

ارزش پیشگویی سیتوکین‌های وابسته به لمفوسیت‌های T در رد حاد کلیه پیوندی

دکتر علی غفاری مقدم^۱، دکتر علی عیسی^۲، دکتر عزت الله رحیمی^۳، لیا فخری^۴

۱- فوق تخصص نفرولوژی، استادیار گروه داخلی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

۲- فوق تخصص هماتولوژی، استادیار گروه داخلی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

۳- دستیار سال سوم بیماریهای داخلی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه (مؤلف مسؤول) rahimi258@hatmail.com

۴- دانشجوی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

چکیده

زمینه و هدف: رد حاد کلیه پیوندی یکی از مهمترین عوارض بعد از پیوند کلیه است که تأثیر بسزایی در عملکرد کلیه دارد. این مطالعه با هدف تعیین ارزش پیشگویی سیتوکین‌های وابسته به Th1 و Th2 با رد حاد کلیه پیوندی انجام گردید.

روش بررسی: در این مطالعه که به صورت مقطعی انجام شد. در ۶۰ بیمار پیوند کلیه که اهدا کننده زنده داشتند، سطح سرمی سیتوکین‌های وابسته به Th1 شامل IL2 و IFN γ و سیتوکین‌های وابسته به Th2 شامل IL4 و IL10 در روزهای قبل از پیوند، روز هفتم و روز چهاردهم بعد از پیوند اندازه گیری شدند، روش اندازه گیری ELISA با کیت‌های Bender-med Germany بود. بیماران داروهای ایمونوساپرسیو سیلکوسپورین، مایکوفنلات موفتیل و پردنیزولون دریافت می کردند. رد حاد پیوند در بیست روز اول بعد از پیوند، با افزایش Cr بیشتر از ۵۰٪ پایه تعریف شد. داده‌ها با تست T مستقل و نرم افزار SPSS آنالیز شد.

یافته‌ها: در بین ۶۰ بیمار ۴۰ نفر مرد بودند، میانگین سنی ۳۸/۸۲ سال، ۱۲ (۲۰٪) مورد رد حاد پیوند رخ داد. ارتباط معناداری بین سطوح سرمی IL2، IL4، IL10، IFN γ در افرادی که دچار رد حاد پیوند شده و آنها که نشده بودند وجود نداشت.

نتیجه گیری: بر اساس نتایج این مطالعه، به نظر نمی‌رسد سطوح سرمی سیتوکین‌های وابسته به Th1 و Th2 در رد حاد پیوند، نقش کاملاً مشخصی داشته باشند و نمی‌توان از آن به عنوان پیشگویی کننده رد حاد پیوند استفاده نمود.

کلید واژه‌ها: پیوند کلیه، رد پیوند، لمفوسیت‌های T

وصول مقاله: ۸۶/۱/۱۵ اصلاح نهایی: ۸۶/۹/۱۱ پذیرش مقاله: ۸۶/۹/۲۱

مقدمه

این موضوع باعث درک عمیقی از چگونگی تعدیل پاسخهای ایمنی گردید سیتوکین‌های وابسته به Th1 شامل IL2، IL12، TNF- β و IFN γ و سیتوکین‌های وابسته به Th2 شامل IL4، IL5، IL6، IL10 و IL13 می‌باشند (۲،۵).

به طور کلی سیتوکین‌های وابسته به Th1 باعث ایجاد پاسخ ایمنی سلولی و تولید IgG2 α می‌شوند، در صورتی که سیتوکین‌های وابسته به Th2 پاسخ ایمنی هومورال و تولید IgE و IgG1 را تحریک می‌کنند (۶).

رد حاد پیوند کلیه یک عارضه جدی و مهم بعد از پیوند است و یک عامل مهم در ایجاد رد مزمن پیوند محسوب می‌شود (۱). به نظر می‌رسد که این پدیده دارای یک زمینه ایمونولوژیک بوده و سیستم ایمنی نقش اساسی دارد. نوزده سال قبل Mosmann و Coffman کلونهای CD4⁺-Cell را در موش نشان دادند که قادر به تولید سیتوکین‌های خاص بود (۲،۳). مطالعات انسانی و حیوانی نشان دادند سلولهای T helper به کلونهای Th1 و Th2 تمایز پیدا می‌کنند (۴).

تحت عمل پیوند کلیه قرار گرفتند وارد مطالعه شدند. این بیماران از اهدا کننده زنده غریبه (غیر فامیل) کلیه پیوندی را دریافت نمودند.

رژیم ایمنوساپرسیو برای بیماران شامل سیکلوسپورین A (۶mg/Kg/d) (ساندیمون نئورال - نوار تیس)، میکوفنلات موفتیل (Roche) ۱ گرم دو بار در روز و پردنیزولون بود. در تمام بیماران تستهای Panel - reactive antibody و Lymphocytotoxic cross match قبل از پیوند منفی بود. سطح سرمی سیتوکین‌های وابسته به Th1 شامل IL2 و IFN γ و سیتوکین‌های وابسته به Th2 شامل IL4 و IL10 در روزهای قبل از پیوند، روز هفتم و روز چهاردهم بعد از پیوند اندازه‌گیری شد. نمونه‌های خون (۵ سی‌سی بدون ماده ضد انعقاد) در زمانهای ۲۴ ساعت قبل از پیوند و روزهای هفتم و چهاردهم بعد از پیوند جمع‌آوری شدند و غلظت سرمی IL2، IFN γ ، IL4 و IL10 به وسیله کیت‌های Bender Enzyme-linked (med, Germany) به روش immunosorbent assay (ELISA) اندازه‌گیری شد. در این مطالعه سیستم HLA ارزیابی نشد.

رد حاد پیوند در بیست روز اول بعد از پیوند، با افزایش Cr بیشتر از ۵۰٪ پایه تعریف شد. همچنین برای تشخیص رد حاد پیوند از یافته‌های سونوگرافی، اسکن رادیوایزوتوپ، بیوپسی کلیه و اندازه‌گیری مقادیر پلاسماپی سیکلوسپورین استفاده شد. داده‌های مطالعه با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و آزمون T مستقل تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها

بر اساس نتایج این مطالعه تعداد ۱۲ نفر از بیماران مورد مطالعه یعنی ۲۰ درصد دچار رد حاد پیوند شدند.

برخی سیتوکین‌های وابسته به Th1 و Th2 می‌توانند تولید و عملکرد یکدیگر را تحت الشعاع قرار دهند (۷). عواملی مانند IL2 و IFN γ می‌توانند سطوح سیتوکین‌های وابسته به Th2 را کاهش دهند، در صورتی که IL4 و IL10 باعث کاهش سطوح سیتوکین‌های وابسته به Th1 می‌شوند. محققین متعددی ارتباط بین سیتوکین‌های وابسته به Th1 را با رد حاد پیوند و سیتوکین‌های وابسته به Th2 را با تحمل ایمنی (Tolerance) نشان داده‌اند (۸،۹) و برای آنها ارزش پیشگویی در ایجاد رد حاد پیوند قائل شده‌اند.

با این وجود مطالعات مختلف نتایج یکسانی نداشته است در بعضی از این بررسی‌ها سیتوکین‌های وابسته به لمفوسیت‌های T توانسته‌اند رد حاد پیوند را پیشگویی کنند در حالیکه در مطالعات دیگری نتوانسته‌اند آن را ثابت کنند (۱۰،۱۱). با توجه به اهمیت پیوند کلیه به عنوان درمان جایگزین نارسایی کلیوی و نظر به هزینه‌های بسیار زیادی که برای پیوند کلیه صرف می‌شود به خصوص در کشور ما که پیوند در بیشتر موارد از افراد زنده دریافت می‌شود، بنابراین لازم است رد حاد پیوند کلیه به عنوان یک عامل اصلی از دست دادن کلیه پیوندی مورد توجه باشد. اگر بتوان عواملی را که رد حاد پیوند را زودتر تشخیص دهند، شناسایی کرد می‌توان کمک بزرگی به اداره بیماران پیوند کلیه به خصوص در مراحل اولیه عمل نمود. این مطالعه با هدف شناخت ارزش پیشگویی کننده سیتوکین‌های وابسته به Th1 و Th2 در رد حاد پیوند انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه مقطعی، ۶۰ بیمار که برای اولین بار در طول سال ۱۳۸۳ و در بیمارستان امام خمینی ارومیه

در زمان قبل از پیوند اختلاف آماری معنی‌داری نداشته است.

یافته‌های جدول ۲ نشان می‌دهد میانگین سطح سرمی سایتوکین‌های وابسته به لیمفوسیت T در دو گروه در روز هفتم بعد از پیوند اختلاف آماری معنی‌داری نداشته است.

یافته‌های جدول ۳ نشان می‌دهد میانگین سطح سرمی سایتوکین‌های وابسته به لیمفوسیت T در دو گروه در روز چهاردهم بعد از پیوند اختلاف آماری معنی‌داری نداشته است.

جدول ۱ تا ۳ و شکل‌های ۱ و ۲ سطوح سرمی سیتوکین‌های وابسته به Th1 و Th2 را در دو گروه با و بدون رد حاد پیوند در قبل و بعد از پیوند نشان می‌دهند. این یافته‌ها نشان می‌دهند که سطح Th1 و Th2 در بیماران با و بدون رد پیوند تفاوت آماری معنی‌داری نداشتند ($p=0.322$).

همچنین ارتباط معناداری بین سطوح سرمی سیتوکین‌های وابسته به Th1 و Th2 در قبل و بعد از پیوند و ایجاد رد حاد پیوند در روزهای اولیه (۲۰ روز اول) بعد از پیوند وجود نداشت.

یافته‌های جدول ۱ نشان می‌دهد میانگین سطح سرمی سایتوکین‌های وابسته به لیمفوسیت T در دو گروه

جدول ۱: سطح سرمی سیتوکین‌ها در روز قبل از پیوند

| P | گروه بدون رد حاد پیوند | | | گروه رد حاد پیوند | | | |
|------|------------------------|---------|-------|-------------------|---------|-------|----------------------|
| | انحراف معیار | میانگین | تعداد | انحراف معیار | میانگین | تعداد | |
| ۰/۳۸ | ۴/۵۷ | ۱۵/۸۶ | ۴۸ | ۴/۵۷ | ۱۲/۶۴ | ۱۲ | IL-2 (pg/ml) |
| ۰/۴۳ | ۵/۴۴ | ۱۹/۳۵ | ۴۸ | ۶/۶۳ | ۲۰/۲۳ | ۱۲ | IL-4 (pg/ml) |
| ۰/۶۱ | ۴/۴۶ | ۱۴/۶۴ | ۴۸ | ۳/۳۲ | ۱۲/۹۸ | ۱۲ | IL-10 (pg/ml) |
| ۰/۱۰ | ۰/۹۴ | ۲/۱۴ | ۴۸ | ۰/۸۷ | ۱/۶۶ | ۱۲ | IFN γ (pg/ml) |

جدول ۲: سطح سرمی سیتوکین‌ها در روز هفتم بعد از پیوند

| P | گروه بدون رد حاد پیوند | | | گروه رد حاد پیوند | | | |
|------|------------------------|---------|-------|-------------------|---------|-------|----------------------|
| | انحراف معیار | میانگین | تعداد | انحراف معیار | میانگین | تعداد | |
| ۰/۶۵ | ۴/۲۳ | ۱۴/۶۶ | ۴۸ | ۳/۲۴ | ۱۱/۲۳ | ۱۲ | IL-2 (pg/ml) |
| ۰/۴۶ | ۱۰/۴۳ | ۲۷/۷۴ | ۴۸ | ۷/۲۷ | ۲۴/۵۴ | ۱۲ | IL-4 (pg/ml) |
| ۰/۰۶ | ۳/۲۲ | ۹/۶۱ | ۴۸ | ۳/۵۱ | ۷/۵۵ | ۱۲ | IL-10 (pg/ml) |
| ۰/۴۱ | ۰/۲۴ | ۱/۴۵ | ۴۸ | ۰/۵۳ | ۱/۴۴ | ۱۲ | IFN γ (pg/ml) |

جدول ۳: سطح سرمی سیتوکین‌ها در روز چهاردهم بعد از پیوند

| P | گروه بدون رد حاد پیوند | | | گروه رد حاد پیوند | | | |
|------|------------------------|---------|-------|-------------------|---------|-------|----------------------|
| | انحراف معیار | میانگین | تعداد | انحراف معیار | میانگین | تعداد | |
| ۰/۴۴ | ۳/۱۴ | ۱۰/۷۳ | ۴۸ | ۲/۳۲ | ۹/۵۶ | ۱۲ | IL-2 (pg/ml) |
| ۰/۵۶ | ۴/۳۲ | ۱۷/۳۲ | ۴۸ | ۵/۱۳ | ۱۸/۴۵ | ۱۲ | IL-4 (pg/ml) |
| ۰/۴۳ | ۳/۶۵ | ۱۲/۲۱ | ۴۸ | ۴/۱۲ | ۱۰/۲۳ | ۱۲ | IL-10 (pg/ml) |
| ۰/۳۲ | ۰/۴۳ | ۱/۶۳ | ۴۸ | ۰/۳۶ | ۱/۲۷ | ۱۲ | IFN γ (pg/ml) |

بحث

سلولهای Th1، IL2، IFN γ و لمفوتوکسین تولید می‌کنند. این سیتوکین‌ها روند تولید سلولهای T سیتوتوکسیک را تحریک می‌کنند. سلولهای T سیتوتوکسیک در پدیده‌های ایمونولوژیک ازدیاد حساسیت تأخیری و سیتوتوکسیستی سلولی وابسته به آنتی‌بادی نقش دارند، این پدیده‌ها مکانیسمهای مؤثر مقابله‌کننده با پاتوژنهای داخل سلولی و آلوگرافت می‌باشند.

این موضوع مطرح شده است که ایجاد تولرانس (تحمل ایمنی) نسبت به آلوگرافت ممکن است با تبدیل سلولهای TCD $_4^+$ به Th2 در ارتباط باشد و پدیده رد پیوند در اثر تبدیل سلولهای TCD $_4^+$ به Th1 رخ دهد. در این حالت بایستی الگوی سیتوکین‌های وابسته به Th1 در زمان رد حاد پیوند در بافت کلیه پیوندی یا پلاسما وجود داشته باشند و سیتوکین‌های وابسته به Th2 در این حالت کاهش نشان دهند.

در این مطالعه، ما سطوح سرمی وابسته به Th1 و Th2 را اندازه‌گیری و ارتباط آنها را با رد حاد پیوند بررسی کرده‌ایم. همانطور که در قسمت نتایج آمده است در بین ۶۰ بیمار در ماه اول بعد از پیوند ۱۲ مورد (۲۰٪) رد حاد رخ داد. نتایج ما ارتباطی را بین سطوح سرمی سیتوکین‌های وابسته به Th1 و Th2 و رد حاد نشان نداد.

این یافته با برخی نتایج قبلی متفاوت است. صادقی و همکاران نشان دادند در ۳۸ بیمار که دچار رد حاد پیوند شده بودند سطح سرمی IFN γ قبل از رد پیوند افزایش یافت (۱۲) در یک مطالعه دیگر توسط Rostaing و همکارانش که در ۱۴ کلیه پیوندی انجام شد، آنها مشاهده کردند در گروهی که دچار رد حاد

پیوند شده بودند میزان IL2 و IFN γ افزایش نشان می‌داد (۱۳). امیز زرگر و همکارانش نشان دادند که سیتوکین‌های وابسته به Th2 در بیماران بدون رد حاد پیوند در هفته دوم بعد از پیوند افزایش می‌یابد (۱۰).

اما برخی محققان رابطه دقیقی بین سیتوکین‌های وابسته به Th1 و Th2 و رد حاد پیوند مشاهده نکردند (۱۴). Krams و همکاران افزایش IL4 را در کلیه پیوندی دچار رد حاد نشان دادند (۱۵).

Tai و همکاران افزایش سیتوکین‌های Th1 و Th2 را به طور همزمان در پیوندهای کلیه بدون رد حاد نشان دادند (۱۶). Dallman و همکاران افزایش IL2 - IL4 و لمفوتوکسین را در آلوگرافتهای دچار رد حاد نشان دادند (۵).

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این مطالعه می‌توان چنین نتیجه گرفت که الگوی سرمی سیتوکین‌های وابسته به Th2 و Th1 در روزهای اول بعد از پیوند کلیه نمی‌تواند مشخص کند که در کدام گیرنده کلیه عملکرد کلیه نرمال باقی می‌ماند و کدام گیرنده کلیه دچار رد حاد پیوند می‌شود. لذا به نظر می‌رسد استفاده از این سیتوکین‌ها به منظور پیشگویی احتمال رد حاد پیوند در روزهای اول بعد از پیوند کلیه خالی از اشکال نخواهد بود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه انجام شده است. نویسندگان مقاله تشکر و قدردانی خود را نسبت به شرکت‌کنندگان در مطالعه و

پرسنل محترم بخش پیوند بیمارستان امام خمینی ارومیه که در اجرای این مطالعه همکاری داشته‌اند، ابراز می‌دارند.

References

1. Tejani A, and Sullivan EK. The impact of acute rejection on chronic rejection: a report of the North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study. *Pediatr Transplant* 2000; 4: 107-111.
2. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA and Coffman RL. (2005) Two types of murine helper T cell clone I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *1986 J Immunol*; 175: 5-14.
3. Mosmann TR and Coffman RL. Th1 and Th2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol*: 1989; 7: 145-173.
4. Romagnani S. Type 1 T helper and type 2 T helper cells: functions, regulation and role in protection and disease. *Int J Clin Lab Res* 1991; 21: 152-158.
5. Dallman M and Clark G. Cytokines and their receptors in transplantation. *Curr Opin Immunol* 1991; 3: 729-734.
6. Finkelman FD, Holmes J, Katona IM, Urban JF, JR Beckmann MP, Park LS, and et al. Lymphokine control of in vivo immunoglobulin isotype selection. *Annu Rev Immunol* 1990; 8: 303-333.
7. Seder RA and Paul WE. Acquisition of lymphokine-producing phenotype by CD4+ T cells. *Annu Rev Immunol* 1994; 12: 635-673.
8. Hancock WW, Sayegh MH, Kwok CA, Weiner HL and Carpenter CB. Oral, but not intravenous, alloantigen prevents accelerated allograft rejection by selective intragraft Th2 cell activation. *Transplantation* 1993; 55: 1112-1118
9. Kusaka S, Grailer AP, Fehner JH, JR and Burlingham W J Evidence for a possible Th2 bias in human renal transplant tolerance. *Transplant Proc* 1995; 27, 225-226.
10. Amirzargar A, Lessanpezesheki M, Fathi A, Amirzargar M, Khosravi F, Ansari-pour B and Nikbin B. TH1/TH2 cytokine analysis in Iranian renal transplant recipients. *Transplant Proc* 2005; 37: 2985-2987.
11. Oliveira G, Xavier P, Murphy B, Neto S, Mendes A, Sayegh M and et al. Cytokine analysis of human renal allograft aspiration biopsy cultures supernatants predicts acute rejection. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 417-422.
12. Sadeghi M, Daniel V, Weimer R, Wiesel M, Hergesell O and Opelz G. Pre-transplant Th1 and post-transplant Th2 cytokine patterns are associated with early acute rejection in renal transplant recipients. *Clin Transplant* 2003; 17: 151-157.
13. Rostaing L, Puyoo O, Tkaczuk J, Peres C, Rouzaud A, Cisterne JM, et al. Differences in Type 1 and Type 2 intracytoplasmic cytokines, detected by flow cytometry, according to immunosuppression (cyclosporine A vs. tacrolimus) in stable renal allograft recipients. *Clin Transplant* 1999; 13: 400-409.
14. Daniel V, Naujokat C, Sadeghi M, Wiesel M, Hergesell O and Opelz G. Association of circulating interleukin (IL-12 and IL-10) producing dendritic cells with time posttransplant, dose of immunosuppression, and plasma cytokines in renal transplant recipients. *Transplantation* 2005; 79: 1498-1506.
15. Krams SM, Falco DA, Villanueva JC, Rabkin J, Tomlanovich SJ, Vincenti F, and et al. Cytokine and T cell receptor gene expression at the site of allograft rejection. *Transplantation* 1992; 151-156.
16. Thai NL, Fu F, Qian S, Sun H, Gao L, Wang SC, and et al. Cytokine mRNA profiles in mouse orthotopic liver transplantation. Graft rejection is associated with augmented Th1 function. *Transplantation* 1995; 59: 274-281.