

بررسی سیستم ایمنی در مبتلایان به بیماری آسم

دکتر سیمین غازانشاهی

روزت rosette test است برای اندازه‌گیری تعداد لنفوسیت‌های B طرق مختلفی نیز وجود دارد که یکی از آنها تست روزت مخصوص لنفوسیت‌های B می‌باشد که از نظر تکنیکی با تست روزت مخصوص لنفوسیت‌های T فرق دارد. ما در مطالعه هر دو نوع لنفوسیت‌های T و B از تست روزت استفاده نموده‌ایم.

روش کار

تعداد اشخاصی که برای اندازه‌گیری لنفوسیت‌های T و B در خون محیطی شان انتخاب نموده‌ایم شامل ۲۲ نفر از مبتلایان به بیماری آسم بودند سن نفرات بین ۱۰ تا ۴۴ سال و سن متوسط آنها بین ۲۲/۲۷ با (SD ۹/۸) بوده است. از آزمایش شدگان تعداد ۱۰ نفر مذکر و ۱۲ نفر مؤنث بوده‌اند در انتخاب بیماران سعی بعمل آمد که مبتلا به هیچ نوع بیماری دیگر بغیر از آسم نباشند و بغیر از داروهای ضد آسمی داروهای دیگری مصرف ننموده باشند همچنین هیچکدام از مبتلایان داروهای از نوع کورتیکواستروئید را حداقل به مدت یکسال قبل از انجام تست مصرف نکرده باشند اشخاص کنترل هم از لحاظ سن و جنس متناسب با اشخاص آسمی انتخاب شده‌اند.

نهیبه لنفوسیتها

با تحقیقاتی که اخیراً در مطالعه سیستم ایمنی در بیماران آلرژی بعمل آمده احتمال می‌رود که سیستم ایمنی در این بیماران طبیعی نباشد نقص در سیستم ایمنی سلولی در مبتلایان به آگما گزارش داده شده (۷-۹-۱۰) و همچنین کاهش در جذب مواد رادیو اکتیو مثل تری تی ایند تا می‌دین Tritiated thymidin بوسیله لنفوسیتها و نقص در حساسیت‌های نوع دیررس به تزریق داخل جلدی آنتی ژنها مثل تویرکولین در مبتلایان به آسم مشاهده شده است (۵) بدین ترتیب با بررسی سیستم ایمنی در این بیماران ممکن است راه تازه‌ای در تشخیص و درمان آنان پیدا نمود.

یکی از طرق بررسی سیستم ایمنی اندازه‌گیری لنفوسیت‌های موجود در خون محیطی است این لنفوسیتها از نظر مبداء و عمل فیزیولوژیکی خود بدو دسته تقسیم میشود دسته‌ای که در حساسیت‌های نوع دیررس یا سلولی دخالت مینمایند که منشاء تیموسی دارند و با سم لنفوسیت‌های T نامیده میشوند و دسته دوم که در واکنش‌های ایمنی نوع هومورال دخالت دارند و به نام لنفوسیت‌های B نامیده میشوند که در پرندگان از نقطه‌ای در لوله گوارش با سم بورس آ و فابریشوز Bursa of Fabricius مشتق میشوند ولی در انسان محل مشابه‌ای مشاهده نشده است. بهترین طریقه اندازه‌گیری تعداد لنفوسیت‌های T تست

تست روزت مخصوص لنفوسیت‌های B

لنفوسیت‌های B گیرنده طبیعی برای گلبول‌های قرمز گوسفند ندارند ولی دارای گیرنده‌هایی برای کمپلمان هستند بدین جهت برای انجام تست روزت مخصوص لنفوسیت‌های B ابتدا باید گلبول‌های قرمز گوسفند را بوسیله کمپلمان و همولیزین حساس نمود یعنی تست باین صورت انجام می‌گیرد که ابتدا محلول EAC را که مخلوطی است از مقادیر متساوی محلول ۵ درصد گلبول‌های قرمز گوسفند (E) و محلول $\frac{1}{500}$ همولیزین فراهم شده از روباه (A) و محلول $\frac{1}{10}$ سرم موش به عنوان منشاء کمپلمان (C) تهیه می‌نمایند.

محلول EAC تهیه شده را ابتدا مدت ۳۰ دقیقه در حرارت ۳۷ درجه گذاشته و بعد از شستن به غلظت ۵/۵ درصد گلبول‌های قرمز گوسفند میزان مینمایند و سپس با حجم متساوی از محلول لنفوسیت‌های تهیه شده مخلوط نموده بعد از سانتریفوژ کردن به مدت ۳۰ دقیقه در 1200 RPM نیم ساعت در حرارت ۳۷ درجه می‌گذارند طرز خواندن روزت‌های B مثل طریق خواندن روزت‌های T است که در بالا شرح داده شده است.

روزت سلول‌های منوسیت

چون سلول‌های منوسیت هم دارای گیرنده‌های طبیعی برای کمپلمان می‌باشند در تست روزت مخصوص لنفوسیت‌های B روزت سلول‌های منوسیت هم تشکیل میشود که چون این سلولها ذرات لاتکس Latex را فاگوسیتوز مینمایند از روزت سلول‌های B در امتحان میکرسکی قابل تشخیص‌اند.

نتایج

لنفوسیت‌های جدا شده از خون بیماران شامل تقریباً "صد درصد سلول‌های تک هسته‌ای هستند که دارای ۱۴-۵ درصد ماکروفاژ بوده‌اند که با فاگوسیتوز کردن ذرات Latex مشخص گردیده‌اند.

گلبول‌های سفید خون

تعداد کل ائوزنیوفیلها در آسمی‌های مطالعه شده خیلی بیشتر از اشخاصی طبیعی بود ولی هیچ ارتباطی بین تعداد

لنفوسیت‌ها از خون محیطی بطریقه متد Thorby and

Bratile 1970 (۱۳) جدا گردیده است دوسانتیمتر-

مکعب از خون هپارنیزه شده را بعد از رقیق کردن با مقدار مساوی سرم فیزیولوژی با آرامی روی سه سانتیمتر مکعب محلول Ficol Sodium Metrizoate قرار داده و بعد از سانتریفوژ کردن در ۲۰ درجه سانتی‌گراد لنفوسیت‌ها را که در حداقل قرار می‌گیرند جمع‌آوری نموده بعد از شستن با محلول بافر بار بیتال طوری رقیق مینمائیم که در هر سانتیمتر مکعب دارای 4×10^{-6} عدد لنفوسیت داشته باشیم. و سپس لنفوسیت را با ذرات لاتکس Latex به مدت ۸۰-۶۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار می‌دهیم تا ماکروفاژهای موجود ذرات لاتکس را فاگوسیتوز نموده و در امتحان میکرسکی در موقع شمردن از روزت‌های T و B مشخص گردند.

تست روزت برای اندازه‌گیری تعداد لنفوسیت‌های T

لنفوسیت‌های T دارای گیرنده‌های طبیعی برای گلبول‌های

قرمز گوسفند می‌باشند باین ترتیب که اگر گلبول‌های قرمز گوسفند را با لنفوسیت‌های T مدتی مجاور کنند اطراف لنفوسیت‌های T بشکل دایره جمع میشوند و بعلت شباهتی که مجموعه یک لنفوسیت با گلبول‌های قرمز محاصره کننده آن به گل پیدا میکنند آنرا روزت که به معنای گل سرخ است مینامند اگر سه عدد و یا بیشتر گلبول‌های قرمز گوسفند دور یک لنفوسیت جمع شده باشند بآن یک روزت گفته میشود بدین ترتیب تعداد روزت‌های شمردن شده برابر تعداد لنفوسیت‌های T خواهد بود ما برای انجام تست روزت از روش Jondal et al (۶) با کمی تغییر استفاده نموده‌ایم بدین ترتیب که لنفوسیت‌های جدا شده را با مقدار مساوی محلول ۵/۵ درصد گلبول‌های قرمز گوسفند مخلوط نموده و بعد از سانتریفوژ کردن بمدت ۵ دقیقه در 600 RPM در ۴ درجه سانتی‌گراد قرار می‌دهیم. از هر فردی دو نمونه آزمایش تهیه گردیده روزت‌های یک نمونه را بعد از یک ساعت و نمونه دیگر را بعد از ۲۰ ساعت نگهداری در ۴ درجه سانتی‌گراد شمرده‌ایم باین ترتیب که رسوب ته لوله را با آرامی در مایع بالای آن حل نموده برای شمردن از همو-سایومتر hemocytometer استفاده شده است.

دارد که دو دسته فرعی لنفوسیت‌های T وجود داشته باشند که یک دسته سریع‌تر از دسته دیگر در تشکیل روزت شرکت میکنند. (۱۴)

بعلت گزارش کارشناسان و همچنین مطالعات ما بهتر است که شمارش روزت‌های T بدو طریق هم سریع‌المدت (یک ساعت) و هم طویل‌المدت (۲۰ ساعت) انجام گیرد.

خلاصه

بطور خلاصه در مطالعه لنفوسیت‌های T و B در ۲۲ نفر بیماران مبتلا به آسم تعداد کل هر دو نوع لنفوسیت‌های T و B در میلی‌متر مکعب خون کمتر از اشخاص طبیعی بود و این مشاهده فرضیه‌ای را که بیماری‌های آلرژی ممکن است با نقص سیستم ایمنی همراه باشند مستحکم‌تر مینماید تعداد روزت‌های T با طریقه نگهداری نمونه بطور طویل‌المدت (۲۰ ساعت) در ۴ درجه سانتی‌گراد بیشتر از طریقه سریع‌المدت (یکساعت) بود. که احتمال می‌رود دو دسته فرعی لنفوسیت‌های T وجود داشته باشد که یک دسته سریع‌تر از دسته دیگر با گلبول‌های قرمز گوسفند ایجاد روزت مینماید پس بهتر است که شمارش روزت‌های T بدو طریق هم سریع‌المدت (یکساعت) و هم طویل‌المدت (۲۰ ساعت) انجام گیرد تعداد کل ائوزنیوفیلها در بیماران آسمی خیلی بیشتر از اشخاص طبیعی بود ولی هیچ نوع ارتباطی بین تعداد ائوزنیوفیلها و لنفوسیت‌های T و B در بیماران آسمی وجود نداشت.

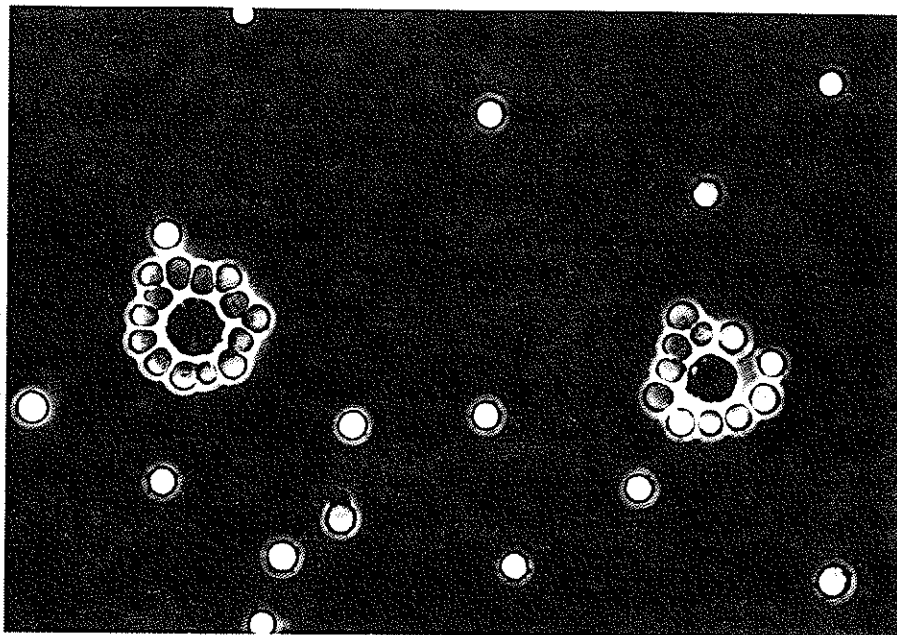
ائوزنیوفیلها و لنفوسیت‌های T و B مشاهده نشد و تعداد کل لنفوسیت‌های T و B در میلی‌متر مکعب خون این اشخاص آسمی خیلی کمتر از اشخاص طبیعی بود.

بحث

در مطالعه لنفوسیت‌های T و B در بیماران آسمی نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که در این افراد تعداد کل لنفوسیت‌های T و B در میلی‌متر مکعب خون کمتر از اشخاص طبیعی است (جدول ۱). در مطالعه تعداد لنفوسیت‌های T و B در بیماران آسمی فرضیه‌ای را که بیماری‌های آلرژی ممکن است با نقص سیستم ایمنی همراه باشند تأیید مینماید در انتخاب بیماران ما سعی نمودیم آنهایی را برای مطالعه خود برگزینیم که عاری از عوامل ثانوی مثل استعمال داروهای کورتیکواستروئید و عفونت که لنفوسیتها را تحت تأثیر قرار می‌دهند باشند. از دیاد تعداد روزت‌های T را با طویل کردن زمان نگهداری در ۴ درجه سانتی‌گراد گزارش داده‌اند (۱۲).

و مانیز در تجزیه اخیر شمردن روزت‌های T رابه دو طریق انجام داده‌ایم یکی نگهداری به مدت کوتاه (یکساعت) و دیگری طویل‌المدت (۲۰ ساعت) در ۴ درجه سانتی‌گراد که در نتیجه تعداد بیشتری روزت با طریقه طویل‌المدت (۲۰- ساعت) بدست آوردیم.

مکانیسم این و فوروزت‌های T با افزایش زمان نگهداری در ۴ درجه سانتی‌گراد بدرستی شناخته نشده است احتمال



تعداد روزتهای T و B در میلیتر مکعب خون

نفرات	تعداد روزتهای T (بطریق کوتاه مدت یا یکساعت) در میلیتر مکعب خون \pm SD	تعداد روزتهای T (بطریق طویل المدت یا ۲۰ ساعت) در میلیتر مکعب خون \pm SD	تعداد روزتهای B در میلیتر مکعب خون \pm SD
۲۲ نفر) سالم	۱۶۰۲/۷۴ \pm ۶۰۴/۸۰	۱۸۵۵/۲۳ \pm ۶۱۶/۱۰	۸۶۲/۷۴ \pm ۳۵۲
۲۲ نفر) آسمی	۱۲۷۶/۵۹ \pm ۳۵۴/۲	۱۴۷۱/۲۴ \pm ۳۷۹/۹۷	۶۸۰/۵۷ \pm ۷۰/۴۰
SD	$P < 0/05$	$P < 0/05$	$P < 0/05$

SD = Standard Deviation

استاندارد دوی ای شن

References

1. Brain P, Gordon J and Willettes WA: Rosette formation by peripheral lymphocytes. Clin Exp. Immunol 6: 681, 1970.
2. Buskin SC, Pantic V and Incefy GS: Studies on the mechanism of human peripheral blood lymphocyte receptors formation in vitro. Fed Proc. 33: 629, 1974.
3. Bentwich ZS, Douglas SD, Siegal FP and Kunkel HG: Human lymphocyte sheep erythrocyte rosette formation some characteristics of the interaction. Clin Immunol Immunopath 1: 511, 1973.
4. COombs RRA, Gurner BW, Wilson AB, Holm G and Lingren B: Rosette formation between human lymphocytes and sheep red cells not involving immunoglobulin receptors. In Arch Allergy 39: 658, 1970.
5. Grove DI, Buston TO, Wellby ML, Munro Ford R and Forbes IJ: Humoral and cellular immunity in Asthma. J. Allergy 55: 152, 1975.
6. Jondal M, Holm G and Wigzell H: Surface markers on human T and B lymphocytes. J. Exp Med 136: 207, 1972.
7. Lobitz WC Jr., Honeyman JF and Winkler NW: Suppressed cell mediated Immunity in two adults with atopic dermatitis. Br J Dermatol 86: 317, 1972.
8. Luckasen JR, Sabad KJ, Gajl-Peczalaka KJ and Kersey JH: Lymphocytes bearing complement receptor, surface immunoglobulins and sheep erythrocyte receptors in primary immunodeficiency disease. Clin Exp. Immunol, 16: 536, 1974.
9. McGeady SJ and Buckley RH: Depression of cell mediated immunity in atopic eczema. J. Allergy 56: 393, 1975.
10. Rochelefsky GS, Opelz G, Mickey R, Kiuchi M, Terasaki PI, Siegel SC and Stiehm ER: Defective T cell function in atopic dermatitis. J. Allergy 57: 569, 1976.
11. Silveria NPA, Mendes NF and Tolina MEA: Tissue localization of two populations of human lymphocytes distinguished by membrane receptors. J. Immunol 108: 1456, 1972.

12. Steel C, Evans MJ and Smith MA: The sheep cell rosette test on human peripheral blood lymphocytes. An analysis of some variable factors in the technique. *Br J Hematol* 28: 245, 1974.
13. Thorby E and Bratile A: A rapid method for preparation of pure lymphocyte suspensions. *Histocompatibility testing*. 1970 ed. P.I.
14. Yu DTY: Human lymphocyte subpopulation: Early and late rosettes. *J Immunol* 115: 91, 1975.
15. Yu DTY, Petet JB, Paulus HE and Nice KM: Human lymphocyte subpopulations study of T and B cells and their density distribution. *Clin Immunol Immunopath* 2: 333, 1974.