خون
فصلنامه پژوهشی
زمستان ۸۳ سال ۱ شماره ۲

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

دکتر مژگان شایگان[۱] ، فاطمه امیری[۲] ، محمد حسین درختی گنبد[۲]، دکتر مهناز آقایی پور[۳] ، دکتر مهتاب مقصودلو[۴]
اعظم السادات طباطبائیان[۵] ، دکترمسعودایروانی[۶] ، دکتر پروانه وثوق[۷] ، سعید رجایی[۸] ، اسماعیل کوکب سیار[۹]

چکیده

سابقه و هدف

به‌دنبال انتقال خون، آنتی‌بادی‌های ضد HLA وآنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی ایجاد می‌شوند که منجر به مشکلات مختلفی مانند مقاومت پلاکتی می‌گردند. به‌نظر 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(لوکمیای حاد، آنمی آپلاستیک وITP) با روش فلوسایتومتری است.

مواد وروش‌ها

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 که۴۴ نفر از ۸۲ بیمار (۵۳/۷ درصد) دارای آنتی‌بادی‌های ضدآنتی‌ژن‌های 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 نظرحضور 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 به‌چشم می‌خورد، در روش PRA فقط می‌توان آنتی‌بادی‌هایی را که مؤثر در فعال‌سازی کمپلمان هستند ردیابی نمود.

نتیجه گیری

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 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 مرکزتحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۲- کارشناس ارشد هماتولوژی - مرکزتحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۳- متخصص آسیب‌شناسی تشریحی و بالینی - استادیار مرکزتحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۴- متخصص پزشکی اجتماعی - استادیار مرکزتحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۵- لیسانس زیست شناسی - مرکزتحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۶- فوق تخصص هماتولوژی و انکولوژی - استادیار مرکز تحقیقات پیوند مغز استخوان بیمارستان دکترشریعتی
۷- فوق تخصص هماتولوژی و انکولوژی - استاد دانشگاه علوم پزشکی ایران
۸- کارشناس آزمایشگاه- مرکزتحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۹- لیسانس میکروب‌شناسی - مرکزتحقیقات سازمان انتقال خون ایران

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-19]

مقدمه

به دنبال تزریق مکرر پلاکت، آلو آنتی بادی‌های ضد آلوآنتی‌ژن‌های مختلف پلاکتی شامل‌آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی‌وآنتی‌ژن‌های مشترک باسایرسلول‌هانظیر آنتی‌ژن‌های HLA-Class I، در گیرنده ایجاد می‌شوند (۱،۲). این آلوآنتی‌بادی‌ها در پاتوژنز سندرم‌های بالینی مختلف مثل مقاومت پلاکتی (عدم پاسخ‌دهی مناسب به تزریق پلاکت)، بیماری پیوند علیه میزبان وابسته به انتقال خون، سندرم‌ریوی حاد مرتبط با انتقال‌خون[1]، واکنش‌های تب‌زای غیرهمولیتیک انتقال خون[2] و غیره دخالت دارند(۹-۱). مقاومت پلاکتی در۲ تا۳۰ درصد ازافرادی‌که تزریق مکرر خون داشته‌اند دیده می‌شود (۱۰). وفور ایمنی‌زایی علیه آنتی‌ژن‌های HLA در مطالعات متعدد به میزان مختلفی گزارش شده‌است: ۶۹درصد دربیماران لوکمیک، ۸۳ درصد دربیماران غیر لوکمیک، ۶۹ درصد پس از تزریق کنسانتره پلاکتی،۸۰ درصد در بیماران آنمی‌آپلاستیک و۳۰ تا۶۰ درصد دربیماران مبتلابه بدخیمی‌های خونی وآنتی‌بادی‌های ضدآنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی در۹۰ درصداز پورپورای پس از انتقال خون، ۵۶ درصد از مبتلایان به AITP (ترومبوسیتوپنی اتوایمیون) اولیه و ۳۳ درصد از نوع ثانویه دیده می‌شوند (۱۴-۱۰). نیمی از بیمارانی که تزریق مکرر پلاکت دارند، سرانجام برعلیه‌آنتی‌ژن‌های پلاکتی، آنتی‌بادی تولید می‌کنند (۱۵). این آنتی‌بادی‌ها ضد آلو آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکت، ضدآلوآنتی‌ژن‌های HLA یا برعلیه هردو هستند (۱۶). درصد بروز این آنتی‌بادی‌ها بسته به عوامل مختلف متفاوت است. چنانچه فرد از نظر این آنتی‌بادی‌ها مثبت باشد، دچارعوارض مختلف مثل خونریزی و بیماری پیوند علیه میزبان می‌شود. وجود اختلافات بین آمارهای موجود می‌تواند به‌خاطر تفاوت درجمعیت‌های موردبررسی و یا روش‌های اندازه‌گیری این آنتی‌بادی‌ها باشد. روش‌های معمول بررسی آنتی‌بادی‌های ضد HLA عبارتند از PRA[3] (یا CDC)[4]، الیزا وفلوسایتومتری که درحال‌حاضرروش PRA برای بررسی حضور این آنتی‌بادی‌ها در گیرندگان پیوند کلیه و سایر اعضا، کاربرد عملی دارد و روش‌های بررسی آنتی‌بادی‌های ضدآنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی، روش‌های MAIPA[5]، Elisa وIF می‌باشند (۲۴-۷ و۲).

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 آنتی‌بادی‌های‌ضدHLA-ClassI و آنتی‌بادی‌های ضدآنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی در بیماران مبتلابه اختلالات خونی وبرخی 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. هم چنین 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 لوکمیای حاد (ALL , AML)، آنمی آپلاستیک و تعدادی از بیمارانی که به‌علت ابتلا به اختلالات خونی تحت BMT[6] 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 و۲۰ فرد مبتلا به ITP که پلاکت دریافت نکرده‌اند، در محدوده سنی ۹ تا ۷۵ سال و شامل ٤٠ فرد مؤنث و ٤٢ فرد مذکر می‌باشند. این افراد بیماران مراجعه‌کننده به مرکز پیوند مغزاستخوان بیمارستان دکترعلی‌شریعتی وافرادبستری در بخش‌های خون بیمارستان مذکور و بیماران مراجعه کننده به بیمارستان‌های حضرت علی اصغر (ع) و امام خمینی(ره) تهران بودند. از این بیماران تعداد ٦٢ بیمار، کنسانتره پلاکتی و ٤٥ بیمار از سایر فرآورده‌های خونی نظیر گلبول قرمز متراکم استفاده کرده‌اند. عدم پاسخ‌دهی مناسب به تزریق پلاکت با محاسبه CCI[7] ارزیابی می‌شود. چنان‌چه CCI یک ساعت پس از تزریق پلاکت، کمتر از ۷۵۰۰ (یاکمتر از ۱۰۰۰۰) باشد و این مورد کاهش CCI 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

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-19]

یا سه بار به‌طور متناوب در طول دو هفته رخ داده باشد، وضعیت بالینی و آزمایشگاهی مقاومت پلاکتی مطرح می‌شود (۲۷-۲۵ و٦).

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 روشPRA در هر دوره به همراه نمونه سایر بیماران به روش فلوسایتومتری موردبررسی قرارگرفتند. طبق‌روش استاندارد CDC، به‌طور خلاصه گلبول‌های ۲۰ فرد دهنده جداسازی و با سرم افراد مورد مطالعه درحفرات پلیت ترازاکی مجاور و درصد سلول‌های لیز شده گزارش شدند (۱۷). سرم ١٤زن با چند زایمان متعدد و موفق به صورت پولد به عنوان کنترل مثبت وسرم مردان باگروه خونی AB که هیچ نوع فرآورده‌خونی دریافت نکرده‌اندبه‌عنوان کنترل منفی به‌روش فلوسایتومتری در هر دوره مورد بررسی قرارگرفتند. جهت اطمینان بیشتر کنترل‌های مثبت و منفی با روش PRA نیز بررسی شدند.

جهت این مطالعه از کنسانتره‌های پلاکتی۵ فرد (با گروه خونیO) استفاده شد که به صورت جداگانه به‌روش PRP[1] 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 ۱درصد به‌مدت۱۰ 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) بادستگاه Sys Mex انجام شد. برای حذف آنتی‌ژن‌های HLA از سطح پلاکت‌ها، نمونه فوق ۲ قسمت و یک قسمت با اسیدسیتریک (pH=۳ و M ۰/۲۶) به‌مدت ۱۰ دقیقه در صفر درجه (ظرف یخ) انکوبه شد و سپس با حجم مساوی بافرسیترات باpH=۶/۵ خنثی گردید. جهت کنترل با استفاده از مونوکلونال آنتی‌بادی‌های ضد HLA-ABC (کنژوگه با PE)، ضدCD61، ضدCD42 وضدCD41 کنژوگه با FITC با نمونه پلاکتی درهر دو مرحله قبل وبعد از مجاور سازی با اسید بررسی انجام شد (۳۰، ۲۹، ۲۸).

ازآنجاکه متغیرهاازنوع کیفی‌بوده وازطرفی تعداد نمونه‌ها بیش از٤٠ عدد بودند، از آزمون آماری کای دو (با سطح اطمینان ۹۵درصد) جهت بررسی‌آماری نتایج استفاده شد.

یافته‌ها

٤٤ نفر (۵۳/۷ درصد) از بیماران مورد بررسی دارای آنتی‌بادی‌های ضدHLA کلاس یک به‌روش 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 IgM و IgG بودند. ٣٦ نفر از ٨٢ بیمار (٤٣/٩ درصد) نیز دارای آنتی‌بادی‌های ضدآنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی بودند که فراوانی انواع آنتی‌بادی شامل (٤٠/٢ درصد)IgM، (۳۰/۵ درصد) IgG و (۱۲/۲ درصد) IgA می‌باشد و ٤١/٥ درصد از آنان دارای هر دو IgM و IgG بودند. از نظر آنتی‌بادی‌های ضدآنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی‌در دو گروه بیماران دریافت کننده پلاکت و مبتلایان به ITP (که پلاکت دریافت نکرده بودند) اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، اما ازنظر آنتی‌بادی‌های IgM ضدHLA-Class I اختلاف معنی‌دار می‌باشد (p=۰/۰۹۸). درنهایت اختلاف معنی‌داری بین شیوع آنتی‌بادی‌های ضد HLA-Class I و اختصاصی پلاکتی برحسب جنس، نوع بیماری، تعداد واحدهای گلبول قرمزمتراکم 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 ۹۰درصد اختلاف معنی‌داری بین ایزوتایپ IgM این آنتی‌بادی‌ها ونوع 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 برحسب تعداد واحد پلاکت تزریق شده اختلاف معنی‌داری مشخص شد، بدین‌صورت 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

1- Platelet Rich Plasma

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-19]

پلاکت متراکم، کاهش معنی‌داری نشان می‌دهند. به‌عبارتی با افزایش تعداد پلاکت‌های تزریقی، شیوع این آنتی‌بادی‌ها به‌صورت معنی‌داری تغییر می‌یابند (به‌ترتیب با ۰/۰۱۳، p=۰/۰۱۸ برای آنتی‌بادی‌های ضد HLA-Class I با اطمینان ۹۵ درصد و ۰/۰۸۴، p=۰/۸۹ برای آنتی‌بادی‌های اختصاصی پلاکتی با اطمینان ۹۰ درصد).

از ۸۲ بیمار مورد مطالعه فقط ۱۵ مورد (۱۸/۳ درصد) به‌روش PRA مثبت گزارش شدند که همگی به روش فلوسایتومتری نیز مثبت بودند (٦ مورد از نظر ایزو تایپ IgM، ۱ مورد از نظر ایزوتایپ IgG و ۸ مورد از نظر هر دو ایزوتایپ). از ٤٤ نمونه مثبت به روش PRA (١٤ زن با زایمان‌های متعدد و۳۰ بیمار کاندید پیوند کلیه)، ١٦ مورد از نظر IgM، ۲ مورد از نظر IgG و ٢٦ مورد از نظر هر دو نوع آنتی‌بادی به روش فلوسایتومتری مثبت شدند. بررسی آماری نشان داد که همبستگی نسبتا خوبی بین دو روش فلوسایتومتری و PRA در بررسی آنتی‌بادی‌های ضد HLA وجود دارد (r =۰/۵۵ ، p=۰/۰۰۰۱).

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
درصد آنتی‌بادی‌های ضد HLA	٤٠/٨	٤٥	(از ١٩٤ بیمار) ٣٩ ٣٠/٤ سایر نمونه‌ها	١٧/٤	فلوسایتومتری: ٤٥/٨ PRA: ٢٠/٨	فلوسایتومتری:۵۳/۷ درکل نمونه‌ها، ٦١/٣ دردریافت کنندگان پلاکت PRA : ١٨/٣
جمعیت تحت مطالعه	مبتلایان به ALL و AML	دریافت‌کنندگان 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

جدول۲ : شیوع آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های 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	IF & MAIPA	فلوسایتومتری Elisa MACE	فلوسایتومتری
درصد آنتی‌بادی‌های اختصاصی پلاکتی	٣١	٤٥	٠/٠٠٣	٥٠	به‌ترتیب : ٤٥ ٤٥ ٣٥	٤٣/٩
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

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-19]

بحث

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 یاگلبول قرمزمتراکم دریافت نموده‌اند و بیماران ITP با روش فلوسایتومتری به‌ترتیب ۵۳/۷ درصد و۴۳/۹ درصد می‌باشند. مطالعات قبلی نیز نشان دادند که بیشتر آلوآنتی‌بادی‌های پلاکتی علیه لوکوس‌های HLA هستند (۱۰). در سال ۱۹۸۹، پمفیلون و همکاران، آنتی‌بادی‌های ضدHLA-Class I را در۴۹ بیمار مورد بررسی(۲۰فرد مبتلا به ALL و ۲۹ فرد مبتلا به AML) به روش فلوسایتومتری و سایتوتوکسیسیتی بررسی نموده وشیوع آنها را در ۴۰/۸درصد 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 به‌علت تزریق بیشتر تعداد واحدهای خون، توسعه بیشتری دارند (۳۱).

در سال۱۹۹۱ فریدمن و همکاران آنتی‌بادی‌های ضد HLA-Class I را در افرادی که تزریق پلاکت راندوم داشتند، با استفاده از روش فلوسایتومتری مورد بررسی قرار دادند. این گروه سرم بیمارانی را که سابقه تزریق پلاکت داشتند با مخلوط پلاکت و لنفوسیت مجاور شده با اسید و پلاکت و لنفوسیت طبیعی نزدیک کرده سپس نمونه‌ها را مورد بررسی قرار دادند؛ که ۳۸ نفر از۸۰ 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).

درسال ۱۹۹۵ نوتنی و همکاران به بررسی آنتی‌بادی‌های ضدHLA در۲۲۹ بیمارمبتلابه ترومبوسیتوپنی آپلاستیک که پلاکت و فرآورده خونی دریافت کرده بودند به روش PRA و با استفاده از پانل ۲۱تا۵۰ تایی پرداختند. نتایج به‌دست 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 بعدا این آنتی‌بادی‌ها را تولید کردند و از ۱۹۴ بیماری که سابقه تزریق پلاکت داشتند، حدود ۳۹درصد آنها دارای آنتی‌بادی ضدHLA و۵۰ 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 ۱۹۹۹زایمرمن وهمکاران 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 (PRA $\geq$ ۵) بودند، ۵۳/۷ درصد از موارد، مثبت برعلیه شاخص‌های اختصاصی HLA بوده مابقی برعلیه Cross-Reaction Groups (گروه‌های‌دارای واکنش متقاطع) مثبت بودند (۳۳).

دربیشترمطالعات‌انجام‌شده مشخص‌شده‌که آنتی‌بادی‌های ضدHLA 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 بقای پیوند نقش مهمی دارند، اما در مواردی مثل تزریق خون و فرآورده‌های آن آنتی‌بادی ضدHLA کلاس یک بادرصد بیشتری تولیدمی‌شود(۳۳و۷).

در سال ۱۹۹۶، استوکلبرگ و همکاران آنتی‌بادی ضد آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی را در۴۵ 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 تنهایی، ۶ نفر IgA وIgG، ۳ نفر IgM وIgG 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 لنفوسیت‌ها 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 وحتی می‌توان از کنسانتره پلاکتی و کیسه‌های پلاکتی که جهت کارهای کنترل کیفی مورد بررسی قرار گرفته‌اند و قابل تزریق به بیماران نیستند، استفاده کرد. به‌همین دلیل در

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-19]

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 پلاکتی‌ولنفوسیتی اختصاصیت‌آزمایش درردیابی آنتی‌بادی‌ها را افزایش می‌دهد ولی از آنجا که لنفوسیت‌ها (به خصوص 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 IgG، IgM 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، ۳٦). اما در این مطالعه آنتی‌بادی‌های ضد HLA-Class I و آنتی‌ژن‌های اختصاصی پلاکتی بیشتر از کلاس IgM بوده‌اند. علت به‌دست آمدن درصدبالاتراز 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(جداول ۱و۲ به‌صورت مقایسه‌ای با سایر مطالعات).

درمطالعات قبل مشخص شدکه آنتی‌بادی‌های ضدHLA در ۳۰ تا۵۰ درصد موارد منجر به عدم پاسخ‌دهی مناسب به تزریق پلاکت می‌شوند (۱۵). در این مطالعه نیز از آنجا که ٦۲ نفر از بیماران تحت بررسی دچار مقاومت پلاکتی شده‌بودند، شیوع این آنتی‌بادی‌ها ٦۱/۳درصدگزارش شدند. درمطالعات مختلف، ایمن‌سازی نسبت‌به آنتی‌ژن‌هایHLA بادرصدهای 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 حساسیت‌های متفاوت استفاده شده باشد، از طرفی در حدود ۳۰ تا۶۰ 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) که‌علت‌آن بیماری‌های‌جانبی، وضعیت‌ایمونولوژیک فرد و یا درمان‌های سرکوبگر ایمنی می‌باشد(٤۰).

پس از بررسی آنتی‌بادی‌ها نسبت به نوع بیماری مشخص شد که از ٦ بیمار مبتلا به آنمی آپلاستیک ۳ بیمار (۵۰ درصد)، از ۱۹ بیمار مبتلا به ALL ۱۲ بیمار (٦۳/۲ درصد)، از ۳۳ بیمار مبتلا به AML ۲۰ بیمار (٦۰/٦ درصد) و از ۲٤ بیمار مبتلا به ITP ۹ بیمار (۳٦/۵ 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 ایمونوساپرسیو 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 (٦مورد) نسبت به ALL (۱۹ مورد) و AML (۳۳مورد) باشد. ولی درصد ایمن‌سازی در مواردی مثل لوکمی ALL و AML مشابه مطالعات قبلی می‌باشد (٤۱، 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 ٤۳/۹ درصد موارد مثبت گزارش شدند. درصدشیوع مواردمثبت(بدون تفکیک نوع آنتی‌بادی) نسبت به نوع بیماری بدین صورت می‌باشد: ٤ مورد (٦٦/۵ درصد) از ٦ مورد بیمار، مبتلا به آنمی آپلاستیک، ۸ مورد (٤۲/۱ درصد) از ۱۹ بیمار، مبتلا به ALL، ۱۲ مورد (۳٦/٤ درصد) از ۳۳ بیمار، مبتلا به AML و ۹ مورد (۳۷/۵ درصد) از ۲٤ بیمار مبتلا بهITP دارای آنتی‌بادی اختصاصی پلاکتی بودند. از نظر شیوع آنتی‌بادی‌های اختصاصی پلاکتی بین بیماران دریافت کننده پلاکت و بیمارانی که

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-19]

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 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 ٤۵ درصد) بیشتر از افراد مذکر (۵۰ درصد و ۳۵/۷ درصد) به‌دست 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 (۱٦، ۳). علت کاهش شیوع موارد مثبت در افرادی که بیشتر یا مساوی ۳۰ واحد پلاکت دریافت کرده‌اند، احتمالاً تولید آنتی ایدیوتایپ آنتی‌بادی و یا سلول‌های سرکوبگر طی تزریقات مکرر و زیاد پلاکت می‌باشد (اثر تعدیل ایمنی انتقال خون)[1] (۴۲، ۳۱). هم‌چنین با بررسی شیوع آنتی‌بادی‌های ضدHLA-Class I برحسب دریافت یاعدم دریافت پلاکت، مشخص شد که درصد موارد مثبت از نظر آنتی‌بادی ضد HLA کلاس یک در گروهی که پلاکت دریافت کرده‌اند (٦۱/۳ 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=۰/۰۹۸) که علت آن را می‌توان حساس شدن و تولید آنتی‌بادی علیه‌آنتی‌ژن‌های HLA سطح لکوسیت موجود درکنسانتره پلاکت طی تزریق پلاکت، بیان کرد(۸،۳۲،٤۳).

یافته‌های ما نشان دادند که از ٤٤ مورد مثبت با روش PRA، همگی باروش فلوسایتومتری مثبت شدند درحالی‌که فقط ۱۵ نفر از بیماران با هردو روش از نظر حضور آنتی‌بادی‌های 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 لنفوتوکسیسیتی تست LCT) گرچه برای بررسی آنتی‌بادی‌های HLA مناسب است، اماآنتی‌بادی‌های غیرقابل اتصال به کمپلمان در این روش ارزیابی نمی‌شوند (٤٤). لذا احتمالاً اختلاف بین دو روش فوق بدینوسیله قابل توجیه می‌باشد وروش 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 (٤۵، ۳۹). گرچه با تزریق پلاکت سازگار از نظر HLA نیز، ۱۵ تا ۲۰ درصد از دریافت‌کنندگان پلاکت، آنتی‌بادی ضد پلاکت وHLA تولید می‌کنندکه علت آن شایدبه‌دلیل 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 درنظر 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 ودفعات 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

1-Transfusion Related Immunomodulation: TRIM

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-19]

فلوسایتومتری که قابلیت تشخیص ذرات پوشیده شده با 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 (۴۷، ٤٦، ۲۰).

تشکر و قدردانی

هزینه‌های این تحقیق توسط مرکز تحقیقات سازمان

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-19]

انتقال خون ایران تأمین گردیده‌است.

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

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, macken zie 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 increament. 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-Compeletment-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 Immunalogy, 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 eraly Rejection Flowing Heart Transplantation. Transplatation, 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.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-19]

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, Flaathen 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, l0th 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 immunofluoresence 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.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-19]

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

Shaiegan M[1]. , Amiri F[1]. , Derakhti Gonbad M.H[1]. , Aghaeipour M[1]. , Maghsudlu M[1]. , Tabatabaian A[1]. , Irvani M[2]. , Vosugh P[3]. , Rajaei S[1]. , Kokab Sayar E[1].

[1]*Iranian Blood Transfusion Organization- Research Center*
[2]*Haematology, Oncology and Bone Marrow Research Center- Dr. Shariati Hospital*
[3]*Iran 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 occures; moreover, immunization against platelet specific antigens may also occure 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*

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-11-19]