

بررسی فلوسایتومتریک آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های سازگاری بافتی و آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی در مبتلایان به اختلالات خونی دریافت‌کننده پلاکت

دکتر مژگان شایگان^۱، فاطمه امیری^۲، محمد حسین درختی‌گنبد^۳، دکتر مهناز آقایی پور^۴، دکتر مهتاب مقصدلو^۵
اعظم السادات طباطبائیان^۶، دکتر مسعود ایروانی^۷، دکتر پروانه وثوق^۸، سعید رجایی^۹، اسماعیل کوکب سیار^۹

چکیده

سابقه و هدف

به دنبال انتقال خون، آنتی‌بادی‌های ضد HLA و آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی ایجاد می‌شوند که منجر به مشکلات مختلفی مانند مقاومت پلاکتی می‌گردند. به نظر می‌رسد بررسی آنتی‌بادی‌های ضد HLA و آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی در انتخاب و پایش روش درمانی مناسب، مفید باشد. هدف این مطالعه بررسی آنتی‌بادی‌های ضد HLA و آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی در بیماران مبتلا به اختلالات خونی (لوکمیا حاد، آنمی آپلاستیک و ITP) با روش فلوسایتومتری است.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق که به روش توصیفی انجام شده، ایزوتایپ آنتی‌بادی‌های ضد HLA و آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی به روش فلوسایتومتری در سرم ۶۲ بیمار مبتلا به اختلالات خونی که به تزریق پلاکت پاسخ مناسب نداده‌اند و ۲۰ بیمار مبتلا به ITP (بدون سابقه قبلی مصرف پلاکت) بررسی و نتایج این روش با روش PRA و با استفاده از آزمون آماری کای دو (Chi-square) در ارزیابی آنتی‌بادی‌های ضد HLA مقایسه شده‌اند.

یافته‌ها

یافته‌های ما نشان دادند که ۴۴ نفر از ۸۲ بیمار (۵۳/۷ درصد) دارای آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های HLA-Class I می‌باشند. فراوانی ایزوتایپ‌ها بدین صورت است: IgM (۵۱/۲ درصد)، IgG (۳۲/۹ درصد) و IgA (۱/۲ درصد). ۳۶ نفر از ۸۲ بیمار (۴۳/۹ درصد) نیز دارای آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی بودند که فراوانی ایزوتایپ‌ها شامل IgM (۴۰/۲ درصد)، IgG (۳۰/۵ درصد) و IgA (۱۲/۲ درصد) می‌باشد. ۲۷ نفر از بیماران مورد بررسی (۳۱/۷ درصد) دارای هر دو نوع آنتی‌بادی ضد HLA و ضد پلاکتی بوده‌اند که بیانگر ایمن‌سازی علیه این آنتی‌ژن‌ها است؛ دو گروه ذکر شده از نظر حضور آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی تفاوتی با یکدیگر ندارند اما حضور آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های HLA-Class I در این دو گروه متفاوت است. گرچه همبستگی خوبی بین دو روش فلوسایتومتری و PRA به چشم می‌خورد، در روش PRA فقط می‌توان آنتی‌بادی‌هایی را که مؤثر در فعال‌سازی کمپلمان هستند ردیابی نمود.

نتیجه‌گیری

با مصرف فرآورده پلاکتی، ایمن‌سازی نسبت به آنتی‌ژن‌های HLA-Class I ایجاد می‌گردد ولی ایمن‌سازی علیه آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی علاوه بر مصرف پلاکت، طی روند اتوایمنی نیز ایجاد می‌شود. حضور این آنتی‌بادی‌ها ممکن است یکی از دلایل عدم پاسخ‌دهی مناسب به تزریق پلاکت و مقاومت پلاکتی در بیماران تحت بررسی باشد. انجام مطالعات مشابه بر روی تعداد نمونه بیشتر، کراس میچ پلاکتی و استفاده از پلاکت سازگار از نظر HLA و یا فرآورده‌های کم‌لکوسیت جهت تزریق به بیماران توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: آنتی‌بادی ضد HLA، آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی، اختلالات خونی، مقاومت پلاکتی، فلوسایتومتری، PRA

۱- مؤلف مسؤل: PhD ایمونولوژی - استادیار مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران

۲- کارشناس ارشد هماتولوژی - مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران

۳- متخصص آسیب‌شناسی تشریحی و بالینی - استادیار مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران

۴- متخصص پزشکی اجتماعی - استادیار مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران

۵- لیسانس زیست‌شناسی - مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران

۶- فوق تخصص هماتولوژی و آنکولوژی - استادیار مرکز تحقیقات پیوند مغز استخوان بیمارستان دکتر شریعتی

۷- فوق تخصص هماتولوژی و آنکولوژی - استاد دانشگاه علوم پزشکی ایران

۸- کارشناس آزمایشگاه - مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران

۹- لیسانس میکروبیولوژی - مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران

مقدمه

باتوجه به ناکافی بودن تحقیقات در مورد حضور این آنتی‌بادی‌ها در دریافت کنندگان فرآورده پلاکتی در کشور، در این مطالعه سعی گردید ضمن راه‌اندازی روش فلوسایتومتری، شیوع آنتی‌بادی‌های ضد HLA-Class I و آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی در بیماران مبتلا به اختلالات خونی و برخی افرادی که تحت پیوند مغزاستخوان قرار گرفته‌اند و نسبت به تزریق پلاکت پاسخ مناسبی نداده‌اند، در مقایسه با بیماران مبتلا به ITP (بدون سابقه قبلی مصرف پلاکت) مورد بررسی قرار گیرند. هم‌چنین این روش در ردیابی آنتی‌بادی‌های ضد HLA در بیماران کلیوی و پیوند اعضا نیز مفید خواهد بود.

مواد و روش‌ها

مطالعه انجام شده از نوع توصیفی و روش نمونه‌گیری تصادفی می‌باشد. جامعه مورد مطالعه شامل ۶۲ بیمار مبتلا به لوکمای حاد (ALL, AML)، آنمی آپلاستیک و تعدادی از بیمارانی که به علت ابتلا به اختلالات خونی تحت BMT^۱ قرار گرفته‌اند و در طول درمان دچار ترومبوسیتوپنی (کاهش پلاکت) شده و احتیاج به تزریق پلاکت پیدا کرده و به تزریق پلاکت پاسخ مناسب نداده‌اند و ۲۰ فرد مبتلا به ITP که پلاکت دریافت نکرده‌اند، در محدوده سنی ۹ تا ۷۵ سال و شامل ۴۰ فرد مؤنث و ۴۲ فرد مذکر می‌باشند. این افراد بیماران مراجعه‌کننده به مرکز پیوند مغزاستخوان بیمارستان دکتر علی شریعتی و افراد بستری در بخش‌های خون بیمارستان مذکور و بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های حضرت علی اصغر (ع) و امام خمینی (ره) تهران بودند. از این بیماران تعداد ۶۲ بیمار، کنسانتره پلاکتی و ۴۵ بیمار از سایر فرآورده‌های خونی نظیر گلبول قرمز متراکم استفاده کرده‌اند. عدم پاسخ‌دهی مناسب به تزریق پلاکت با محاسبه CCI^۲ ارزیابی می‌شود. چنانچه CCI یک ساعت پس از تزریق پلاکت، کمتر از ۷۵۰۰ (یا کمتر از ۱۰۰۰۰) باشد و این مورد کاهش CCI دو

به دنبال تزریق مکرر پلاکت، آلو آنتی‌بادی‌های ضد آلو آنتی‌ژن‌های مختلف پلاکتی شامل آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی و آنتی‌ژن‌های مشترک با سایر سلول‌ها نظیر آنتی‌ژن‌های HLA-Class I، در گیرنده ایجاد می‌شوند (۱،۲). این آلو آنتی‌بادی‌ها در پاتوژنز سندرم‌های بالینی مختلف مثل مقاومت پلاکتی (عدم پاسخ‌دهی مناسب به تزریق پلاکت)، بیماری پیوند علیه میزبان وابسته به انتقال خون، سندرم ریوی حاد مرتبط با انتقال خون^۱، واکنش‌های تب‌زای غیرهمولیتیک انتقال خون^۲ و غیره دخالت دارند (۹-۱). مقاومت پلاکتی در ۲ تا ۳۰ درصد از افرادی که تزریق مکرر خون داشته‌اند دیده می‌شود (۱۰). وفور ایمنی‌زایی علیه آنتی‌ژن‌های HLA در مطالعات متعدد به میزان مختلفی گزارش شده است: ۶۹ درصد در بیماران لوکمیک، ۸۳ درصد در بیماران غیر لوکمیک، ۶۹ درصد پس از تزریق کنسانتره پلاکتی، ۸۰ درصد در بیماران آنمی آپلاستیک و ۳۰ تا ۶۰ درصد در بیماران مبتلا به بدخیمی‌های خونی و آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی در ۹۰ درصد از پورپورای پس از انتقال خون، ۵۶ درصد از مبتلایان به AITP (ترومبوسیتوپنی اتوایمنیون) اولیه و ۳۳ درصد از نوع ثانویه دیده می‌شوند (۱۴-۱۰). نیمی از بیمارانی که تزریق مکرر پلاکت دارند، سرانجام بر علیه آنتی‌ژن‌های پلاکتی، آنتی‌بادی تولید می‌کنند (۱۵). این آنتی‌بادی‌ها ضد آلو آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکت، ضد آلو آنتی‌ژن‌های HLA یا بر علیه هر دو هستند (۱۶). درصد بروز این آنتی‌بادی‌ها بسته به عوامل مختلف متفاوت است. چنانچه فرد از نظر این آنتی‌بادی‌ها مثبت باشد، دچار عوارض مختلف مثل خونریزی و بیماری پیوند علیه میزبان می‌شود. وجود اختلافات بین آمارهای موجود می‌تواند به خاطر تفاوت در جمعیت‌های مورد بررسی و یا روش‌های اندازه‌گیری این آنتی‌بادی‌ها باشد. روش‌های معمول بررسی آنتی‌بادی‌های ضد HLA عبارتند از PRA^۳ (یا CDC)^۴، الیزا و فلوسایتومتری که در حال حاضر روش PRA برای بررسی حضور این آنتی‌بادی‌ها در گیرندگان پیوند کلیه و سایر اعضا، کاربرد عملی دارد و روش‌های بررسی آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی، روش‌های MAIPA^۵، Elisa و IF می‌باشند (۲۴-۷ و ۲).

- 1- Transfusion Related Acute Lung Injury: (TRALI)
- 2- Febrile Nonhemolytic Transfusion Reaction: (FNHTR)
- 3- Panel Reactive Antibodies
- 4- Complement-Dependent Cytotoxicity
- 5- Monoclonal Ab-Specific Immunomobilization Platelet Abs
- 6- Bone Marrow Transplantation
- 7- Corrected Count Increment

از آنجاکه متغیرها از نوع کیفی بوده و از طرفی تعداد نمونه‌ها بیش از ۴۰ عدد بودند، از آزمون آماری کای دو (با سطح اطمینان ۹۵ درصد) جهت بررسی آماری نتایج استفاده شد.

یافته‌ها

۴۴ نفر (۵۳/۷ درصد) از بیماران مورد بررسی دارای آنتی‌بادی‌های ضد HLA کلاس یک به روش فلوسایتومتری بودند. فراوانی ایزوتایپ آنتی‌بادی‌های ضد HLA-Class I بدین صورت می‌باشد: (۵۱/۲ درصد) IgM، (۳۲/۹ درصد) IgG و (۱/۲ درصد) IgA و ۳۷/۵ درصد از آنان دارای هر دو نوع IgG و IgM بودند. ۳۶ نفر از ۸۲ بیمار (۴۳/۹ درصد) نیز دارای آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی بودند که فراوانی انواع آنتی‌بادی شامل (۴۰/۲ درصد) IgM، (۳۰/۵ درصد) IgG و (۱۲/۲ درصد) IgA می‌باشد و ۴۱/۵ درصد از آنان دارای هر دو IgG و IgM بودند. از نظر آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی در دو گروه بیماران دریافت کننده پلاکت و مبتلایان به ITP (که پلاکت دریافت نکرده بودند) اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، اما از نظر آنتی‌بادی‌های IgM ضد HLA-Class I اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p=0/098$). در نهایت اختلاف معنی‌داری بین شیوع آنتی‌بادی‌های ضد HLA-Class I و اختصاصی پلاکتی برحسب جنس، نوع بیماری، تعداد واحدهای گلبول قرمز متراکم دریافتی و CCI مشاهده نشد. بابررسی شیوع آنتی‌بادی‌های HLA-Class I برحسب نوع فرآورده دریافتی (گلبول قرمز متراکم) اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد، ولی با اطمینان ۹۰ درصد اختلاف معنی‌داری بین ایزوتایپ IgM این آنتی‌بادی‌ها و نوع فرآورده دریافتی (پلاکت متراکم) مشاهده شد ($p=0/099$).

گرچه درصد موارد مثبت در زنان از درصد موارد مثبت در مردان بیشتر می‌باشد اما این اختلاف معنی‌دار نیست ولی برحسب تعداد واحد پلاکت تزریق شده اختلاف معنی‌داری مشخص شد، بدین صورت که با افزایش مصرف پلاکت متراکم (از کمتر از ۱۵ واحد تا ۳۰ واحد)، شیوع IgG و IgM ابتدا افزایش و با مصرف بیش از ۳۰ واحد

یا سه بار به طور متناوب در طول دو هفته رخ داده باشد، وضعیت بالینی و آزمایشگاهی مقاومت پلاکتی مطرح می‌شود (۲۷-۲۵ و ۶).

از آنجا که تحقیق از نوع توصیفی بود، نیاز به انتخاب گروه شاهد نبود اما جهت بررسی و اطمینان بیشتر، سرم ۳۰ نفر که اغلب دریافت کنندگان کلیه بودند، جهت غربالگری آنتی‌بادی‌های ضد HLA به روش PRA در هر دوره به همراه نمونه سایر بیماران به روش فلوسایتومتری مورد بررسی قرار گرفتند. طبق روش استاندارد CDC، به طور خلاصه گلبول‌های ۲۰ فرد دهنده جداسازی و با سرم افراد مورد مطالعه در حفرات پلیت ترازکی مجاور و درصد سلول‌های لیز شده گزارش شدند (۱۷). سرم ۱۴ زن با چند زایمان متعدد و موفق به صورت پولد به عنوان کنترل مثبت و سرم مردان با گروه خونی AB که هیچ نوع فرآورده‌خونی دریافت نکرده‌اند به عنوان کنترل منفی به روش فلوسایتومتری در هر دوره مورد بررسی قرار گرفتند. جهت اطمینان بیشتر کنترل‌های مثبت و منفی با روش PRA نیز بررسی شدند.

جهت این مطالعه از کنسانتره‌های پلاکتی ۵ فرد (با گروه خونی O) استفاده شد که به صورت جداگانه به روش PRP تهیه و از هر کیسه ۵ تا ۱۰ میلی‌لیتر نمونه با سرنگ استریل گرفته و با سانتریفوژ پلاسما جدا و سپس پلاکت‌ها مخلوط و با پارافرمالدئید ادرصد به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق فیکس شده‌اند. پس از سانتریفوژ کردن و جداسازی مایع رویی، شمارش پلاکت‌ها (برای حصول اطمینان از حضور حداقل 5×10^4 cell/ml که مورد نیاز انجام آزمایش است) بادستگاه Sys Mex انجام شد. برای حذف آنتی‌ژن‌های HLA از سطح پلاکت‌ها، نمونه فوق ۲ قسمت و یک قسمت با اسیدسیتریک ($pH=3$ و $0/26 M$) به مدت ۱۰ دقیقه در صفر درجه (ظرف یخ) انکوبه شد و سپس با حجم مساوی بافرسیترات با $pH=6/5$ خنثی گردید. جهت کنترل با استفاده از مونوکلونال آنتی‌بادی‌های ضد HLA-ABC (کنزوگه با PE)، ضد CD61، ضد CD42 و ضد CD41 کنزوگه با FITC با نمونه پلاکتی در هر دو مرحله قبل و بعد از مجاور سازی با اسید بررسی انجام شد (۲۸، ۲۹، ۳۰).

IgM، ۱ مورد از نظر ایزوتایپ IgG و ۸ مورد از نظر هر دو ایزوتایپ). از ۴۴ نمونه مثبت به روش PRA (۱۴ زن با زایمان‌های متعدد و ۳۰ بیمار کاندید پیوند کلیه)، ۱۶ مورد از نظر IgM، ۲ مورد از نظر IgG و ۲۶ مورد از نظر هر دو نوع آنتی‌بادی به روش فلوسایتومتري مثبت شدند. بررسی آماری نشان داد که همبستگی نسبتاً خوبی بین دو روش فلوسایتومتري و PRA در بررسی آنتی‌بادی‌های ضد HLA وجود دارد ($r = 0/55$ ، $p = 0/0001$).

پلاکت متراکم، کاهش معنی‌داری نشان می‌دهند. به عبارتی با افزایش تعداد پلاکت‌های تزریقی، شیوع این آنتی‌بادی‌ها به صورت معنی‌داری تغییر می‌یابند (به ترتیب با ۰/۰۱۳، ۰/۰۱۸ $p =$ برای آنتی‌بادی‌های ضد HLA-Class I با اطمینان ۹۵ درصد و ۰/۰۸۴، ۰/۰۸۹ $p =$ برای آنتی‌بادی‌های اختصاصی پلاکتی با اطمینان ۹۰ درصد). از ۸۲ بیمار مورد مطالعه فقط ۱۵ مورد (۱۸/۳ درصد) به روش PRA مثبت گزارش شدند که همگی به روش فلوسایتومتري نیز مثبت بودند (۶ مورد از نظر ایزو تایپ

جدول ۱: شیوع آنتی‌بادی‌های ضد HLA در مطالعات مختلف

نویسنده و سال مطالعه	Pamphilon 1989	Freedman 1991	Novotny 1995	Zimmermann 1999	Lapierre 2002	Current study 2004
روش به کار رفته	فلوسایتومتري PRA	فلوسایتومتري	PRA	فلوسایتومتري PRA	فلوسایتومتري PRA	فلوسایتومتري PRA
درصد آنتی‌بادی‌های ضد HLA	۴۰/۸	۴۵	(از ۱۹۴ بیمار) ۳۹ ۳۰/۴ سایر نمونه‌ها	۱۷/۴	فلوسایتومتري: ۴۵/۸ PRA: ۲۰/۸	فلوسایتومتري: ۵۳/۷ در کل نمونه‌ها، ۶۱/۳ در دریافت کنندگان پلاکت PRA: ۱۸/۳
جمعیت تحت مطالعه	مبتلایان به AML و ALL	دریافت کنندگان پلاکت راندوم	مبتلایان به ترومبوسیتوپنی آپلاستیک و دریافت کنندگان پلاکت فیلتره	دریافت کنندگان پلاکت	افراد تحت پیوند مغز استخوان	مبتلایان ITP و اختلالات خونی دریافت کننده پلاکت

جدول ۲: شیوع آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی در مطالعات مختلف

نویسنده و سال مطالعه	Graic 1986	Freedman 1991	Marshall 1994	Novotny 1995	Stockelberg 1996	Current study 2004
روش به کار رفته	فلوسایتومتري	فلوسایتومتري	فلوسایتومتري	IF & MAIPA	فلوسایتومتري Elisa MACE	فلوسایتومتري
درصد آنتی‌بادی‌های اختصاصی پلاکتی	۳۱	۴۵	۰/۰۰۳	۵۰	به ترتیب: ۴۵ ۴۵ ۳۵	۴۳/۹
جمعیت مورد بررسی	بیماری‌های خونی دریافت کننده پلاکتی	دریافت کنندگان پلاکت راندوم	مبتلایان به FMAT	مبتلایان ترومبوسیتوپنی آپلاستیک و دریافت کنندگان پلاکت فیلتره	مبتلایان به ITP	مبتلایان ITP و اختلالات خونی دریافت کننده پلاکت

بحث

۳۹ درصد آنها دارای آنتی بادی ضد HLA و ۵۰ درصد دارای آنتی بادی ضد پلاکت بودند. در این تحقیق مشخص شد که درصد ایمن سازی نسبت به HLA در اثر کاهش لوکوسیت فرآورده، از ۵۰ تا ۹۰ درصد به ۰ تا ۲۸ درصد کاهش می یابد (۳۲).

در سال ۱۹۹۹ زایمرمن و همکاران آنتی بادی ضد شاخص های مشترک و اختصاصی HLA کلاس یک را در افرادی که پلاکت دریافت کرده بودند، به روش PRA بررسی کردند. در این مطالعه ۱۷/۴ درصد از موارد، مثبت ($PRA \geq 5$) بودند، ۵۳/۷ درصد از موارد، مثبت بر علیه شاخص های اختصاصی HLA بوده مابقی بر علیه Cross-Reaction Groups (گروه های دارای واکنش متقاطع) مثبت بودند (۳۳).

در بیشتر مطالعات انجام شده مشخص شده که آنتی بادی های ضد HLA بیشتر بر علیه HLA کلاس یک تولید می شوند. هر چند در مواردی مثل پیوند اعضا (کلیه، قلب و ...) آنتی بادی های ضد آنتی ژن های HLA کلاس دو تولید می شوند که در رد یا بقای پیوند نقش مهمی دارند، اما در مواردی مثل تزریق خون و فرآورده های آن آنتی بادی ضد HLA کلاس یک با درصد بیشتری تولید می شود (۳۳ و ۷).

در سال ۱۹۹۶، استوکلیبرگ و همکاران آنتی ژن های اختصاصی پلاکتی را در ۴۵ درصد از بیماران مبتلا به ITP (۲۹ نفر از ۶۵ فرد مورد بررسی) گزارش نمودند که در ۸۹ درصد از بیماران مبتلا به ITP (۲۶ نفر از ۲۹ فرد مثبت با فلوسایتومتري) IgG وجود داشت، از این تعداد ۱۲ نفر IgG به تنهایی، ۶ نفر IgA و ۳ نفر IgM و ۵ نفر هر سه نوع آنتی بادی را دارا بودند (۳۴).

در مطالعه حاضر جهت بررسی آنتی بادی های ضد HLA-Class I از پلاکت به عنوان سلول هدف استفاده شد زیرا تراکم مولکول های HLA-Class I در سطح پلاکت ها و لئوسیت ها مشابه بوده و کلاً ۷۰ درصد از آنتی ژن های خون محیطی را تشکیل می دهند (۳۵). از طرفی تهیه سوسپانسیون پلاکتی راحت تر و سریع تر صورت گرفته و حتی می توان از کنسانتره پلاکتی و کیسه های پلاکتی که جهت کارهای کنترل کیفی مورد بررسی قرار گرفته اند و قابل تزریق به بیماران نیستند، استفاده کرد. به همین دلیل در

نتایج این تحقیق نشان داد که شیوع آنتی بادی های ضد HLA-Class I و ضد پلاکتی، در بیماران مبتلا به اختلالات خونی نظیر (آنمی آپلاستیک و لوکمیا حاد) که در طی درمان، پلاکت یا گلبول قرمز تراکم دریافت نموده اند و بیماران ITP با روش فلوسایتومتري به ترتیب ۵۳/۷ درصد و ۴۳/۹ درصد می باشند. مطالعات قبلی نیز نشان دادند که بیشتر آلوآنتی بادی های پلاکتی علیه لوکوس های HLA هستند (۱۰). در سال ۱۹۸۹، پمفیلون و همکاران، آنتی بادی های ضد HLA-Class I را در ۴۹ بیمار مورد بررسی (۲۰ فرد مبتلا به ALL و ۲۹ فرد مبتلا به AML) به روش فلوسایتومتري و سایتوتوکسیسیتی بررسی نموده و شیوع آنها را در ۴۰/۸ درصد از بیماران (۷ بیمار مبتلا به ALL و ۱۳ فرد مبتلا به AML) گزارش نمودند. آنها مطرح کردند که این آنتی بادی ها در بیماران مبتلا به AML به علت تزریق بیشتر تعداد واحدهای خون، توسعه بیشتری دارند (۳۱).

در سال ۱۹۹۱ فریدمن و همکاران آنتی بادی های ضد HLA-Class I را در افرادی که تزریق پلاکت راندوم داشتند، با استفاده از روش فلوسایتومتري مورد بررسی قرار دادند. این گروه سرم بیمارانی را که سابقه تزریق پلاکت داشتند با مخلوط پلاکت و لئوسیت مجاور شده با اسید و پلاکت و لئوسیت طبیعی نزدیک کرده سپس نمونه ها را مورد بررسی قرار دادند؛ که ۳۸ نفر از ۸۰ نفر (۴۵ درصد) دارای آنتی بادی پلاکتی بودند و از این تعداد حدود ۸۹ درصد آنتی بادی پلاکتی و HLA به صورت توأم، ۸ درصد فقط آنتی بادی ضد HLA و ۳ درصد فقط آنتی بادی ضد پلاکت داشتند (۲۹).

در سال ۱۹۹۵ نوتنی و همکاران به بررسی آنتی بادی های ضد HLA در ۲۲۹ بیمار مبتلا به ترومبوسیتوپنی آپلاستیک که پلاکت و فرآورده خونی دریافت کرده بودند به روش PRA و با استفاده از پانل ۲۱ تا ۵۰ تایی پرداختند. نتایج به دست آمده بدین صورت بود که ۲۹ نفر از بیماران (۱۸/۴ درصد) از ابتدا دارای آنتی بادی ضد HLA بودند و ۱۹ نفر (۱۲ درصد) آنها نیز بعداً این آنتی بادی ها را تولید کردند و از ۱۹۴ بیماری که سابقه تزریق پلاکت داشتند، حدود

حساسیت‌های متفاوت استفاده شده باشد، از طرفی در حدود ۳۰ تا ۶۰ درصد موارد تولید آنتی‌بادی ضد HLA و ایمن‌سازی نسبت به آن در مراحل اولیه ایمن‌سازی و به صورت پایه قابل تشخیص نیستند (به‌خصوص در بیمارانی که تحت پیوند مغزاستخوان قرار گرفته‌اند یا مبتلایان به لوکمی) که علت آن بیماری‌های جانینی، وضعیت ایمنولوژیک فرد و یا درمان‌های سرکوبگر ایمنی می‌باشد (۴۰).

پس از بررسی آنتی‌بادی‌ها نسبت به نوع بیماری مشخص شد که از ۶ بیمار مبتلا به آنمی آپلاستیک ۳ بیمار (۵۰ درصد)، از ۱۹ بیمار مبتلا به ALL ۱۲ بیمار (۶۳/۲ درصد)، از ۳۳ بیمار مبتلا به AML ۲۰ بیمار (۶۰/۶ درصد) و از ۲۴ بیمار مبتلا به ITP ۹ بیمار (۳۶/۵ درصد) دارای آنتی‌بادی ضد HLA-Class I بوده‌اند، ولی در مطالعات گذشته درصد ایمن‌سازی در بیماران مبتلا به آنمی آپلاستیک نسبت به اختلالاتی مثل ALL و AML و سایر لوکمی‌ها بیشتر تخمین زده شده است و علت آن درمان‌های دارویی و ایمنوساپرسیو در لوکمی که باعث ضعیف شدن سیستم ایمنی می‌شود، بیان شده است (۳۸، ۵، ۳). علت مغایرت نتایج به‌دست آمده در مطالعه حاضر شاید به دلیل کم بودن تعداد موارد آنمی آپلاستیک (۶ مورد) نسبت به ALL (۱۹ مورد) و AML (۳۳ مورد) باشد. ولی درصد ایمن‌سازی در مواردی مثل لوکمی ALL و AML مشابه مطالعات قبلی می‌باشد (۴۱، ۵، ۳).

در مطالعات قبل مشخص شد که: آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی در ۴۲ تا ۷۰ درصد موارد منجر به عدم پاسخدهی مناسب به تزریق پلاکت می‌شوند (۱۰). در این مطالعه نیز ۴۳/۹ درصد موارد مثبت گزارش شدند. درصد شیوع موارد مثبت (بدون تفکیک نوع آنتی‌بادی) نسبت به نوع بیماری بدین صورت می‌باشد: ۴ مورد (۶۶/۵ درصد) از ۶ مورد بیمار، مبتلا به آنمی آپلاستیک، ۸ مورد (۴۲/۱ درصد) از ۱۹ بیمار، مبتلا به ALL، ۱۲ مورد (۳۶/۴ درصد) از ۳۳ بیمار، مبتلا به AML و ۹ مورد (۳۷/۵ درصد) از ۲۴ بیمار مبتلا به ITP دارای آنتی‌بادی اختصاصی پلاکتی بودند. از نظر شیوع آنتی‌بادی‌های اختصاصی پلاکتی بین بیماران دریافت‌کننده پلاکت و بیمارانی که پلاکت دریافت نکرده‌اند (مبتلایان به ITP)، اختلاف

این مطالعه همانند برخی مطالعات دیگر از پلاکت به‌عنوان سلول هدف جهت بررسی آنتی‌بادی‌های HLA-Class I، استفاده شده است (۲۹).

در برخی مطالعات از مخلوط پلاکت و لنفوسیت در ردیابی آنتی‌بادی‌های ضد HLA استفاده شده که این روش دارای مزایا و معایبی است، از جمله: استفاده از مخلوط پلاکتی و لنفوسیتی اختصاصیت‌آزمایش در ردیابی آنتی‌بادی‌ها را افزایش می‌دهد ولی از آنجا که لنفوسیت‌ها (به‌خصوص B cell) دارای رسپتور برای بخش F.C آنتی‌بادی‌ها هستند، اتصال آنتی‌بادی ثانویه کنژوگه به FITC به این رسپتورها باعث اختلال (مثبت کاذب) در آزمایش می‌شود (۱۷).

در مطالعات انجام شده ایزوتایپ آنتی‌بادی‌ها از نوع IgM، IgG و به ندرت از نوع IgA تعیین شده‌اند، هرچند بیشتر تحقیقات به بررسی آنتی‌بادی‌ها بدون بررسی انواع آن‌ها پرداخته‌اند (۳۸-۳۶، ۱۷). در مواردی که پس از انتقال خون آنتی‌بادی ایجاد می‌شود، بیشتر از کلاس IgG گزارش شده است (۳۹، ۳۶). اما در این مطالعه آنتی‌بادی‌های ضد HLA-Class I و آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی بیشتر از کلاس IgM بوده‌اند. علت به‌دست آمدن درصد بالاتر از IgM نسبت به IgG در این مطالعه شاید به دلیل زمان نمونه‌گیری از بیماران باشد؛ زیرا نمونه‌ها بلافاصله پس از یک یا دو بار عدم پاسخدهی مناسب به تزریق پلاکت، طبق تشخیص مشاورین بالینی، یعنی وقتی که بیمار احتمالاً در بدو ایمن‌سازی بوده است، گرفته شده‌اند. نتایج به‌دست آمده در این مطالعه مشابه سایر مطالعات بود (جدول ۱ و ۲ به‌صورت مقایسه‌ای با سایر مطالعات).

در مطالعات قبل مشخص شد که آنتی‌بادی‌های ضد HLA در ۳۰ تا ۵۰ درصد موارد منجر به عدم پاسخدهی مناسب به تزریق پلاکت می‌شوند (۱۵). در این مطالعه نیز از آنجا که ۶۲ نفر از بیماران تحت بررسی دچار مقاومت پلاکتی شده بودند، شیوع این آنتی‌بادی‌ها ۶۱/۳ درصد گزارش شدند. در مطالعات مختلف، ایمن‌سازی نسبت به آنتی‌ژن‌های HLA با درصدهای مختلف گزارش شده است و حتی در بررسی بیماران مبتلا به اختلالات خونی نیز نتایج یکسان به‌دست نیامده است که می‌تواند به این دلایل باشد: ممکن است از روش‌ها و تکنیک‌های مختلف با درصد اختصاصیت و

(۴۴). لذا احتمالاً اختلاف بین دو روش فوق بدینوسیله قابل توجیه می‌باشد و روش فلوسایتومتري ماندروش الیزا امکان بررسی آنتی‌بادی‌های مذکور را نیز فراهم می‌سازد (۱۷). با ردیابی آنتی‌بادی‌های ضد HLA می‌توان در اتخاذ سریع‌تر روش مناسب در درمان مقاومت پلاکتی کمک بیشتری نمود، زیرا اگر مقاومت پلاکتی به دلایل ایمنون ناشی از تولید آنتی‌بادی HLA باشد، با تزریق پلاکت راندام نه تنها نمی‌توان پاسخ مناسبی را در بیمار انتظار داشت بلکه احتمالاً درصد ایمن سازی نیز افزایش می‌یابد. در این گونه موارد توصیه می‌شود پلاکت سازگار از نظر HLA به بیمار تزریق شود که بررسی سازگاری پلاکتی نیز با استفاده از روش فلوسایتومتري امکان‌پذیر می‌باشد (۴۵)، (۳۹). گرچه با تزریق پلاکت سازگار از نظر HLA نیز، ۱۵ تا ۲۰ درصد از دریافت‌کنندگان پلاکت، آنتی‌بادی ضد پلاکت و HLA تولید می‌کنند که علت آن شاید به دلیل ایمن‌سازی اولیه در مراحل قبل باشد (۳۵، ۲۹). بررسی آنتی‌بادی‌های ضد HLA و تعیین ایزوتایپ آنها در پیوند اعضا، درمان افراد دیالیزی و پیش‌بینی درصد بقا یا رد پیوند نیز مفید است؛ به‌ویژه در تجسس آنتی‌بادی‌هایی که خاصیت سایتوتوکسیک نداشته و در روش PRA قابل تشخیص و گزارش نمی‌باشند.

پیشنهاد می‌شود مطالعات مشابه با در نظر گرفتن حجم بیشتر نمونه از افراد مبتلا به مقاومت پلاکتی و افراد غیرمقاوم و در صورت امکان نمونه‌گیری و بررسی در دو مرحله قبل و بعد از تزریق پلاکت و سایر فرآورده‌های خونی صورت پذیرد تا نمونه‌هایی که انتخاب می‌شوند از نظر تولید آنتی‌بادی (آلو یا اتوآنتی‌بادی)، سطح ایمنی و وجود یا عدم وجود ایمن سازی اولیه نیز مورد بررسی قرار گیرند. همچنین انجام مطالعات بیشتر با تعداد نمونه بیشتر و با در نظر گرفتن زمان دریافت پلاکت و سایر فرآورده‌های خونی و دفعات تزریق فرآورده‌های خونی، قابل توصیه می‌باشد. پیشنهاد می‌شود جهت افزایش اختصاصیت در انجام مراحل آزمایش و بررسی هم‌زمان آنتی‌بادی‌های ضد Class I, II HLA از روش‌های فلوسایتومتري که قابلیت تشخیص ذرات پوشیده شده با

معنی‌داری وجود ندارد و احتمالاً این یافته بیانگر حضور اتوآنتی‌بادی‌های ضد پلاکت در مبتلایان به ITP است که با این روش قابل ردیابی می‌باشند.

در بررسی نتایج، اختلاف معنی‌داری بین آنتی‌بادی‌های ضد HLA-Class I و آنتی‌بادی‌های اختصاصی پلاکتی بر حسب جنس مشاهده نشد ولی درصد ایمن سازی در افراد مونث (به ترتیب ۵۷/۵ درصد و ۴۵ درصد) بیشتر از افراد مذکر (۵۰ درصد و ۳۵/۷ درصد) به دست آمد که در مطالعات مشابه نیز اختلاف معنی‌داری گزارش نشده ولی درصد بالاتر موارد مثبت در خانم‌ها احتمالاً به دلیل شدیدتر بودن پاسخ ایمنی در این جنس و یا داشتن سابقه حاملگی (یا نوعی ایمن سازی اولیه) باشد (۱۶، ۳). علت کاهش شیوع موارد مثبت در افرادی که بیشتر یا مساوی ۳۰ واحد پلاکت دریافت کرده‌اند، احتمالاً تولید آنتی‌ایدیوتایپ آنتی‌بادی و یا سلول‌های سرکوبگری تزریقات مکرر و زیاد پلاکت می‌باشد (اثر تعدیل ایمنی انتقال خون)^۱ (۴۲، ۳۱). همچنین با بررسی شیوع آنتی‌بادی‌های ضد HLA-Class I بر حسب دریافت یا عدم دریافت پلاکت، مشخص شد که درصد موارد مثبت از نظر آنتی‌بادی ضد HLA کلاس یک در گروهی که پلاکت دریافت کرده‌اند (۶۱/۳ درصد) بیشتر از گروهی که سابقه تزریق پلاکت نداشتند (۳۰ درصد) می‌باشد، به عبارتی اختلاف معنی‌داری بین شیوع آنتی‌بادی‌های ضد HLA-Class I با دریافت یا عدم دریافت پلاکت مشاهده شد (با اطمینان ۹۰ درصد و $p=0/098$) که علت آن را می‌توان حساس شدن و تولید آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن‌های HLA سطح لکوسیت موجود در کسانتره پلاکت طی تزریق پلاکت، بیان کرد (۴۳، ۳۲، ۸).

یافته‌های ما نشان دادند که از ۴۴ مورد مثبت با روش PRA، همگی با روش فلوسایتومتري مثبت شدند در حالی که فقط ۱۵ نفر از بیماران با هر دو روش از نظر حضور آنتی‌بادی‌های HLA-Class I مثبت شدند و ۲۸ نفر از بیماران که با روش فلوسایتومتري مثبت شده‌اند، با روش PRA منفی بودند. انجام آزمایش فعال‌سازی کمپلمان (در روش PRA یا لفتوتوکسیسیتی تست LCT) گرچه برای بررسی آنتی‌بادی‌های HLA مناسب است، اما آنتی‌بادی‌های غیرقابل اتصال به کمپلمان در این روش ارزیابی نمی‌شوند

1-Transfusion Related Immunomodulation: TRIM

انتقال خون ایران تأمین گردیده‌است.

بدینوسیله نویسندگان مقاله تشکرات خود را از همکاری دکتر زهره عطارچی، دکتر اسداله موسوی، حمید کاویانی، مهین نیکوگفتار، دکتر شهرام وائلی، محمدباقر سعیدی، سیمین دخت بصیرپناه، اشرف السادات موسوی، زهرا شهریاری، فخری افشاری، پری جهان زادصفا و ام کلثوم شیرزاد ابراز می‌دارند.

آنتی‌ژن‌های HLA-Class I,II را دارند استفاده شود (Flow-PRA). استفاده از این ذرات که با آنتی‌ژن‌های HLA-Class I,II پوشیده شده‌اند باعث افزایش دقت و سرعت می‌شود از طرفی می‌توان ایزوتایپ آنتی‌بادی‌های ضد HLA-Class I یا HLA-Class II را نیز مشخص کرد و حتی مقدار این آنتی‌بادی‌ها را به صورت کمی تعیین نمود (۲۰، ۴۶، ۴۷).

تشکر و قدردانی

هزینه‌های این تحقیق توسط مرکز تحقیقات سازمان

منابع

- 1- Helmberg W, Folsch B, Wanger T, and Lanzer G: Detection and differentiation of platelet-specific antibodies by flowcytometry: the bead-mediated platelet assay. *Trans fusion*, 1997, 37, p: 502-506.
- 2- Sumitran-Karuppan S: The clinical important of choosing the right assay for detection of HLA-specific donor-reaction antibodies. *Transplant*, 1999, 64 (4), p: 502-509.
- 3- Oksanen k: leukocyte-depleted blood components prevent platelet refractoriness in-patients with acute myeloid leukemia. *Eur.J, hematol*, 1994,53,p:100-107
- 4- Kickler T, p Chapter 14 : Platelet Immunology. In Anderson & Ness, *Scientific Basis of Transfusion Medicine Implications for Clinical Practice*, 2th ed, 2000, W.B. Saunders company , Phisadelphia. p: 230-233
- 5- Boral L. M.D, Weiss E. M.D, Henry J.B, M.D, chapter 31: Transfusion medicine, In book: Henry j.B. M. D, *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, 20 Th Ed, , 2003 , W.B. Saunders company , New York. p: 740-743, 2001
- 6- Benson K, M. D, Chapter 2: Criteria for Diagnosing Refractoriness to platelet Transfusion, In : Kickler T. S, Herman J.H, *Current Issues in Platelet Transfusion Therapy and Platlet Alloimmunity* , , 1999, Bethesda, Maryland. , p: 32-38
- 7- Shivdasani A, R, Haluska F. G, Dock L.N, *et al*: Graft-Versus-Host Disease Associated with Transfusion of Blood from Unrelated HLA-Homozygous Donor. *The New Engl. J.Med*. 1993, 328 (11), p: 766-770
- 8- Worflkl A, Macpherson B. R: The detection of Platelet alloantibodies by flowcytometry. *Transfusion*, 1991, 31, p: 340-344.
- 9- Kopko M. P, popovsky M. A, mackenzie R. M, *et al*: HLA classII antibodies in transfusion -related acute lung injury. *Transfudion*, 2001, 41, p: 1244-1248.
- 10- Rosenfeld C.S , Bodensteiner D.C : Detection of Platelet Alloantibodies by Flow cytometry. *AM. J. Clin, Patol*, 1986, 85, p:177-212
- 11- Datema G: A study of platelet antibodies in multiply transfused hematology patients. *Ann. Acad. Med*, 1995, 24(2): 305.
- 12- Febris F, Soin B, Sartori R, *et al*: Clinical & Laboratory factors that effect the post transfusion platelet increment. *Transfusion. Sci*, 2000, 23(1), p: 63-68.
- 13- Moldenharer A, kohlbus R, salama A:An extended Lymphocytotoxicity test for patients treated with lymphocytotoxic antibodies. *Vox. Sang*, 2000, 78 (40), p: 250-253.
- 14- Hogge D. E, MC Connell M, Jacobson C, *et al*: Platelet refractoriness and alloimmunization in pediateric onocology and bone marrow transplant patients. *Transfusion*, 1995, 35, p: 645-652.
- 15- Fujihara M, Azuma H, Ikeda H: Inactivation of Leukocytes by UVB irradiation: Mechanisme and Clinical application in Trasfusion Medicin, In book: *Recent research developments in Immunology*, 2002, vol 4, part I, p: 27-42, Research signspot.
- 16- Sullivan K. A, Kipps T. J, chapter 138 : Human Leukocyte Platelet Antigens, In book: Beutler E, Lichtman A. M, Coller S. B, Kipps J. T, Seligsohn U, *Willams Hematology* , 6 Th ed, 2000, , MC Graw Hill, New York. , p: 1859-1869
- 17- Costa A.N, Scolari MP, Iannelli S, *et al*: ELISA Anti-HLA Antibody screeing Identifies Non-Completement-fixing Antibodies Responsible for Acute Graft Rejection. A case Report. *Eury. J. Immunogenetics* , 1996, p: 383-387
- 18- Zachary A, A, Ratner L. E, Leffell M. S: Low levels of HLA- specific Anti body: Relevance, Detection, and Treatment. *Transplantation prosc*, 2000, 21(4), p: 469-470.
- 19- Wang R. G, Tarsitani C, Rojo S, *et al*: Simultaneous HLA class I and class II Antibodies Screening with flowcytometry. *Human Immunology*, 1998 , 59 , p:313-322.

- 20- Tambur A. R, Bray R. A, Takemoto S. K, *et al*: Flowcytometric Detection of HLA- Specific Antibodies As a predictor of Heart Allograft Rejection. Transplantation, 2000, 70 (7), p: 1055-1059.
- 21- Bray R. A, Cook D. J, Gebel H. M: Flowcytometric detection of HLA alloantibodies using class I coated Microparticles. Hum Immunol, 1997, 55(suppl 1), p: 36.
- 22- Denofrio D, Rho R, Morales F.J, *et al*: Detection of Anti-HLA Antibody by Flowcytometry In Patients With a Left Ventricular Assist Device Is Associated with early Rejection Following Heart Transplantation. Transplantation, 2000, 69(5), p: 814-818.
- 23- Marshall L. R., Brogden F.E, Roper T. S, barr A. L: Antenatal platelet antibody testing by flowcytometry results of pilot study. Transfusion 1994, 34, p: 961-965.
- 24- Thomsen A. C, Sommer E, Demuc C, CaLot M. Ohayon E: Platelet absorption on the test tray (DATT): A rapid method for the screening of HLA class II antibodies using the two-colour fluorescence method. Tissue Antigens, 1985, 26, p: 193-200.
- 25- line T: chapter 24 : Approach to the platelet Refractory patient, In book: Hillyer D.C, Hillyer K.L, Stroble F.J, Jefferies L. C, Silberstein L. E, Hand book of Transfusion Medicine, 2001, Academic press, philadelphia. , p: 209-218
- 26- Murphy F. M, Hematological disease , In: Murphy FM, pamphilon DH, Practical Transfusion Medicine, , 2001, Black well science, Paris, France. P: 113-115
- 27- Pereira J: Platelet alloimmunization in-patients with oncologic blood disorders treated with multiple transfusion prospective study in adults and children. Rev. med. Clin. 1997, 125(11), p: 1305-1315.
- 28- Kurata, Y, Oshida M, Take H, *et al*: New Approach to Eliminate HLA class I Antigens from platelet surface without cell damage: Acid Treatment at PH 3.0. Voxsang , 1989 , 57 , p: 199-204
- 29- Freedman J and hornstein: A Simple Method for Differentiating Between HLA and Platelet- specific Antibodies by Flowcytometry. Ame. J, Hematol, 1991, 38, p: 314320
- 30- Sugawara S, Abo T, Kumagi K: A Simple method to eliminate the antigenicity of surface class I MHC molecules from the membrane of viable cells by acid treatment at PH 3.0.J. Immunol. Methods, 1987,100, p: 100.
- 31- Pamphilon D.H, Farell D.H, Donadson C, Raymond P.A, Brady C.A: Development of lymphocytotoxicity and platelet Reactive antibodies: A prospective study in patients with Acute Leukemia. Vox.Sang 1989; 57: 177- 81
- 32- Sirchia G. MD: HLA-reduced platelets to overcome platelet refractoriness: Can- lemons helpe?, Transfusion, 1996, 36(5), p: 388-391.
- 33- Nordhagen R, Flaathen ST: Chloroquine removal of HLA Antigens from platelets for the platelet immunofluorescens test. Vox sang, 1985, 48, p: 156-159.
- 34- Stockelberg D , Hou M.J, Jacobson S *et al*: Detection of platelet antibodies in chronic ITP. A comparative study using flow cytometry , a whole platelet ELISA , and an antigen capture ELISA.Eur.j. Haematology 1996 , 56 : 72 -77
- 35- Brand, A: review of immunological aspects of blood transfusions. Transplant Immunology , 2002 , 10 p: 183-190
- 36- Navarrete V. C, chapter 4: human leucocyte antigens, In book: murphy M.F, pamphilon DH, practical Tracfusion medicin, , 2001, Black well science, Paris, France p: 43-49.
- 37- Scornik J.C, Salomon D. R, Lim P. B, Howard R, J, Pfaff W.W: Posttransplant Antidonor Antibodies And Graft Rejection. Transplantation, 1989, 47 (2), p: 287-290.
- 38- Prezybylowski P, Balogna M, Radorancevic. B, *et al*: The Role of Flowcytometry-Detected IgG and IgM Anti-Donor Antibodies in Cardiac Allograft Rejection. Transplantation, 1999, 67(2), p: 258-261.
- 39- Mollison, pl : chapter 13 : Immunology of leucocytes, Platelets and plasma componentes, In book: Mollison Pl., Engelfriet Cp, contreras M, Blood tranfusion in Clinical Medicin, 10th ed , 1997, black well science. London. p: 425-453
- 40- Friedman D. F, Lukas M. B, Jawad A, *et al*: Alloimmunization to platelets in Heavily Transfused patients with Sickde Cell Disease. Blood, 1996, 88(8), p: 3216-3222
- 41- Kickler S. T : chapter 136: Primicples of platelet Transfusion Therapy, In book: Hoffman R, Benz, E. J, shattil J. S, Furie B, Cohen H. J, Silberstein E. L, Mc Glave P, Hematology Basis principles and practice, 3th ed, 2002, , churchill Livingstone, philadelphia. , p: 2248-2257
- 42- Atlas E, Freedman J, Blanchette V, Kazatchkine MD, Semple J :Downregulation of the anti-HLA alloimmune response variable region-reactive(anti-idiotypic) anti - idiotypic) antibodies in leukemic patients transfused with platelet concentrates. Blood , 1993; 81(2): 538-542
- 43- Novotny M. J, Doorn R, Witvliet M. D, Class H.J. Brand A: Occurence of Allogeneic HLA and Non-HLA Antibodies After Transfusion of pre storage Filtered Platelets and Red Blood Cell (LL): A prospective study Blood, 1995, 85(7), p: 1736-1741.
- 44- Von Dem Brone A.E.G.Kr , Verheugt F.W.A , Oosterhof F, *et al* : A simple immunofluorescence test for the detection of platelet antibodies. bjh , 1978 , 39 : 195
- 45- Garovoy M. R, Rheinschmit MA, Corbin SA, *et al*: Flowcytometry analysis: A high thecnology cross match thechinque facilitating. Transplantation. Proc. 1983, 15(3), p: 1939
- 46- Scornik J.C, Salomon D. R, Lim P. B, Howard R, J, Pfaff W.W: Posttransplant Antidonor Antibodies And Graft Rejection. Transplantation, 1989, 47 (2), p: 287-290.
- 47- Muller-Steinhardt M, Fricke L, Kirchner H, *et al*: Monitoring of anti-HLA class I and II antibodies by flowcytometry in patients after first cadaveric kidney transplantation. Clin. Transplantation, 2000,14, p:85-89.

Flowcytometric evaluation of antibodies against histocompatibility antigens and platelet-specific antigens in patients with hematological disorders following the transfusion of platelets concentrates

Shaiegan M¹. , Amiri F¹. , Derakhti Gonbad M.H¹. , Aghaeipour M¹. , Maghsudlu M¹. , Tabatabaian A¹. ,
Irvani M². , Vosugh P³. , Rajaei S¹. , Kokab Sayar E¹.

¹Iranian Blood Transfusion Organization- Research Center

²Haematology, Oncology and Bone Marrow Research Center- Dr. Shariati Hospital

³Iran University of Medical Sciences

Abstract

Background and Objectives

Blood transfusion may lead to the manifestation of anti-HLA and platelet-specific antibodies that may in turn bring about different problems like platelet refractoriness. It appears that the study of antibodies against HLA-Class I and platelet-specific antigens are useful for the selection and success of the appropriate treatment protocol. The aim of this study was to detect anti-HLA and anti-platelet-specific antibodies by flowcytometry in patients with hematologic disorders (including Acute Leukemia, Aplastic Anemia) and patients with ITP.

Materials and Methods

In this descriptive study, anti-HLA and platelet-specific antibodies were detected by flowcytometric technique, using 62 sera drawn from patients with different hematological disorders who showed a poor response to platelet transfusion and 20 from patients with ITP. The results of anti-HLA antibodies were then compared by Panel Reactive Antibodies (PRA).

Results

Our results showed 44 (53.7%) out of 82 patients had anti-HLA Class-I antibodies in their sera. The frequency of each antibody isotype was found to be as follows: IgM (51.2%), IgG (32.9%) and IgA (1.2%). 36 (43.9%) out of 82 patients had platelet specific antibodies and the frequency of each antibody isotype was found to be as follows: IgM (40.2%), IgG (30.5%) and IgA (12.2%). 27 (31.7%) out of 82 patients had both antibodies. No difference was found between the two groups in platelet specific antibodies. Despite significant correlation between flowcytometry and PRA methods, PRA can only detect antibodies which react with complement.

Conclusions

With increase in the number of platelet transfusion, immunization to HLA antigens occurs; moreover, immunization against platelet specific antigens may also occur during autoimmunity. The presence of these antibodies may be one of the reasons of poor response to platelet transfusion and platelet refractoriness in patients under study. Conducting similar studies with higher number of samples, platelet cross-match, and the use of HLA- matched platelets for these patients are recommended.

Key words: HLA-antibodies, Hematological disorders, Flowcytometry, Platelet refractoriness, PRA, Platelet specific antibodies

Correspondence: Shaiegan M., PhD, IBTO-Research Center- Tehran

Tel.: (+9821) 8601501-20; Fax : (+9821) 8601555

E-mail: shaiegan@ibto.ir