از رنگ آمیزی چنانچه

دوم مثل غضروف و قرنیه چشم چون اصولاً عضو پیوند شده با بدن گیرنده تماس مستقیم ندارد یعنی در اعضای پیوندی خون جریان ندارد و ارتباطی بین آنتی ژن‌های پیوندی و سلول‌های آنتی کرساز گیرنده برقرار نمی‌شود، در نتیجه خطر ایمونیزاسیون و پس زدن پیوند نیز وجود ندارد و یا اینکه پیوندها موقتی می‌باشند تا اینکه سلول‌های سازنده گیرنده جبران کمبود موجود را بنمایند مثل همان ترانسفوزیون خون و یا پیوند استخوان.

و اما در پیوندهای حقیقی سلول‌های عضو پیوند شده در داخل بدن گیرنده به زندگی ادامه می‌دهند و منظور بس وجود آوردن یک وضع دائمی است که عضو پیوندی جای عضو نابود شده را بگیرد. در حقیقت در این نوع پیوند مخلوطی بس وجود می‌آید از دو نوع سلول مختلف باریشه ژنتیک مختلف که در جوار هم زندگی می‌کنند. پس برای توفیق بایستی شرایط و امکانات زیادی را در نظر گرفت. این مطاب در مورد تمام پیوندها می‌تواند صادق و قابل اجرا باشد. انجام پیوندهای مختلف بخصوص کلیه که تعداد زیادی از آنها با موفقیت همراه بوده است از مرحله آزمایشی گذشته و وارد مرحله عملی خود شده است. ولی موفقیت کامل این پیوندها بستگی بس وجود یک حالت تولرانس ایمونولوژیکی دائمی دارد [۱۶ و ۱۷] از سالها قبل تحقیقات زیادی درباره پیوند اعضا در انسان شده است و این تحقیقات نشان داده‌اند که سازگاری پیوند بستگی مستقیم به ارتباط ژنتیک موجود بین دهنده و گیرنده دارد [۱۵ و ۱۶]. هنگامیکه این دو از نظر ژنتیک متفاوتند پیوند پس زده می‌شود. عمل ایمونولوژیکی پس زدن پیوند در اثر تحریک شدن سلول‌های آنتی کرساز گیرنده بسوسيله آنتی ژن‌های دهنده میباشد. این واکنش را میتوان بسوسيله آماده نمودن قبلی مریض از نظر ایمونولوژیکی و انتخاب نزدیکترین دهنده از نظر ژنتیک از راه تعیین گروه‌های لکوسیتی (سیستم HLA) تا اندازه‌ای جلوگیری نمود.

همانطور که قبلاً ذکر شد چون آنتی ژن‌های لکوسیتی آنتی ژن‌های هیستو کمپاتیبیلیته می‌باشند این امر مهم و اساسی است که برای انتخاب دهنده و گیرنده هر چه نزدیکتر بهم، برای یک پیوند آلورنی تعیین سیستم گروه‌های لکوسیتی و مقایسه گروه‌های دهنده و گیرنده و انتخاب نزدیکترین آنها را به هم بایستی در نظر

آگلوتیناسیون ایجاد شود نتیجه مثبت است در غیر این صورت نتیجه منفی است.

۲- در روش لئوسیتو توکسمیسه 4: پس از جدا کردن لئوسیتها ( در این روش نیز تکنیک خاص برای جدا کردن بکار برده میشود) آنها را با آنتی سرمهای مختلف مجاور میکنیم و پس از رنگ آمیزی (باروش دیگر) چنانچه آنتی ژن مربوطه در روی لئوسیتها موجود باشد در اثر تأثیر آنتی سرم مربوطه با آن، خاصیت نفوذ پذیری لئوسیتها زیاد شده در نتیجه لئوسیتها رنگ میگیرند و بسته به تعداد لئوسیتهای رنگ شده مثبت قوی و یا ضعیف خواهیم داشت و معمولاً اگر تایست درصد از لئوسیتها رنگ شوند منفی است و از آن به بعد مثبت بحساب میآید. و ما برای اطمینان از آنتی سرمهایی که در حال حاضر داریم گفت مورد آزمایش کردیم که نتیجه مطلوب بدست آمد و آماده برای قبول Typing میباشیم. برنامه ما باین ترتیب خواهد بود: مراکز که گیرنده در حال انتظار دارند، با تماس گرفته و خون گیرنده مورد نظر را با قید فوریت از نظر احتیاج به عضو پیوندی برای ما میفرستند و ما پس از تعیین گروه لکوسیتی سرم این گیرنده را نگاه میداریم و لیستی از افراد در حال انتظار با قید فوریت از نظر احتیاج و مرکز درمانی فرستنده خواهیم داشت و سپس مراکز اورژانس (جراحی وغیره) که امکان دادن عضو را دارند با ما تماس میگیرند و خون دهنده مورد نظر را با وسائلی که ما در اختیارشان خواهیم گذاشت برای ما خواهند فرستاد

که پس از تعیین گروه لکوسیتی و مقایسه با نزدیکترین گیرنده (البته با ارجحیت به گیرنده های مشابهی که ممکن است در مرکز دهنده عضو باشند یا در غیر این صورت نزدیکترین مرکز که گیرنده مشابه داشته باشد) با اطلاع مراکز که گیرنده یا گیرنده های مورد نظر در آنجا بستری هستند می‌رسانیم تا چنانچه آمادگی برای پذیرفتن پیوند را داشت ترتیب انجام پیوند داده شود. البته تنظیم این برنامه بایستی با در نظر گرفتن شرایط و امکانات طوری انجام شود که ما بتوانیم در آینده با مراکز بزرگ شهرستانها و حتی کشورهای مجاور نیز در تماس و مبادله عضو باشیم و مرکزی بنام مرکز پیوند بوجود بیاوریم تا توانسته باشیم کمکی در این راه که روز بروز اهمیت آن رو به فزونی و احتیاج بآن بیشتر میباشد انجام دهیم. البته همانطور که ذکر شد همکاری نزدیک بخشهای مختلف در براه انداختن و نظم و ترتیب دادن این مرکز را یکی از اولویتهای ما خواهد کرد و ما از هم اکنون برای هر نوع همکاری آماده ایم و حاضر به قبول نمونه برای تایپینگ (Typing) میباشیم و امیدواریم که با همکاری همه همکاران ارجمند بتوانیم در این راه تسویقی حاصل کنیم.

علاوه بر استفاده از سیستم HLA در پیوند اعضا اخیراً ارتباط نزدیکی بین بعضی از بیماریها (بخصوص سرطانها) و سیستم HLA پیدا شده و مادر این بخش مشغول مطالعه در این باره نیز میباشیم.

## Summary

### Détermination des Groupes Leucocytaires (System H.L.A)

**B. Nikbine Moghadam**

Service d' Immunologie Fac, Med . Univ . Teheran

Le typage leucocytaire et sa détermination prend de jour en jour de l'importance dans le domaine des greffes. Car les antigènes leucocytaires sont des antigènes d'histocompatibilités, et pour cette raison nous avons mis au point un centre de typage leucocytaire dans notre service d' Immunologie, et acceptons des à présent toute demande de typage leucocytaire.

## References

- 1\_ Andre, J, Dreyfus, B ; *Rev . Hem .* 11 ; 390 , 1956
- 2\_ Dausset, J, Colombani, J , *Presse Med .* 1, 707 , 1966
- 3\_ Dausset, J, Rapaport , F . T ; *Nou . Rev . Hem .* P. 17 1965 .
- 4\_ Dausset, J ; *Immunoematologie biologie et clinique* ; 583 - 631, Ed. Flama. 1956
- 5- Dausset, J, Hemburger , J. Mathe , G ; *Advence in transplantation . procedings of the first international congres of the transplantation society , Paris Munskgaard, Ed . 1968*
- 6- Dausset, J; *Acta . Hem .* 20 , 156 . 1958
- 7- Engelfriet, C.P, *Brit . J. Hem .* 7. 223 . 1961
- 8- Engelfriet, C.P, and Britten, A ; *Cytotoxic antibodies against leukocyte Vox . sang . (Bale)* 11 . 334 . 1969
- 9\_ Goudemand, M et Delmas - Marsalet, Y; *Element de Immuno - hematologie* P. 113 - 126 et 199 - 214 . 2 Ed . Flamarion 1971
- 10- Lalezari, P. and Bernard, G ; *Identification of a specific leukocyte antigene . Transfusion ;* Vol . 5, No2 March - April 1965
- 11- Martin, R.A. Steinberg , B ; *J . of Immun .* 51 . 71 , 1946
- 12\_ Medavar, P.B; *Le stimulus antigenique dans l' immunité de transplantation de peau . La biologie des homogreffes, I, Vol . P . 273 C.N.R.S. Ed . Paris 1957*
13. Mathe, G. Amiel, J . L ; *Les reactions immunologiques des greffes . Presse Med .* 72 . 2331 . 1964
- 14- Rapaport, F.T, and Dausset, J ; *Human transplantation . Grune and Stratton Ed . 1968*
- 15- Saint Paul et Millot, T; *Ann. Ins. past.* 1, 156 . 1956
- 16- Van Rood, J.J., *J.Clin. Invest.* 42, 1382, 1963