

# آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های سازگاری بافتی در

## زنان اهداءکننده خون با و بدون سابقه سقط

محبوبه مستخدمین<sup>۱</sup>، دکتر مژگان شایگان<sup>۲\*</sup>، لیلا کسراییان<sup>۳</sup>، عطیه خسروی<sup>۴</sup>، دکتر فاطمه یاری<sup>۵</sup>، شهرزاد شایگان<sup>۶</sup>

۱. کارشناس بیولوژی، مرکز تحقیقات انتقال خون، تهران، ایران.
۲. دانشیار گروه ایمونوهما‌تولوژی، مرکز تحقیقات انتقال خون، مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون، تهران، ایران.
۳. دانشیار گروه میکروپزشکی، مرکز تحقیقات انتقال خون، مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون، شیراز، ایران.
۴. دانشجوی کارشناسی ارشد هماتولوژی، مرکز تحقیقات ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، ایران.
۵. دانشیار گروه ایمونولوژی، مرکز تحقیقات انتقال خون، مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون، تهران، ایران.
۶. کارشناس ارشد زیست‌شناسی / میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، شهر گچساران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۹/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۰۷

### خلاصه

**مقدمه:** آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های سازگاری بافتی (HLA) طی آلوایمونیزاسیون به دنبال انتقال خون، حاملگی و یا پیوند اعضا تولید می‌شوند. این آنتی‌بادی‌ها در سقط دخالت دارند و در افراد سالم غیر آلوایمونیزه نیز گزارش شده‌اند. آنتی‌بادی‌های ضد HLA منجر به برخی عوارض انتقال خون می‌شوند، لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی فراوانی آنتی‌بادی‌های مذکور در اهداءکنندگان خون با تمرکز بر زنان (با و بدون سابقه حاملگی و سقط قبلی) انجام شد.

**روش کار:** در این مطالعه توصیفی که در سال ۱۳۹۵ انجام شد، ۲۱۴ فرد اهداءکننده خون مراجعه‌کننده به مرکز انتقال خون تبریز در محدوده سنی ۱۸-۶۲ سال شامل ۵۷ زن (۲۶/۶٪) با محدوده سنی ۲۳-۵۹ سال (با میانگین سن ۳۸/۷±۹/۳) و ۱۵۷ مرد (۷۳/۴٪) با محدوده سنی ۱۸-۶۲ سال (با میانگین سن ۳۶/۲±۹/۷ سال) مورد بررسی قرار گرفتند. برای بررسی آنتی‌بادی‌های ضد گلوبول‌های سفید با استفاده از آزمایش PRA به روش لئوسایتوتوکسیسیتی با کمپلمان (CDC) مورد ارزیابی قرار گرفتند. اطلاعات دموگرافیک، تعداد حاملگی و سقط در زنان در فرم اطلاعاتی یادداشت شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۱۶) و آزمون‌های کای دو و ضریب همبستگی پیرسون انجام شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** ۲۳ نفر (۱۰/۷۵٪) شامل ۲۲ زن (۸ نفر بدون و ۱۴ نفر دارای سابقه حاملگی و سقط) و یک مرد، واکنش مثبت PRA داشته و سایر افراد منفی بودند. فراوانی موارد مثبت PRA در زنان بیشتر بود ( $p < 0/0001$ ). این آنتی‌بادی‌ها در زنان با سابقه قبلی حاملگی با تعداد حاملگی ارتباطی نداشتند، اما وفور آنتی‌بادی HLA و شدت واکنش مثبت PRA در دو گروه زنان با سابقه و بدون سابقه سقط اختلاف معناداری داشت ( $p < 0/001$ ) و با تعداد سقط نیز ارتباط داشت ( $r = 0/52, p < 0/0001$ ).

**نتیجه‌گیری:** تعداد سقط بر حساس شدن و یا ایمونیزاسیون طی حاملگی اثر دارد. با افزایش تعداد سقط، احتمال ایمونیزاسیون بیشتر می‌شود. این آنتی‌بادی‌ها در زنان سالم بدون سابقه حاملگی و مردان نیز مشاهده شد. تصمیم به ارزیابی پلاسما مردان و زنان بدون سابقه قبلی حاملگی، قبل از تزریق نیاز به مطالعات سود و صرفه دارد.

**کلمات کلیدی:** آنتی‌بادی‌های HLA، اهداءکنندگان خون، Panel Reactive Antibody

\* نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر مژگان شایگان؛ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون، تهران، ایران. تلفن: ۰۲۱-۸۲۰۵۲۲۵۴؛ پست الکترونیک: mojganshaiegan@yahoo.com

## مقدمه

علاوه بر تولید آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های سازگاری بافتی (HLA)<sup>۱</sup> به‌علت آلوایمونیزاسیون پس از انتقال خون، حاملگی و یا پیوند اعضا، انواع طبیعی این آنتی‌بادی‌ها نیز از دهه ۸۰ میلادی مطرح شده و این آنتی‌بادی‌ها در مردان سالم غیر آلوایمونیزه نیز گزارش شده‌اند. علت تولید این آنتی‌بادی‌ها را واکنش‌های متقاطع با آنتی‌ژن‌های عوامل عفونی، پروتئین‌های خوراکی و عوامل مولد آلرژی دانسته‌اند (۳-۱). آنتی‌بادی‌های طبیعی ضد HLA اولین بار توسط کولینز (۱۹۷۳) مطرح شدند که دارای واکنش متقاطع با آنتی‌ژن‌های پروتئین M استرپتوکوک بوده و به‌دنبال عفونت با این میکروارگانیزم تولید شده بودند (۴). در برخی مطالعات نیز عدم تولید آنتی‌بادی‌های ضد HLA پس از دریافت پیوند سلول‌های بنیادی خون‌ساز از اهداءکننده غیرخویشاوند در برخی بیماران گزارش شده است (۵). جنین نیز به مثاله یک نیمه آلوگرافت است و آنتی‌ژن‌هایی که جنین از پدر خود به ارث می‌برد، ممکن است باعث تحریک پاسخ‌های ایمنی در مادر و تولید آنتی‌بادی ضد HLA جنینی شوند (۶). اهمیت این آنتی‌بادی‌ها در انتقال خون ناشی از نقش آنها در ایجاد برخی عوارض پس از تزریق فرآورده‌های خون است. آنتی‌بادی‌های ضد HLA می‌توانند منجر به عوارضی چون مقاومت پلاکتی، آسیب حاد ریوی مربوط به انتقال خون (TRALI)<sup>۲</sup> و واکنش‌های تب‌زا در گیرنده خون شوند (۴، ۷، ۸). در چند مطالعه مختلف این آنتی‌بادی‌ها در ۶۴-۱۲/۹٪ از اهداءکنندگان خون در کشورهای مختلف گزارش شده‌اند (۹-۱۱). آنتی‌بادی‌های ضد HLA با آزمایش وابسته به سمیت سلولی با کمپلمان (CDC)<sup>۳</sup> بررسی می‌شوند، اگرچه روش‌های مبتنی بر الیزا و فلوسایتومتری نیز مطرح شده‌اند (۹). در روش CDC، نمونه سرم را با لئوسیت ۶۰-۳۰ فرد مختلف (تحت عنوان پانل سل) مواجهه نموده و نتایج مثبت به‌صورت درصد سلول‌های کشته گزارش می‌شوند. درصد

سلول‌های پانل کشته شده پس از واکنش با آنتی‌بادی‌های سایتوتوکسیک در سرم مورد بررسی تحت عنوان PRA<sup>۴</sup> اطلاق می‌شود. برای مثال اگر واکنش سرم با ۱۰ سلول از ۴۰ سلول مختلف مثبت شوند، نتیجه PRA آن ۲۵٪ گزارش می‌باشد (۱۴-۱۲). ارزیابی PRA در بیماران پس از پیوند، بیماران مبتلا به مقاومت پلاکتی، TRALI و بیماری‌های غیرهمولیتیک تب‌زای پس از انتقال خون مفید است (۱۵).

با توجه به نقش آنتی‌بادی‌های ضد HLA در سقط و حضور این آنتی‌بادی‌ها در افراد سالم و برخی عوارض ناشی از این آنتی‌بادی‌ها، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی فراوانی آنتی‌بادی ضد HLA به‌روش سیتوتوکسیسیتی و PRA در اهداءکنندگان ظاهراً سالم خون با تمرکز بر بررسی وفور این آنتی‌بادی‌ها در زنان اهداءکننده خون با و بدون سابقه حاملگی قبلی حاملگی، در شهر تبریز انجام شد.

## روش کار

در این مطالعه توصیفی که در سال ۱۳۹۵ انجام شد، ۲۱۴ فرد اهداءکننده خون مراجعه‌کننده به مرکز انتقال خون تبریز برای بررسی آنتی‌بادی‌های ضد گلوبول‌های سفید با استفاده از آزمایش PRA به‌روش لئوسایتوتوکسیسیتی با کمپلمان (CDC) مورد ارزیابی قرار گرفتند.

حجم نمونه با استفاده از حداقل وفور آنتی‌بادی در اهداءکنندگان از مطالعات قبلی ۱۲/۹٪ (۹) و طبق فرمول تعیین حجم نمونه برای برآورد نسبت جامعه با اطمینان ۹۵٪ و خطای ۵٪، حداقل ۸۳ نفر برآورد شد، ولی با توجه به امکانات موجود، افراد بیشتری با توجه به معیارهای ورود (حداقل یک بار سابقه قبلی اهدای خون و رضایت جهت شرکت در تحقیق)، وارد مطالعه شدند. به‌طور کلی پس از جلب موافقت افراد برای شرکت در این طرح تحقیقاتی و اخذ رضایت (کد اخلاق IR.TMI.REC.1395.006)، در حین اهدای خون، ۴ سی‌سی نمونه خون کامل در لوله ژل‌دار از افراد دریافت گردید و سپس با ساتریفوز لوله‌ها در ۳۰۰۰ دور

<sup>1</sup> Human leukocyte antigen

<sup>2</sup> Transfusion Related Acute Lung Injury

<sup>3</sup> complement dependent cytotoxicity

<sup>4</sup> Panel Reactive Antibody

به مدت ۳ دقیقه، نمونه سرم جدا شده و در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش نگهداری شدند. به‌طور خلاصه ابتدا لنفوسیت‌های افراد ظاهراً سالم جدا و به تعداد  $3 \times 10^6$  سلول در هر میلی‌لیتر سوسپانسیون نموده و سپس به حجم یک میکرولیتر به چاهک‌های پلیت ترازاکی اضافه شدند. برای هر نمونه در این مطالعه سلول‌های جدا شده از ۴۰ فرد مختلف به ۴۰ حفره پلیت ترازاکی اضافه و سپس به میزان یک میکرولیتر از سرم افراد مورد بررسی نیز اضافه شد و ۳۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده و سپس ۵ میکرولیتر کمپلمان خرگوش (محصول شرکت مادر تخصصی پالایش و پژوهش خون) به چاهک‌ها اضافه شد. ۱/۵ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و سپس به محتویات هر چاهک ۲ میکرولیتر رنگ اتوزین Y اضافه و پس از ۲-۱ دقیقه، ۱۰ میکرولیتر فرمالین ۷۳٪ به چاهک‌ها اضافه شد. وقوع یا عدم وقوع واکنش لیز یا سمیت سلولی با میکروسکوپ معکوس (درشت‌نمایی 10X) به‌صورت مثبت یا منفی یادداشت شدند. برای تفسیر نتایج مثبت برای واکنش PRA، حداقل ۱۰٪ (و بیشتر) از سلول‌های مورد بررسی، مبنای گزارش مثبت قرار گرفتند (۵، ۱۳، ۱۴). تعداد موارد مثبت در بین زنان و مردان ثبت و درصد واکنش‌های مشاهده شده به‌عنوان شدت واکنش یادداشت شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۱۶) انجام شد. جهت مقایسه وفور و شدت واکنش مثبت بین گروه‌های مختلف از آزمون آماری کای دو و برای ارتباط بین واکنش مثبت PRA با حاملگی و یا سقط از ضریب همبستگی اسپیرمن استفاده شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

کشته شده با سرم زنان بیشتر بود.

بین وفور موارد مثبت PRA در دو گروه زنان (۳۷ نفر) دارای سابقه حاملگی قبلی و بدون سابقه حاملگی (۲۰ نفر) اختلاف معناداری وجود نداشت (p=۰/۹). فراوانی واکنش مثبت PRA مثبت در بین زنان با و بدون سابقه قبلی حاملگی در جدول ۱ نشان داده شده است.

به مدت ۳ دقیقه، نمونه سرم جدا شده و در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش نگهداری شدند. به‌طور خلاصه ابتدا لنفوسیت‌های افراد ظاهراً سالم جدا و به تعداد  $3 \times 10^6$  سلول در هر میلی‌لیتر سوسپانسیون نموده و سپس به حجم یک میکرولیتر به چاهک‌های پلیت ترازاکی اضافه شدند. برای هر نمونه در این مطالعه سلول‌های جدا شده از ۴۰ فرد مختلف به ۴۰ حفره پلیت ترازاکی اضافه و سپس به میزان یک میکرولیتر از سرم افراد مورد بررسی نیز اضافه شد و ۳۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده و سپس ۵ میکرولیتر کمپلمان خرگوش (محصول شرکت مادر تخصصی پالایش و پژوهش خون) به چاهک‌ها اضافه شد. ۱/۵ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و سپس به محتویات هر چاهک ۲ میکرولیتر رنگ اتوزین Y اضافه و پس از ۲-۱ دقیقه، ۱۰ میکرولیتر فرمالین ۷۳٪ به چاهک‌ها اضافه شد. وقوع یا عدم وقوع واکنش لیز یا سمیت سلولی با میکروسکوپ معکوس (درشت‌نمایی 10X) به‌صورت مثبت یا منفی یادداشت شدند. برای تفسیر نتایج مثبت برای واکنش PRA، حداقل ۱۰٪ (و بیشتر) از سلول‌های مورد بررسی، مبنای گزارش مثبت قرار گرفتند (۵، ۱۳، ۱۴). تعداد موارد مثبت در بین زنان و مردان ثبت و درصد واکنش‌های مشاهده شده به‌عنوان شدت واکنش یادداشت شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۱۶) انجام شد. جهت مقایسه وفور و شدت واکنش مثبت بین گروه‌های مختلف از آزمون آماری کای دو و برای ارتباط بین واکنش مثبت PRA با حاملگی و یا سقط از ضریب همبستگی اسپیرمن استفاده شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

در این مطالعه ۲۱۴ فرد اهداءکننده خون مراجعه‌کننده به انتقال خون تبریز در محدوده سنی ۶۲-۱۸ سال شامل ۵۷ زن (۲۶/۶٪) با محدوده سنی ۵۹-۲۳ سال (با میانگین سن  $38/7 \pm 9/3$ ) و ۱۵۷ مرد (۷۳/۴٪) با محدوده سنی ۶۲-۱۸ سال (با میانگین سن  $36/2 \pm 9/7$ )

جدول ۱- فراوانی واکنش PRA مثبت در بین زنان بدون سابقه حاملگی و با سابقه قبلی حاملگی (بر حسب تعداد حاملگی)

سابقه حاملگی و تعداد	مجموع	پاسخ PRA	
		مثبت (بیشتر یا مساوی ۱۰٪)	منفی
فاقد سابقه	۲۰	۸	۱۲
۲ حاملگی	۹	۴	۵
۳ حاملگی	۱۷	۶	۱۱
۵ حاملگی	۹	۴	۵
۸ حاملگی	۲	۰	۲
مجموع	۵۷	۲۲	۳۵

از بین ۲۰ زن بدون سابقه حاملگی، ۸ نفر (۴۰٪) و از بین ۳۷ زن با سابقه قبلی حاملگی و سقط، ۱۴ نفر (۳۷/۸۷٪) از نظر PRA مثبت شدند. شدت واکنش

جدول ۲- شدت واکنش PRA در بین زنان بدون سابقه حاملگی و با سابقه قبلی حاملگی (بر حسب تعداد حاملگی)

مجموع	درصد شدت واکنش PRA							شدت واکنش تعداد حاملگی
	کمتر از ۱۰٪ (منفی)	۱۰٪	۱۲/۵٪	۱۵٪	۱۷/۵٪	۲۰٪	۳۰٪	
۲۰	۱۲	۲	۳	۰	۲	۱	۰	۰
۱۰	۶	۱	۰	۱	۱	۰	۱	۲
۱۷	۱۱	۳	۱	۰	۰	۲	۰	۳
۹	۵	۱	۰	۰	۲	۱	۰	۵
۱	۱	۰	۰	۰	۱	۰	۰	۸
۵۷	۳۵	۷	۴	۱	۵	۴	۱	

۱۱ نفر (۲۵/۶٪) از ۴۳ زن فاقد سقط قبلی، مثبت شده بود.

و فور واکنش PRA مثبت و شدت آن در بین زنان با سابقه قبلی سقط (بر حسب تعداد آن) و بدون سابقه سقط در جداول ۳ و ۴ نشان داده شده است. بر اساس نتایج کای دو، فراوانی موارد مثبت PRA در دو گروه زنان دارای سابقه سقط قبلی و بدون سابقه سقط اختلاف معناداری داشت ( $p < 0.001$ ) و بر اساس نتایج آزمون اسپیرمن، بین شدت واکنش PRA مثبت و تعداد سقط ارتباط بینابینی و معناداری وجود داشت ( $p < 0.0001$ ),  $r = 0.52$ .

بر اساس نتایج آزمون اسپیرمن، بین شدت واکنش مثبت PRA و تعداد حاملگی ارتباط معناداری وجود نداشت ( $r = 0.325, p = 0.568$ ).

از بین ۳۷ زن با سابقه حاملگی، ۱۴ نفر (۳۷/۸٪) دارای سابقه ۱-۳ سقط بودند؛ به عبارتی ۱۴ نفر از کل زنان مورد مطالعه دارای سقط قبلی و ۴۳ نفر (۷۵/۴٪) از آنها فاقد سابقه سقط بودند که از گروه اخیر، ۲۰ نفر اصلاً سابقه حاملگی نداشتند. در ۱۱ نفر (۷۸/۶٪) از ۱۴ زن با سابقه قبلی سقط، نتیجه آزمایش PRA مثبت و در ۳ نفر (۲۴/۶٪) نیز منفی بود، در حالی که آزمایش PRA در

جدول ۳- فراوانی واکنش PRA مثبت در بین زنان با سابقه سقط (بر حسب تعداد سقط) و بدون سابقه سقط قبلی

مجموع	تعداد سقط				درصد شدت واکنش PRA
	بدون سابقه	مورد ۱	مورد ۲	مورد ۳	
۳۵	۳۲	۳	۰	۰	کمتر از ۱۰٪ = منفی
۲۲	۱۱	۳	۴	۴	بیشتر از ۱۰٪ = مثبت
۵۷	۴۳	۶	۴	۴	



جدول ۴- شدت واکنش PRA مثبت در بین زنان با سابقه سقط (بر حسب تعداد سقط) و بدون سابقه سقط قبلی

مجموع	تعداد سقط			درصد شدت واکنش PRA	
	بدون سابقه	مورد ۱	مورد ۲		
۳۵	۳۲	۳	۰	۰	منفی (کمتر از ۱۰ درصد)
۷	۴	۰	۲	۱	+۴ یا ۱۰ درصد
۴	۱	۱	۱	۱	+۵ یا ۱۲/۵ درصد
۱	۰	۰	۱	۰	+۶ یا ۱۵ درصد
۵	۵	۰	۰	۰	+۷ یا ۱۷/۵۰
۴	۱	۲	۰	۱	+۱۲ یا ۲۰ درصد
۱	۰	۰	۰	۱	+۲۰ یا ۳۰ درصد
۵۷	۴۳	۶	۴	۴	مجموع

### بحث

نتایج مطالعه حاضر بیانگر وفور آنتی‌بادی‌های ضد HLA (با شدتی در محدوده  $0.30 \leq PRA \leq 1.10$ ) در ۱۰/۷۵٪ افراد سالم اهداءکننده خون بود. فراوانی این آنتی‌بادی‌ها در زنان به‌طور معناداری بیش‌تر از مردان بود (۳۸/۶٪ در مقابل ۰/۶۴٪). این آنتی‌بادی‌ها در ۴۰٪ از زنان بدون سابقه حاملگی قبلی (۸ نفر از ۲۰ نفر زن بدون سابقه حاملگی) و یک مرد اهداءکننده خون بدون سابقه قبلی تزریق خون نیز مشاهده شد. وفور این آنتی‌بادی‌ها در زنان با و بدون سابقه حاملگی قبلی مشابه بود (۳۸/۸۷٪ در مقابل ۰/۴۹٪). فراوانی این آنتی‌بادی‌ها در گروه زنان دارای سابقه سقط (۷۵/۶٪) نسبت به وفور آنها در زنان فاقد سقط (۲۵/۶٪) به‌طور معناداری بیشتر بود و با تعداد سقط ارتباط داشت.

آنتی‌ژن‌های HLA کلاس I بر روی بسیاری از سلول‌ها حضور دارند، اما آنتی‌ژن‌های HLA کلاس II محدود به سلول‌های عرضه‌کننده آنتی‌ژن هستند. طی وضعیت‌هایی نظیر حاملگی، انتقال خون و پیوند عضو، احتمال تولید آنتی‌بادی‌های ضد HLA محتمل می‌باشد (۱۶). این آنتی‌بادی‌ها در مردان سالم غیرایمونیزه نیز گزارش شده‌اند (۱، ۱۶، ۱۷). بر حسب حساسیت آزمایش‌های مورد استفاده در مطالعات مختلف، آنتی‌بادی‌های ضد HLA در ۵۰٪ اهداءکنندگان خون گزارش شده‌اند (۲). در مطالعه حاضر نیز یکی از مردان اهداءکننده خون دارای شدت واکنش ۲۰٪ برای آزمایش PRA بود. این آنتی‌بادی‌ها در ۸ نفر از زنان بدون سابقه حاملگی قبلی نیز مشاهده شد. علت تولید این

آنتی‌بادی‌ها در برخی افراد سالم بدون وجود عوامل محرک، احتمالاً ناشی از واکنش متقاطع با آنتی‌ژن‌های ریزسازها (میکروارگانسیم‌ها)، پروتئین‌های هضم شده و آلرژن‌ها می‌باشد (۱۶، ۱۰). قدرت ایمنی‌زایی آنتی‌ژن‌های HLA متفاوت است و احتمال تولید آنتی‌بادی ضد این آنتی‌ژن‌ها به عوامل مختلفی بستگی دارد. برخی از این عوامل مربوط به مولکول‌های آنتی‌ژنی نظیر: تعداد شاخص‌های آنتی‌ژنی (اپی‌توپ‌های حاوی سه اسید آمینه یا تریپلت روی مولکول HLA)، خواص فیزیکی-شیمیایی این مولکول‌ها و جایگاه‌های قابل دسترس برای واکنش با آنتی‌بادی می‌باشند. عوامل مربوط به افراد نظیر ژنتیک و بیماری‌های زمینه‌ای، عوامل مؤثر بر شدت واکنش سلول‌های B با سلول‌های T<sup>+</sup> CD4 نیز در تولید آلو آنتی‌بادی‌های ضد HLA مؤثر هستند. محرک‌های مختلف (حاملگی، پیوند، انتقال خون) و همچنین زمان مواجهه با این آنتی‌ژن‌ها نیز در تولید این آلو آنتی‌بادی‌ها مهم می‌باشند (۱۶).

مورالس و همکاران (۲۰۰۸) به بررسی آنتی‌بادی‌های ضد HLA در ۴۲۴ مرد اهداءکننده خون با استفاده از روش فلوسایتومتری پرداخته و گزارش کردند درحالی‌که این افراد غیرایمونیزه هستند، اما ۴۲٪ آنها دارای آنتی‌بادی‌های ضد HLA-I، ۱۱٪ آنها دارای آنتی‌بادی ضد HLA-II و ۱۲٪ دارای هر دو نوع آنتی‌بادی می‌باشند. آنها این آنتی‌بادی‌ها را آنتی‌بادی‌های طبیعی قلمداد کردند (۱). در سایر مطالعات مطرح شده، برخی از افراد بدون دریافت خون (فاقد مواجهه قبلی) این آنتی‌بادی‌ها را تولید می‌کنند که به آنها آنتی‌بادی‌های

خودبه‌خودی گفته می‌شود. ظاهراً علت آن واکنش متقاطع طی مواجهه با عوامل عفونی نظیر ویروس‌های آنفلوآنزا و حتی ویروس هپاتیت C قلمداد شده است. این آنتی‌بادی‌ها در ۶۴٪ اهداءکنندگان سالم خون در مکزیک گزارش شده‌اند (۱۰).

ایموتو و همکاران (۲۰۱۰) در اوزاکای ژاپن، آنتی‌بادی‌های ضد HLA را در نمونه سرم اخذ شده از ۱۸۶ فرآورده خون شامل: گلبول قرمز متراکم، پلاکت متراکم تهیه شده به‌روش آفرزیس و پلاسماهای تازه منجمد شده (تهیه شده از ۱۲۶ مرد و ۶۰ زن اهداءکننده خون) با روش لومینکس بررسی کردند (۸). برخی فرآورده‌های تزریقی در گیرندگان، واکنش تب‌زای غیرهمولیتیک ایجاد کرده بودند. بر اساس نتایج آنها، آنتی‌بادی مذکور در ۱۶٪ از نمونه‌های سرم شامل ۱۸/۹٪ زنان و ۱۰/۸٪ مردان اهداءکننده وجود داشت. آنتی‌بادی‌های ضد HLA در ۴۲/۵٪ از زنان اهداءکننده خون با سابقه قبلی حاملگی و در ۱۲٪ از مردان اهداءکننده خون با سابقه قبلی دریافت خون ردیابی شدند (۸).

در مطالعه نوسیاد ماگدا و همکاران (۲۰۱۴) که بر روی ۱۰۸۰ اهداءکننده خون انجام شد، آنتی‌بادی‌های ضد HLA به‌روش سمیت سلولی با واسطه کمپلمان بررسی شدند. آنها اهداءکنندگان خون را در چند گروه تقسیم کردند. اهداءکنندگان سالم و بدون سابقه قبلی حاملگی یا تزریق خون و اهداءکنندگان با سابقه مثبت قبلی که در ۳ گروه شامل: اهداءکنندگان با سابقه قبلی حاملگی و تزریق خون، اهداءکنندگان با سابقه قبلی حاملگی و اهداءکنندگان با سابقه قبلی تزریق خون تقسیم شدند. در مجموع ۳۶٪ از اهداءکنندگان مورد بررسی در این مطالعه این آنتی‌بادی‌ها را داشتند. ۷۳/۶٪ افراد با سابقه قبلی حاملگی و یا دریافت خون و فرآورده‌ها، دارای آنتی‌بادی‌های مذکور بودند. این آنتی‌بادی‌ها در ۳۷-۷/۳٪ از مردان و ۶۴/۲٪ از زنان اهداءکننده خون با سابقه حاملگی قبلی ردیابی شدند (۱۱).

نقش این آنتی‌بادی‌ها به‌علت توانایی در ایجاد عوارض انتقال خون مهم است. این آنتی‌بادی‌ها یا در اهداءکنندگان خون ایجاد شده و طی انتقال خون و

فرآورده‌های خون مشتق از چنین اهداءکننده‌ای به گیرنده منتقل می‌شوند و یا در بدن گیرنده به‌صورت فعال و به‌دنبال ناسازگاری آنتی‌ژن‌های مربوطه بین اهداءکننده و گیرنده ایجاد می‌شود. عوارضی چون مقاومت پلاکتی، TRALI و واکنش‌های تب‌زا در گیرنده خون، به این آنتی‌بادی‌ها نسبت داده می‌شوند (۴، ۷، ۸). انتقال اکتسابی و فعال آنتی‌بادی‌های ضد HLA در فرآورده‌های پلاسمایی از دلایل مهم TRALI است (۱۸). آنتی‌بادی‌های ضد HLA و آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های نوتروفیلی پس از انتقال خون و فرآورده‌ها باعث فعال شدن پاسخ‌های ایمنی در گیرنده می‌شوند، اگرچه در ۱۵-۱۰٪ موارد، TRALI نیز مکانیسم‌های مستقل از آنتی‌بادی‌ها داشته و وابسته به واسطه‌های بیواکتیو تولید شده در فرآورده‌ها شناخته شده‌اند (۱۹). البته این عارضه در تزریق همه فرآورده‌های تهیه شده از اهداءکنندگان که دارای آنتی‌بادی ضد HLA است، TRALI ایجاد نمی‌شود و در مواردی از TRALI نیز آنتی‌بادی‌های ضد HNA موجود در بدن گیرنده دخالت دارند. (۲۰)، درحالی‌که مقاومت پلاکتی با واسطه آلوایمونیزاسیون گیرنده علیه آنتی‌ژن‌های HLA و یا آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های پلاکتی بوده که تخریب پلاکت‌های تزریقی را به‌دنبال دارد. با توجه به نقش گلبول‌های سفید در بروز عوارض انتقال خون، مفید بودن استفاده از فرآورده‌های کم لکوسیت یا فرآورده‌های Leukoreduced قبل از ذخیره‌سازی و نگهداری فرآورده‌ها (Pre-storage) در بانک خون به‌منظور کاهش عوارض تب‌زای انتقال خون، کاهش انتقال سایتومگالوویروس و کاهش آلوایمونیزاسیون علیه HLA از دهه ۹۰ میلادی مطرح شده است (۲۱). به‌علت نقش این آنتی‌بادی‌ها و حضور آنها در برخی افراد و به‌ویژه زنان با سابقه قبلی حاملگی، قوانینی توسط انجمن آمریکایی بانک خون<sup>۱</sup> AABB (از معتبرترین انجمن‌های جهانی مربوط به ایجاد استانداردها و قوانین مربوط به انتقال خون و سلول درمانی است)، وضع شدند. این انجمن برای کاهش عوارض ناشی از این آنتی‌بادی‌ها، در سال ۲۰۱۴ برخی

<sup>1</sup>American Association of Blood Banks

۲۰۰ زن اهداءکننده خون با چند زایمان (با سابقه ۱ زن بیش از ۳ زایمان) به‌عنوان گروه مورد با ۲۰۰ زن اهداءکننده خون فاقد سابقه زایمان به‌عنوان گروه شاهد با روش CDC پرداخت، در گروه کنترل فاقد زایمان قبلی هیچ آنتی‌بادی مشاهده نشد، در حالی که در مطالعه حاضر ۸ نفر از ۲۰ زن (۴۰٪) فاقد سابقه قبلی حاملگی از نظر PRA مثبت شدند. در مطالعه صدی ۱۰/۳٪ از زنان گروه مورد با چند زایمان دارای این آنتی‌بادی‌ها بودند، درحالی‌که در مطالعه حاضر ۱۱ نفر (۷۸/۶٪) از ۱۴ زن با سابقه سقط قبلی از نظر شدت PRA (نتیجه  $PRA \geq 1.0$ ) شدند. در مطالعه صدی وفور آنتی‌بادی‌ها بین دو گروه مورد و کنترل اختلاف معناداری داشت ( $p < 0.05$ )، ولی بین سن زنان و تعداد زایمان ارتباطی یافت نشد. از نظر عدم ارتباط بین حضور آنتی‌بادی با محدوده سنی و تعداد زایمان، نتایج مطالعه حاضر با مطالعه صدی همخوانی داشت (۲۴).

در مطالعه کویپلن و همکاران (۲۰۱۱) که آنتی‌بادی‌های ضد HLA کلاس I و II را با روش میکروچیپ بررسی کردند (با  $Cut\ off = 0.25$ )، ۲/۹٪ از افراد دارای آنتی‌بادی ضد HLA-I و ۸/۹٪ دارای آنتی‌بادی‌های ضد HLA-II بودند. همچنین ۱۷٪ افراد فاقد سابقه قبلی حاملگی یا انتقال خون نیز دارای این آنتی‌بادی‌ها بودند. همچنین ۴۷٪ افراد با سابقه قبلی حاملگی و انتقال خون این آنتی‌بادی‌ها را داشتند، در حالی که در مطالعه حاضر در مجموع ۹ نفر (۴/۲٪) از افراد بدون سابقه قبلی انتقال خون و حاملگی (شامل ۱ مرد و ۸ زن) و ۷۸/۶٪ زنان با سابقه قبلی حاملگی و سقط از نظر این آنتی‌بادی‌ها و PRA مثبت شدند (۲۵).

ضیا و همکاران (۲۰۱۵) در جنوب چین به بررسی آنتی‌بادی‌های ضد HLA به‌روش فلوسایتومتری در ۱۰۱۴ اهداءکننده خون شامل ۴۵۴ مرد و ۵۶۰ زن (۴۷۰ نفر با زایمان‌های متعدد و ۱۴۷ نفر بدون زایمان قبلی) پرداختند. این آنتی‌بادی‌ها در ۱۳۱ نفر (۱۲/۹٪) از افراد مورد مطالعه مشاهده شدند، درحالی‌که وفور این آنتی‌بادی در مطالعه حاضر ۱۰/۷۵٪ بود. در مطالعه آنها ۲۱ نفر (۴/۶۳٪) از مردان، ۱۰۳ نفر (۲۴/۱٪) از زنان با زایمان متعدد و ۷ زن (۴/۹٪) بدون سابقه حاملگی دارای

مقررات خود را بازبینی نموده و استانداردهایی را برای کاهش عارضه TRALI مطرح کرده است. تزریق آلوژنیک خون و پلاسما باید از اهداءکنندگان مرد و زنان بدون سابقه حاملگی باشد و در صورتی فرآورده‌های خون و پلاسما از زنان با سابقه حاملگی قبلی مصرف شود که پس از آخرین حاملگی، نتیجه بررسی آنتی‌بادی HLA در این گروه از اهداءکنندگان خون منفی باشد (۲۲).

بررسی‌ها نشان می‌دهد ۳۰٪ از زنان طی سه ماهه اول حاملگی و یا هنگام زایمان، آنتی‌بادی‌های ضد HLA کلاس I را تولید می‌کنند که در بسیاری از آنها این آنتی‌بادی‌ها بعد از زایمان از بین می‌رود، اما در برخی نیز تا مدت‌های مدید باقی می‌ماند که علت این امر را وقوع کایمریسم (وجود سلول‌های دوگانه مادری-جنینی) در مادران باردار دانسته‌اند. ژنوتیپ HLA کلاس I، یا ژن‌ها و آنتی‌ژن‌های موجود در مادر تعیین‌کننده حساس شدن طی حاملگی می‌باشد. گزارش شده تا سال‌ها پس از زایمان در خون محیطی برخی مادران گلوبول‌های سفیدی وجود دارند که حاوی آنتی‌ژن‌های HLA نوزاد، ارث برده از پدر، می‌باشند. در مطالعه ریس و همکار (۲۰۱۵) و راویندراناس و همکاران (۲۰۱۰) بین تعداد حاملگی‌ها و احتمال تولید آنتی‌بادی و مدت تداوم آن ارتباطی مشاهده نشد (۱۰، ۱۶). در مطالعه حاضر نیز بین وفور این آنتی‌بادی‌ها (درصد موارد مثبت PRA) و شدت واکنش مثبت (نتیجه PRA بیشتر از ۱.۰) با تعداد حاملگی ارتباطی مشاهده نشد.

در مطالعه آمپاتی و همکاران (۲۰۱۱)، ۵۸ زن با حاملگی موفق بدون سقط و ۲۲۹ زن با حاملگی موفق اما با سابقه سقط‌های قبلی و فرزندان آنها از نظر آنتی‌ژن‌های HLA و آنتی‌بادی‌های ضد آن بررسی شدند. درصد آنتی‌ژن‌های ایمونوژن در ۱۸ زن که دارای یک سقط قبلی و سپس یک حاملگی موفق بودند، در مقایسه با زنان فاقد سقط قبلی، کمتر گزارش شد. این امر بیانگر آن است که از نظر تولید آنتی‌بادی در مادر، سابقه یک سقط بر حاملگی بعدی اثری متفاوت از حاملگی موفق دارد (۲۳). صدی (۲۰۰۷) در گزارش نهایی طرح تحقیقاتی خود در مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران به مقایسه وفور آنتی‌بادی‌های ضد HLA بین

است. این امر بیانگر آن است که تعداد سقط‌های قبلی بر حساس شدن طی حاملگی اثر دارد (۲۳)، در مطالعه حاضر نیز نتایج مشابهی حاصل گردید و افزایش حضور آنتی‌بادی‌های HLA در افراد با تعداد سقط قبلی بیشتر مشاهده شد.

### نتیجه‌گیری

احتمال ایمونیزاسیون علیه HLA در موارد بدون سابقه حاملگی و همچنین با سابقه قبلی حاملگی و افزایش تعداد سقط، بیشتر می‌شود و حضور این آنتی‌بادی‌ها در مردان سالم اهداءکننده نیز محتمل می‌باشد. به‌نظر می‌رسد ضمن توجه به استراتژی‌های توصیه شده و مقررات بانک‌های خون، لازم است ارزیابی آنتی‌بادی‌های HLA در مردان و زنان بدون سابقه حاملگی نیز مورد توجه قرار گیرد، اما لازم است هزینه مربوط به انجام این آزمایش‌ها طی طراحی مطالعات سود و هزینه در کنار سایر ارزیابی‌های معمول طی انتقال خون، بررسی و برآورد شوند.

### تشکر و قدردانی

این مطالعه، بخشی از نتایج طرح تحقیقاتی مصوب در شورای پژوهش مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون/ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ایران- تهران می‌باشد. بدین‌وسیله از همکاری آقای دکتر وحید متمر، خانم دکتر آزاده صدری، خانم پریسا حسین‌زاده و خانم محبوبه شفیعی، تشکر و قدردانی می‌شود.

این آنتی‌بادی‌ها بودند (۹). در مقایسه و فور این آنتی‌بادی‌ها در مطالعه حاضر (۱ نفر (۰/۶۵٪) در مردان از و فور آن در مطالعه ضیا کمتر بود و در ۱۴ نفر (۳۷/۸۴٪) از زنان با سابقه حاملگی متعدد و ۸ نفر (۴۰٪) از زنان بدون سابقه زایمان به‌دست آمد، به‌عبارتی در مطالعه ضیا، ۱۲۰ زن از ۵۶۰ زن مورد مطالعه (۲۱/۴۳٪) و در مطالعه حاضر ۲۲ زن از ۵۷ زن مورد بررسی (۳۸/۶٪) دارای این آنتی‌بادی‌ها بودند. در مطالعه حاضر و فور این آنتی‌بادی‌ها در زنان بیشتر بود که احتمالاً به‌علت برخورد بیشتر با عوامل دارای واکنش متقاطع و یا شاید مصرف فرآورده‌های خون طی زایمان می‌باشد که اثبات این امر نیاز به بررسی‌های بیشتر دارد. در مطالعه حاضر تعداد موارد مثبت PRA در زنان با سابقه سقط قبلی در مقایسه با زنان بدون سابقه سقط بیشتر بود. آنتی‌بادی‌های ضد HLA (پدری که توسط جنین به ارث رسیده‌اند) در ۳۶-۷/۳٪ زنان با زایمان‌های متعدد مشاهده شده و به‌دنبال آن ایمونیزاسیون مادر و جنین نیز روی می‌دهد. حدود ۲۸٪ از زنان با سابقه سقط خودبه‌خودی دارای آنتی‌بادی‌های ضد HLA هستند. برخی از این آنتی‌بادی‌ها نقش حفاظتی برای جنین دارند (۲۶). آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های HLA (پدری که توسط جنین به ارث رسیده‌اند) تعداد حاملگی‌های موفق را افزایش می‌دهند، اما گاهی نیز مضر می‌باشند. نقش مفید یا مضر این آنتی‌بادی‌ها مورد بحث است. آنتی‌ژن‌های ایمنی‌زا در زنان دارای یک حاملگی موفق و دو مورد (و یا بیشتر سقط قبلی) در مقایسه با زنان دارای یک حاملگی موفق و یک سقط قبلی، بیشتر

### منابع

- Morales-Buenrostro LE, Terasaki PI, Marino-Vázquez LA, Lee JH, El-Awar N, Alberú J. "Natural" human leukocyte antigen antibodies found in nonalloimmunized healthy males. *Transplantation* 2008; 86(8):1111-5.
- Kongtim P, Cao K, Ciurea SO. Donor specific Anti-HLA antibody and risk of graft failure in haploidentical stem cell transplantation. *Adv Hematol* 2016; 2016:4025073.
- Suciu-Foca N, Reed E, Rohowsky C, Kung P, King DW. Anti-idiotypic antibodies to anti-HLA receptors induced by pregnancy (T-cell receptors/allogeneic reactivity). *Proc Natl Acad Sci* 1983; 80(3):830-4.
- Koclega A, Markiewicz M, Siekiera U, Dobrowolska A, Sylwia M, Dzierzak-Mietlaet M, et al. The presence of Anti-HLA antibodies before and after allogeneic hematopoietic stem cells transplantation from HLA-Mismatched unrelated donors. *Bone Marrow Res* 2012; 2012:539825.
- Kuda E, Al-Wahadneh A. Comparison of flow panel reactive assay (PRA) TM specific test with complement dependent cytotoxicity (CDC) to define the HLA antibodies specificity: a preliminary study. *Saudi J Kidney Dis Transplant* 2001; 12(1):21-7.



6. Bray RA, Pollack MS, Gebel HM. The HLA system. In: Fung MK, Grossman BJ, Hillyer CD, Westhoff CM, editors. Technical manual. 18<sup>th</sup> ed. Maryland: AABB, Bethesda; 2014. P. 487.
7. Choo SY. The HLA system genetics, immunology, clinical testing, and clinical implications. *Yonsei Med J* 2007; 48(1):11-23.
8. Imoto S, Kawamura K, Tokumine Y, Araki N, Akita S, Nishimura C, et al. Acute non-hemolytic transfusion reactions and HLA class I antibody: advantages of solid phase assay compared with conventional complement-dependent assay. *Transfus Med* 2010; 20(2):95-103.
9. Xia W, Ye X, Xu X, Chen D, Deng J, Chen Y, et al. The prevalence of leucocyte alloantibodies in blood donors from South China. *Transfus Med* 2015; 25(6):385-92.
10. Rees L, Kim JJ. HLA sensitization: can it be prevented? *Pediatr Nephrol* 2015; 30(4):577-87.
11. Nowosiad-Magda M, Myślak M, Roszkowska P, Borowiec-Chłopek Ż, Krasnodebska-Szponder B, Kłosińska E, et al. Anti-human leukocyte antigen antibodies are present in blood of blood donors: is therapy with blood preparations safe for graft recipients? *Transplant Proc* 2014; 46(8):2565-71.
12. Monteiro F, Rodrigues H, Kalil J, Castro MC, Panajotopoulos N, Paredes M, et al. Pre- and posttransplant monitoring of alloantibodies by complement-dependent cytotoxicity and luminex methodologies in liver transplantation. *Transplant Proc* 2012; 44(8):2411-2.
13. Clatworthy MR, Espeli M, Torpey N, Smith KG. The generation and maintenance of serum alloantibody. *Curr Opin Immunol* 2010; 22(5):669-81.
14. Lepage V, Degos L, Dausset J. A "natural" anti-hla-a2 antibody reacting with Homozygous cells. *Tissue Antigens* 1976; 8(2):139-42.
15. Saito PK, Yamakawa RH, Pereira LC, da Silva WV Jr, Borelli SD. Complement-dependent cytotoxicity (CDC) to detect Anti-HLA antibodies: old but gold. *J Clin Lab Anal* 2014; 28(4):275-80
16. Ravindranath MH, Kaneku H, El-Awar N, Morales-Buenrostro LE, Terasaki PI. Antibodies to HLA-E in nonalloimmunized males: pattern of HLA-Ia reactivity of anti-HLA-E-positive sera. *J Immunol* 2010; 185(3):1935-48.
17. Grenzi PC, de Marco R, Silva RZ, Campos EF, Gerbase-DeLima M. Antibodies against denatured HLA class II molecules detected in luminex-single antigen assay. *Hum Immunol* 2010; 47(10):1300-3.
18. Brand A. Immunological complications of blood transfusions. *Presse Med* 2016; 45(7-8):e313-24.
19. McVey MJ, Kim M, Tabuchi A, Srbely V, Japtok L, Arenz C, et al. Acid sphingomyelinase mediates murine acute lung injury following transfusion of aged platelets. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2017; 312(5):L625-37.
20. MacLennan S. Transfusion related acute lung injury (TRALI). NBS Transfusion Medicine Clinical Policies Group. Available at: URL: <http://hospital.blood.co.uk/media/28094/inf27134-transfusion-related-acute-lung-injury-trali.pdf>; 2014.
21. Pertinhez TA, Casali E, Baroni F, Berni P, Baricchi R, Spisni A. A comparative study of the effect of leukoreduction and pre-storage leukodepletion on red blood cells during storage. *Front Mol Biosci* 2016; 3:13.
22. Sher G, Markowitz M. TRALI risk mitigation for plasma and whole blood for allogeneic transfusion. Bethesda: AABB Association Bulletin; 2014.
23. Umopathy S, Shankarkumar S, Ramrakhiyani V, Ghosh K. Role of anti-human lymphocyte culture cytotoxic antibodies in recurrent spontaneous pregnancy loss women. *J Hum Reprod Sci* 2011; 4(1):17-9.
24. Sadri A. Survey of HLA antibodies in female multiparous blood donors. Tehran: IN Iranian Blood Transfusion Organization Research Council Final Report Booklet; 2007. P. 317.
25. Quillen K, Medrano C, Adams S, Peterson B, Hackett J, Leitman SF, et al. Screening plateletpheresis donors for HLA antibodies on two high throughput platforms and correlation with recipient outcome. *Transfusion* 2011; 51(3):504-10.
26. Geneugeljk K, Hönger G, van Deutekom HW, Hösli IM, Schaub S, Spierings EA. Previous miscarriage and a previous successful pregnancy have a different impact on HLA antibody formation during a subsequent successful pregnancy. *Front Immunol* 2016; 7:571.