

خون

فصلنامه علمی پژوهشی

زمستان ۸۳ سال ۱ شماره ۲

بررسی فلوسایتومتریک آنتی‌بادی‌های ضدآنتی‌ژن‌های سازگاری بافتی و آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی در مبتلایان به اختلالات خونی دریافت کننده پلاکت

دکتر مژگان شایگان^۱، فاطمه امیری^۲، محمد حسین درختی گنبد^۳، دکتر مهناز آقایی پور^۴، دکتر مهتاب مقصودلو^۵، اعظم السادات طباطبائیان^۶، دکتر مسعود ایروانی^۷، دکتر پروانه وثوق^۸، سعید رجایی^۹، اسماعیل کوکب سیار^{۱۰}

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. بدنهای 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 (لوكمیا حاد، آنمی آپلاستیک و ITP) با روش فلوسایتومتری است.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق که به روش توصیفی انجام شده، ایزوتاپ 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 ۲۴ نفر از ۸۲ بیمار (۵۳/۷ درصد) دارای آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های I HLA-Class می‌باشند. فراوانی ایزوتاپ‌ها بین صورت است: ۵۱/۲ (۳۲/۹ درصد) IgM و ۱/۲ (۱ درصد) IgG و ۳۶ نفر از ۸۲ بیمار (۴۳/۹ درصد) نیز دارای آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی بودند که فراوانی ایزوتاپ‌ها شامل (۲۰/۵ درصد) IgG و (۱۲/۲ درصد) IgM 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 I HLA-Class در این دو گروه متفاوت است. گرچه همبستگی خوبی بین دو روش فلوسایتومتری و PRA به‌چشم 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 I HLA-Class 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 برروی تعداد نمونه بیشتر، کراس مچ 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 مسؤول: 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 زیست شناسی - مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران

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

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

۸- کارشناس آزمایشگاه - مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران

۹- لیسانس میکروب‌شناسی - مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران

مقدمه

به دنبال تزریق مکرر پلاکت، آلو آنتی‌بادی‌های ضد آلو آنتی‌ژن‌های مختلف پلاکتی شامل آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی و آنتی‌ژن‌های مشترک باسایر سلول‌های ناظیر آنتی‌ژن‌های HLA-Class I، در گیرنده ایجاد می‌شوند (۱، ۲). این آلو آنتی‌بادی‌ها در پاتوژنز سندرمهای بالینی مختلف 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 (۳-۹). مقاومت پلاکتی در ۲۰ تا ۳۰ درصد از افرادی که تزریق مکرر خون داشته‌اند دیده می‌شود (۱۰). وفور این‌زایی 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 بدخيیمی‌های خونی و آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی در ۴۰ درصد از پورپورای AITP پس از انتقال خون، ۵۶ درصد از مبتلایان به AITP (تروموبوسیتوپنی اتوایمیون) اولیه و ۳۳ درصد از نوع ثانویه دیده می‌شوند (۱۰-۱۴). 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 هردو 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 فلوسایتومنتری که در حال حاضر روش PRA برای بررسی حضور این آنتی‌بادی‌ها در گیرنده‌گان پیوند کلیه و سایر اعضاء، کاربرد عملی دارد و روش‌های بررسی آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی، روش‌های MAIPA^۵، IF Elisa^۶ و IF^۷ می‌باشند (۲۴-۷).

مواد و روش‌ها

مطالعه انجام شده از نوع توصیفی و روش نمونه‌گیری تصادفی می‌باشد. جامعه مورد مطالعه شامل ۶۲ بیمار مبتلا به لوکمیای 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 مذکور می‌باشند. این افراد بیماران مراجعه‌کننده به مرکز پیوند مغراستخوان بیمارستان دکتر علی‌شریعتی 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 فراورده‌های خونی نظیر گلبول قرمز متراکم استفاده کرده‌اند. عدم پاسخ‌دهی مناسب به تزریق پلاکت با محاسبه CCI^۷ ارزیابی می‌شود. چنان‌چه CCI یک ساعت پس از تزریق پلاکت، کمتر از ۷۵۰۰ (یا کمتر از ۱۰۰۰۰) باشد و این مورد کاهش CCI^۷ دو

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 متغیرهای 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 فلوزایتومتری بودند. فراوانی ایزووتایپ 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 IgM و IgG 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 IgM و IgG 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 HLA-Class IgM ضد I آنچه در میان HLA-Class I مختلف معنی‌دار می‌باشد آنتی‌بادی‌های ضد HLA-Class I و آنتی‌بادی‌های ضد HLA-Class IgM در نهایت اختلاف معنی‌داری بین شیوع آنتی‌بادی‌های ضد HLA-Class I و آنتی‌بادی‌های ضد HLA-Class IgM مشاهده شد (p=۰/۰۹۸). در نهایت این آنتی‌بادی‌ها و نوع فرآورده دریافتی (گلوبول فرمز متراکم) در میان این آنتی‌بادی‌ها و نوع بیماری، تعداد واحدهای گلوبول قرمز متراکم دریافتی و CCI مشاهده نشد. با بررسی شیوع آنتی‌بادی‌های HLA-Class IgM بر حسب نوع فرآورده دریافتی (گلوبول قرمز متراکم) اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد، ولی با اطمینان ۹۰ درصد اختلاف معنی‌داری بین ایزووتایپ IgM این آنتی‌بادی‌ها و نوع فرآورده دریافتی (پلاکت متراکم) مشاهده شد (p=۰/۰۹۹).

گرچه درصد موارد مثبت در زنان از درصد موارد مثبت در مردان بیشتر می‌باشد اما این اختلاف معنی‌دار نیست ولی بر حسب 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 IgM و IgG 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).

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 فلوزایتومتری مورد بررسی قرار گرفتند. طبق روش استاندارد CDC، به طور خلاصه گلوبول‌های ۲۰ فرد دهنده جداسازی و با سرم افراد مورد مطالعه در حفرات پلیت ترازاکتی مجاور و درصد سلول‌های لیز شده گزارش شدند (۱۷). سرم ۱۴ ازن 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 فلوزایتومتری در هر دوره مورد بررسی قرار گرفتند. جهت اطمینان بیشتر کنترل‌های مثبت و منفی با روش PRA نیز بررسی شدند.

جهت این مطالعه از کنسانترهای پلاکتی ۵ فرد (با گروه O) استفاده شد که به صورت جداگانه به روش PRP^۱ 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 ۱ درصد 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 5×10^8 cell/ml که مورد نیاز انجام آزمایش است) با دستگاه Sys Mex انجام شد. برای حذف آنتی‌ژن‌های HLA از سطح پلاکت‌ها، نمونه فوق ۲ قسمت و یک قسمت با اسیدسیتریک (pH=۳ و M pH=۳) به مدت ۱۰ دقیقه در صفر درجه (ظرف یخ) انکوبه شد و سپس با حجم مساوی با فرسیترات با pH=۶ مخفی گردید. جهت کنترل با استفاده از مونوکلونال آنتی‌بادی‌های ضد HLA-ABC (کنژوگه با PE)، ضد CD42، ضد CD61، ضد CD41 CD41 کنژوگه با FITC با نمونه پلاکتی در هر دو مرحله قبل و بعد از مجاور سازی با اسید بررسی انجام شد (۳۰، ۲۹، ۲۸).

IgM، ۱ مورد از نظر ایزوتابیپ IgG و ۸ مورد از نظر هر دو ایزوتابیپ). 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 فلوسایتومتری مثبت شدند. بررسی آماری نشان داد که همبستگی نسبتاً خوبی بین دو روش فلوسایتومتری و PRA در بررسی آنتی‌بادی‌های ضد HLA وجود دارد ($p=0.001$, $r=0.55$). ($p=0.0001$).

پلاکت متراتکم، کاهش معنی‌داری نشان می‌دهند. به عبارتی با افزایش تعداد پلاکت‌های تزریقی، شیوع این آنتی‌بادی‌ها به صورت معنی‌داری تغییر می‌یابند (به ترتیب با 0.013 , 0.018 ، $p=0.018$ برای آنتی‌بادی‌های ضد I HLA-Class با اطمینان ۹۵ درصد و 0.084 , 0.089 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 فلوسایتومتری نیز مثبت بودند (۶ مورد از نظر ایزوتابیپ

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	فلوسایتومتری PRA	فلوسایتومتری PRA	فلوسایتومتری PRA	فلوسایتومتری PRA	فلوسایتومتری PRA	فلوسایتومتری PRA
درصد آنتی‌بادی‌های ضد HLA	۴۰/۸	۴۵	(از ۱۹۴ بیمار) ۳۹ ۳۰/۴ سایر نمونه‌ها	۱۷/۴	۴۵/۸ ۲۰/۸ : PRA	۵۳/۷ فلوسایتومتری: در کل نمونه‌ها، ۶۱/۳ در دریافت کنندگان ۱۸/۳ : PRA پلاکت
جمعیت تحت مطالعه	متلایان به AML و ALL	متلایان به پلاکت راندوم	دریافت کنندگان پلاکت فیلتره	ترومبوسیتوپنی آپلاستیک و دریافت کنندگان پلاکت	افراد تحت پیوند مغز استخوان	متلایان و اختلالات خونی دریافت کننده پلاکت

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

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

بحث

درصد آنها دارای آنتی‌بادی ضد HLA و ۵۰ درصد دارای آنتی‌بادی ضد پلاکت بودند. در این تحقیق مشخص شد که درصد ایمن‌سازی نسبت به HLA در اثر کاهش لوکوسیت فرآورده، از ۵۰ تا ۹۰ درصد به ۰ تا ۲۸ درصد کاهش می‌یابد (۳۲).

در سال ۱۹۹۹ زایمرمن و همکاران آنتی‌بادی ضد شاخص‌های 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 (≥ 5 PRA) بودند، ۵۳/۷ درصد از موارد، مثبت برعلیه شاخص‌های اختصاصی HLA بوده مسابقی برعلیه Cross-Reaction Groups (گروه‌های دارای واکنش مقاطع) مثبت بودند (۳۳).

در بیشتر مطالعات انجام شده مشخص شده که آنتی‌بادی‌های ضد HLA بیشتر بر علیه HLA کلاس یک تولید می‌شوند. هر چند در مواردی مثل پیوند اعضا (کلیه، قلب و ...) آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های HLA کلاس دو تولید می‌شوند که در رد یا بقا پیوند نقش مهمی دارند، اما در مواردی مثل تزریق خون و فرآورده‌های آن آنتی‌بادی ضد HLA کلاس یک بادرصد بیشتری تولید می‌شود (۳۴). در سال ۱۹۹۶، استوکلبرگ و همکاران آنتی‌بادی ضد آنتی‌ژن‌های 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 فلوسایتومتری) IgG وجود داشت، از این تعداد ۱۲ نفر IgG به تنها، ۶ نفر IgA و ۳ نفر IgM و ۵ نفر هر سه نوع آنتی‌بادی را دارا بودند (۳۴).

در مطالعه حاضر جهت بررسی آنتی‌بادی‌های ضد HLA-Class I از پلاکت به عنوان سلول هدف استفاده شد زیرا تراکم مولکول‌های HLA-Class I در سطح پلاکت‌ها و لنفوسيت‌ها مشابه بوده و کلاً ۷۰ درصد از آنتی‌ژن‌های خون محیطی را تشکیل می‌دهند (۳۵). از طرفی تهیه سوسپانسیون پلاکتی راحت تر و سریع تر صورت گرفته و حتی می‌توان از کنسانتره پلاکتی و کیسه‌های پلاکتی که جهت کارهای کترول کیفی مورد بررسی قرار گرفته‌اند و قابل تزریق به بیماران نیستند، استفاده کرد. بهمین دلیل در

نتایج این تحقیق نشان داد که شیوع آنتی‌بادی‌های ضد HLA-Class I و ضدپلاکتی، در بیماران مبتلا به اختلالات خونی نظیر (آنمی آپلاستیک و لوکمیای حاد) که در طی درمان، پلاکت یا گلوبول قرمزمترکم دریافت نموده‌اند و بیماران ITP با روش فلوسایتومتری به ترتیب ۵۳/۷ درصد و ۴۳/۹ درصد می‌باشند. مطالعات قبلی نیز نشان دادند که بیشتر آلوآنتمی‌بادی‌های پلاکتی علیه لوکوس‌های HLA هستند (۱۰). در سال ۱۹۸۹، پمغیلون و همکاران، آنتی‌بادی‌های ضد I HLA-Class را در ۴۹ بیمار مورد بررسی (۲۰ فرد مبتلا به ALL و ۲۹ فرد مبتلا به AML) به روش فلوسایتومتری و سایتو توکسیسیتی 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 آنتی‌بادی‌ها در بیماران مبتلا به AML به علت تزریق بیشتر تعداد واحدهای خون، توسعه بیشتری دارند (۳۱).

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

در سال ۱۹۹۵ نوتی و همکاران به بررسی آنتی‌بادی‌های 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 ۵۰ تا ۲۱ تایی پرداختند. نتایج به دست آمده بدین صورت بود که ۲۹ نفر از بیماران (۱۸/۴ درصد) از ابتدا دارای آنتی‌بادی ضد HLA بودند و ۱۹ نفر (۱۲ درصد) آنها نیز بعد این آنتی‌بادی‌ها 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 (به خصوص در بیمارانی که تحت پیوند مغزاستخوان قرار گرفته‌اند یا مبتلایان به لوكمی) که علت آن بیماری‌های جانبی، وضعیت‌ایمونولوژیک فرد و یا درمان‌های سرکوبگر اینمی باشد (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 لوكمی‌ها بیشتر تخمین زده شده است و علت آن درمان‌های دارویی و ایمونوساپرسیو در لوكمی که باعث ضعیف شدن سیستم ایمنی می‌شود، بیان شده است (۳، ۵، ۳۸). علت مغایرت نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر شاید به دلیل کم بودن تعداد موارد آنمی آپلاستیک (۱۹ مورد) نسبت به ALL (۱۹ مورد) و AML (۳۳ مورد) باشد. ولی درصد ایمن‌سازی در مواردی مثل لوكمی ALL و AML مشابه مطالعات قبلی می‌باشد (۴۱، ۴۲، ۳).

در مطالعات قبل مشخص شد که: آنتی‌بادی‌های ضد آنتیژن‌های اختصاصی پلاکتی در ۷۰ تا ۴۲ 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 (۳۶/۴ درصد) از ۱۹ بیمار، مبتلا به ALL و ۹ مورد (۳۷/۵ 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 دریافت کننده پلاکت و بیمارانی که

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

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

در مطالعات انجام شده ایزوتاپ آنتی‌بادی‌ها از نوع IgM و به ندرت از نوع IgG تعیین شده‌اند، هرچند بیشتر تحقیقات به بررسی آنتی‌بادی‌ها بدون بررسی انواع آن‌ها پرداخته‌اند (۳۶-۳۸). در مواردی که پس از انتقال خون آنتی‌بادی ایجاد می‌شود، بیشتر از کلاس IgG گزارش شده است (۳۹). اما در این مطالعه آنتی‌بادی‌های ضد HLA-Class I و آنتیژن‌های اختصاصی پلاکتی بیشتر از کلاس IgM بوده‌اند. علت به دست آمدن درصد بالاتر از IgM نسبت به IgG در این مطالعه شاید به دلیل زمان نمونه‌گیری از بیماران باشد؛ زیرا نمونه‌ها بلافالصله 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 به دست آمده در این مطالعه مشابه سایر مطالعات بود (جدا اول ۲۰ به صورت مقایسه‌ای با سایر مطالعات).

در مطالعات قبل مشخص شده آنتی‌بادی‌های ضد HLA در ۵۰ تا ۳۰ 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 شده‌بودند، شیوع این آنتی‌بادی‌ها ۶۱/۳ درصد گزارش شدند. در مطالعات مختلف، ایمن‌سازی نسبت به آنتیژن‌های HLA بادرصدهای مختلف گزارش شده است و حتی در بررسی بیماران مبتلا به اختلالات خونی نیز نتایج یکسان به دست نیامده است که می‌تواند به این دلایل باشد: ممکن است از روش‌ها و تکنیک‌های مختلف با درصد اختصاصی و

غیرقابل اتصال به کمپلمان در این روش ارزیابی نمی‌شوند (۴۴). لذا احتمالاً اختلاف بین دو روش فوق بدینوسیله قابل توجیه می‌باشد و روش فلوسایتومتری مانندروش 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 ایمیون ناشی از تولید آنتی‌بادی HLA باشد، با تزریق پلاکت راندوم 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 فلوسایتومتری امکان‌پذیر می‌باشد (۴۵، ۴۶). گرچه با تزریق پلاکت سازگار از نظر HLA نیز، ۱۵ تا ۲۰ درصد از دریافت‌کنندگان پلاکت، آنتی‌بادی ضد پلاکت و HLA تولید می‌کنندکه علت آن شاید به دلیل ایمن‌سازی اولیه در مراحل قبل باشد (۲۹، ۳۵). بررسی آنتی‌بادی‌های ضد HLA و تعیین ایزوتاپ آنها در پیوند اعضا، درمان افراد دیالیزی و پیش‌بینی درصد بقا یا رد پیوند نیز مفید است؛ بهویشه در تجسس آنتی‌بادی‌هایی که خاصیت سایتوکسیک نداشته و در روش PRA قابل تشخیص و گزارش نمی‌باشند.

پیشنهاد می‌شود مطالعات مشابه با درنظر گرفتن حجم بیشتر نمونه از افراد مبتلا به مقاومت پلاکتی و افراد غیر مقاوم 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 HLA-Class I, II از روش‌های

پلاکت دریافت نکرده‌اند (مبتلایان به ITP)، اختلاف 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 I 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 مذکور (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، ۳۰). علت کاهش شیوع موارد مثبت در افرادی که بیشتر یا مساوی ۳۰ واحد پلاکت دریافت کرده‌اند، احتمالاً تولید آنتی‌ایدیوتایپ آنتی‌بادی و یا سلول‌های سرکوبگر طی تزریقات مکرر و زیاد پلاکت می‌باشد (اثر تعديل ایمنی انتقال خون) (۳۱، ۴۲). هم‌چنین با بررسی شیوع آنتی‌بادی‌های ضد I 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 I 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 آنتی‌زن‌های HLA سطح لکوستیت موجود در کنسانتره پلاکت طی تزریق پلاکت، بیان کرد (۴۳، ۴۴، ۴۵). یافته‌های ما نشان دادند که از ۴۴ مورد مثبت با روش PRA، همگی باروش فلوسایتومتری مثبت شدند درحالی که فقط ۱۵ نفر از بیماران با هردو روش از نظر حضور آنتی‌بادی‌های I HLA-Class I مثبت شدند و ۲۸ نفر از بیمارانی که باروش فلوسایتومتری مثبت شده‌اند، باروش PRA منفی بودند. انجام آزمایش فعال‌سازی کمپلمان (در روش PRA یا لنفوتوکسیتیتی تست LCT) گرچه برای بررسی آنتی‌بادی‌های HLA مناسب است، اما آنتی‌بادی‌های

آنٹیژن‌های I,II HLA-Class 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 ایزوتاپ آنتی‌بادی‌های ضد I HLA-Class II یا HLA-Class I را نیز مشخص کرد و حتی مقدار این آنتی‌بادی‌ها را به صورت کمی تعیین نمود (۴۷، ۴۶).

فلوسایتومتری که قابلیت تشخیص ذرات پوشیده شده با

تشکر و قدردانی

هزینه‌های این تحقیق توسط مرکز تحقیقات سازمان

سعیدی، سیمین دخت بصیرپناه، اشرف السادات موسوی،
زهرا شهریاری، فخری افشاری، پری جهان زادصفا و
ام کلثوم شیرزاد ابراز می دارند.

انتقال خون ایران تأمین گردیده است.

بدینوسیله نویسندهای مقاله تشکرات خود را از
همکاری دکتر زهره عطارچی، دکتر اسداله موسوی، حمید
کاویانی، مهین نیکوگفتار، دکتر شهرام واٹلی، محمد باقر

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. Transfusion, 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- Shvidasani 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. Transfusion, 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- Moldenharter A, kohlbuss 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 pediatric oncology and bone marrow transplant patients. Transfusion, 1995, 35, p: 645-652.
- 15- Fujihara M, Azuma H, Ikeda H: Inactivation of Leukocytes by UVB irradiation: Mechanism 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 screening Identifies Non-Comeplement-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 alloantibodes 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 Flowing Heart Transplantation. Transplataion, 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 Medicin, 2001, Academic press, philadel phia. , 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 transfusioon 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 eleminate the antigenicity of surface class I MHC molecules frome 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, Flaatten ST: Chloroquine removal of HLA Antigens frome platelets for the platelet immunofleurescens 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. Translpant Immunology , 2002 , 10 p: 183-190
- 36- Navarrete V. C, chapter 4: human leucocyte antingens, 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, Irani M², Vosugh P³, Rajaeei 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