تغییر در نسبت سلول‌های CD4/CD8 و شمارش مطلق نوتروفیلی پس از دریافت ایمونوگلوبولین داخل وریدی در کودکان مبتلا به پورپورای ترومبوسیتوپنیک ایدیوپاتیک

*دکتر شهلا انصاری I

دکتر احمد کاظمی II

اسماعیل شهابی III

چکیده

زمینه و هدف: ایمونوگلوبولین داخل وریدی(Intra Venous Immunoglobulin-IVIG) یک محصول مشتق از پلاسما می‌باشد که در درمان بسیاری از بیماری‌های خود ایمنی ترومبوستوپنی، موارد نقص ایمنی و بیماری‌های عفونی کاربرد دارد. در این مطالعه تأثیر تزریق IVIG بر روی تعداد گلبول‌های سفید، نوتروفیل‌ها، لنفوسیت‌ها و پلاکت‌ها و همچنین تأثیر IVIG بر درصد سلول‌های CD4 و CD8 مثبت، لنفوسیت‌های T cell و تعداد مطلق آن‌ها در بیماران با پورپورای ترومبوسیتوپنیک ایمیون(Immune Thrombocytopenic Purpura – ITP)مورد بررسی قرار گرفته است.

روش کار: مطالعه انجام شده از نوع مقطعی بوده و بر روی ۳۲ بیمار مبتلا به ITP انجام شده است. در این بیماران قبل و یک ساعت بعد از شروع تزریق دوز درمانی IVIG، یک نمونه خون گرفته شد. برای تمام نمونه‌ها یک شمارش کامل سلول‌های خونی، پلاکت و شمارش افتراقی لوکوسیت‌های خون توسط دستگاه Sysmex kx-21 انجام شد. سپس به منظور بررسی نوع لنفوسیت‌ها، از آنتی‌بادی‌های ضد مارکرهای CD4 و CD8 نشان دار شده استفاده شد. جهت تحلیل آماری نتایج به دست آمده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۵ و آزمون student t-test با سطح معنی‌داری $p<0.05$ استفاده شد. همچنین برای بررسی ارتباط بین سن بیماران و حجم کلی IVIG تزریق شده با نتایج به دست آمده از ضریب همبستگی پیرسون استفاده گردید.

یافته‌ها: بررسی شمارش سلول‌های خونی نشان داد که کاهش معنی‌داری در میانگین گلبول‌های سفید، نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها پس از تزریق ایمونوگلوبولین داخل وریدی دیده می‌شود. اما این تغییرات در مورد پلاکت‌ها از نظر آماری معنی‌دار نبود. مقایسه میانگین درصد سلول‌های CD4 و CD8 افزایش معنی‌داری را در نسبت سلول‌های CD4/CD8 پس از تزریق نشان می‌دهد. تعداد مطلق لنفوسیت‌های CD4 و CD8 یک ساعت پس از تزریق IVIG با کاهش معنی‌داری همراه بود، اما نسبت آن‌ها پس از تزریق افزایش نشان داد.

نتیجه‌گیری: IVIG باعث کاهش در تعداد مطلق نوتروفیل‌ها می‌گردد، اما این کاهش با مشکلات ناشی از عفونت همراه نمی‌باشد. همچنین این کاهش در تعداد لنفوسیت‌ها نیز دیده می‌شود. اما به نظر می‌رسد که تغییر در تعداد و درصد سلول‌های CD4 وCD8 وابسته به زمان نمونه‌گیری متعاقب تزریق IVIG باشد.

کلیدواژه‌ها: ۱-ایمونوگلوبولین داخل وریدی ۲-پورپورای ترومبوسیتوپنی ایدیوپاتیک ۳-شمارش نوتروفیل ٤-لنفوسیت

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۰/۱۴، تاریخ پذیرش:۸۹/۳/۳۱

مقدمه

پورپورای ترومبوسیتوپنیک ایمیون یک بیماری با واسطه سیستم ایمنی می‌باشد که در نتیجه تولید اتوآنتی‌بادی علیه گلیکوپروتئین‌های پلاکتی و به طور عمده گلیکوپروتئین IIb/IIIa و در موارد نادر گلیکوپروتئین‌های Ib/IX و Ia و IIa پلاکتی به وجود می‌آید.این آنتی‌بادی‌ها باعث فاگوسیتوز پلاکت‌ها در سیستم رتیکولواندوتلیال می‌شوند که نتیجه آن ترومبوسیتوپنی و تظاهرات خونریزی‌دهنده است.[1] بیماران علائمی مانند پتشی، اکیموز

این مقاله خلاصه‌ای است از پایان‌نامه آقای اسماعیل شهابی جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد هماتولوژی با راهنمایی دکتر شهلا انصاری و مشاوره دکتر احمد کاظمی، سال ۱۳۸۸.

این مطالعه تحت حمایت مالی و معنوی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ایران به انجام رسیده است.

I) دانشیار و فوق تخصص هماتولوژی و انکولوژی کودکان، بیمارستان حضرت علی اصغر(ع)، خیابان شریعتی، خیابان ظفر، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی ایران، تهران، ایران(*مولف مسؤل)

II) دانشیار و متخصص هماتولوژی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی ایران، تهران، ایران

III) کارشناس ارشد هماتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی ایران، تهران، ایران

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

و خونریزی‌های مخاطی را نشان می‌دهند.

در کودکان، ITP معمولاً به دنبال یک عفونت ویروسی اتفاق می‌افتد و در ۸۰ تا ۹۰ درصد موارد خودبخود بهبود پیدا می‌کند. تظاهرات ترومبوسیتوپنی در کودکان نسبت به افراد بالغ شدیدتر می باشد.[۲] برای درمان معمولاً از استروئیدها، ایمونوگلوبولین داخل وریدی(IVIG) و در موارد کمتر از ایمونوگلوبولین آنتیD استفاده می‌شود.[۳]

IVIG یک محصول مشتق از پلاسما می‌باشد که استفاده از آن در درمان بیماری‌های اتوایمیون روبه افزایش است. به علاوه این فرآورده در موارد نقص ایمنی وبیماری‌های عفونی هم کاربرد دارد.[٤]

در بیماری‌های خود ایمنی عملکردهای متفاوتی برای IVIG متصور هستند که می‌توان به مهار گیرنده FC ماکروفاژها یا خاصیت آنتی‌ایدیوتایپ آن اشاره کرد. مطالعات جدید نشان داده‌اند که IVIG می‌تواند از طریق تغییر در پروفایل سیتوکینی، اثر روی سلول‌های دندرتیک یا سلول‌های T و B باعث تعدیل پاسخ‌های سیستم ایمنی شود.[٥]

تاکنون تلاش‌های زیادی به منظور افزایش ایمنی این محصول شده است تا خطر انتقال بیماری‌هایی مانند هپاتیت و ایدز کاهش یابد.

استفاده از IVIG مانند بسیاری از داروهای دیگر ممکن است با عوارض جانبی همراه باشد که از این بین می‌توان به تب، لرز،درد در ناحیه پشت، حالت تهوع و برافروختگی اشاره کرد که به طور معمول گذرا بوده و با سرعت تزریق IVIG مرتبط هستند. هر چند که علت این امر ناشناخته است، اما به نظر می‌رسد تجمعات مولکولی IgG، دایمرهای IgG و یا فعال شدن سیستم کمپلمان در آن دخیل می‌باشند.[٦]

تغییر در پارامترهای هماتولوژیک ودرصد سلول‌های CD4 و CD8 درچندین مطالعه بررسی شده است، اما چون بیشتر این مطالعات در بیماری‌های خود ایمنی دیگر مثل سندرم کاوازاکی، سندرم شوگران، درماتومیوزیت و همچنین موارد نقص ایمنی بوده ومطالعات مشابه در بیماران ITP با تعدادنمونه‌های کمتری انجام شده است، تصمیم گرفته شد تا تأثیر تزریق IVIG بر روی تعداد گلبول‌های سفید، نوتروفیل‌ها، لنفوسیت‌ها و پلاکت‌های بیماران ITP مورد بررسی قرار گیرد. همچنین تاثیرIVIG بر درصد سلول‌های CD4 و CD8 مثبت و تعداد مطلق آن‌ها در این بیماران ارزیابی شد.

روش کار

این مطالعه از نوع مقطعی بوده و برروی ۳۲ کودک مبتلا به ITP حاد ومزمن انجام گرفته است که همه این بیماران به منظور دریافت ایمونوگلوبولین داخل وریدی به بیمارستان کودکان حضرت علی اصغر(ع) مراجعه کرده بودند. میانگین سنی بیماران ۳/٦٤ سال (۱۲-۰/۲سال) بود.

معیارهای ورود این بیماران به پژوهش تشخیص ITP براساس ترومبوسیتوپنی ایزوله در خون محیطی، به همراه طبیعی بودن سایر سلول‌های خونی و عدم وجود علائم سیستمیک و بررسی مغز استخوان بوده است. بیمارانی که تست کومبز یا آنتی‌بادی ضد هسته (Anti Nuclear Antibody-ANA) مثبت داشتند، از مطالعه خارج شدند.

روش نمونه گیری

از تمام بیماران چند دقیقه قبل از شروع تزریق IVIG (۱۰۰۰-٤۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم-mg/kg)یک نمونه خون (۲ میلی‌لیتر-ml خون کامل) در ویال CBC حاوی ماده ضد انعقاد EDTA گرفته شد. یک ساعت پس ازاتمام تزریق IVIG، نمونه‌گیری به همین ترتیب دوباره تکرار گردید. تمام نمونه‌ها بلافاصله مورد بررسی قرار گرفتند.در مدت زمان انجام این مطالعه از سه محصول مختلف IVIG با توجه به شرکت تولید کننده

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

آن استفاده گردید که این فرآورده‌ها شامل Ig VENA ،Sand globulin(ZLBBehring , Switzerland) (KedrionS,p,AItaly) و Ingrates (Biotest,Germany) بودند.

روش مطالعه روی نمونه ها

ابتدا از تمام نمونه‌ها یک شمارش کامل خون توسط دستگاه Sysmex kx-21 به عمل آمد. همچنین شمارش افتراقی گلبول‌های سفید به روش دستی با استفاده از رنگ آمیزی رایت صورت گرفت. برای بررسی‌های فلوسیتومتری از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال نشان دار شده با FITC (فلئورسین ایزوتیو سیانات) وRPE (فیکواریترین) استفاده شد که به صورت dual و به ترتیب ضد آنتی‌ژن‌های CD4 و CD8 بودند.

آنتی‌بادی مونوکلونال بر ضد این مارکرها از شرکت Dako cytomation تهیه شد.ابتدا در لوله‌های پلی استیرن فالکون ۵۰ لاندا خون کامل حاوی ماده ضد انعقاد EDTAریخته شده و سپس ۵ لاندا از آنتی‌بادی‌های نشان دار ضد مارکرهای CD4 وCD8 به آن اضافه شده و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ٤ تا٦ درجه سانتی‌گراد قرار داده می‌شود.

پس از اتمام این مدت مقدار ۱۰۰ لاندا از محلول لیز (reagent 1) به مقدار قبلی اضافه و میکس شده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق ودر تاریکی نگهداری می‌شود. پس از اتمام این مدت محلول لیز (reagent 2) به مقدار ml ۱ به حجم قبلی اضافه شده و دوباره به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی قرار می‌گیرد.

پس از پایان این زمان لوله را سانتریفوژ کرده [(۳۰۰ xg)(دور)]، به آرامی مایع رویی را جدا کرده طوری که حدود(میکرولیتر) ul ۵۰ از محلول در داخل لوله باقی بماند. ۲ میلی‌لیتر از محلول PBS به لوله اضافه و به خوبی مخلوط کرده. سپس نمونه را دوباره با همان دور سانتریفوژ کرده، مایع رویی را دور ریخته و با ۲ml از بافر PBS دوباره به صورت سوسپانسیون در آورده.

آماده سازی نمونه‌ها در این مرحله به پایان می‌رسد و برای بررسی با دستگاه فلوسیتومتری آماده می‌باشد. البته تا ٢٤ ساعت می‌توان نمونه را در دمای ٤ تا ٦ درجه سانتی‌گراد نگهداری نمود.

در مطالعه انجام شده حداکثر زمان بین نمونه‌گیری وانجام آزمایش‌های مربوطه حدود ٢٤ ساعت بود وسعی بر این بوده که بررسی‌ها بلافاصله پس از نمونه‌گیری انجام شود تا کمترین تداخل ناشی از مدت زمان نگهداری نمونه‌ها در نتایج به دست آمده، ایجاد نشود. همچنین برای هر تست یک نمونه کنترل ایزوتیپ نیز گذاشته شد و آنالیز داده‌ها با توجه به آن صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های ذخیره شده با نرم‌افزار CellQuest دستگاه فلوسیتومتری آنالیز شدند. سلول‌های مرده و مونوسیت‌ها با انجام gating مناسب و تنظیم FCS/SSC از مطالعه حذف گردید. در تحلیل نمونه‌ها حداقل ۱۰۰۰۰ سلول مورد ارزیابی قرار گرفت. تعداد سلول‌های سفید، نوتروفیل‌ها، لنفوسیت‌ها و پلاکت‌ها به صورت میانگین (range) آورده شده است. نتایج مرتبط با زیرگروه لنفوسیتی (سلول‌های CD4 و CD8 مثبت) به صورت درصد میانگین (±SD) ذکر شده است. برای بررسی معنی‌دار بودن تغییرات قبل و بعد، از آزمون آماری student t-test استفاده گردید. به علاوه برای بررسی ارتباط بین سن و حجم کلی IVIG تزریق شده با تغییرات ایجاد شده پس از تزریق IVIG، از ضریب همبستگی پیرسون استفاده گردید.

یافته‌ها

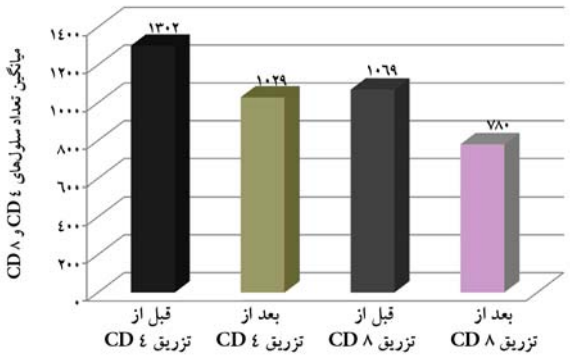
نتایج حاصل از تغییرات گلبول‌های سفید، نوتروفیل‌ها، لنفوسیت‌ها و پلاکت‌ها قبل و یک ساعت بعد از درمان در جدول و نمودار شماره ۱ آورده شده است. همان‌طور که جدول نشان می‌دهد میانگین تعداد سلول‌های سفید،

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها بعد از درمان کاهش معنی‌داری را نسبت به قبل نشان می‌دهد (p<۰/۰۰۱). اما در مورد تعداد پلاکت‌ها قبل وبعد درمان تغییرات از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد (p>۰/۰۵).

جدول شماره ۱- تغییرات در میانگین تعداد سلول‌های سفید، نوتروفیل‌ها، لنفوسیت‌ها و پلاکت‌ها قبل و ۱ ساعت پس از تزریق IVIG

سلول‌های خونی	قبل از تزریق میانگین (range)	۱ ساعت بعد از تزریق میانگین (range)	مقدار p
تعداد گلبول‌های سفید	۷۰۰۳ (۲۹۰۰-۱۲۴۰۰)	۵۲۲۸ (۲۴۰۰-۹۹۰۰)	<۰/۰۰۱
شمارش مطلق نوتروفیلی	۲۸۱۴ (۳۸۴-۹۹۲۰)	۱۹۱۵ (۴۳۲-۷۲۹۶)	<۰/۰۰۱
شمارش مطلق لنفوسیت‌ها	۳۷۷۹ (۱۶۲۰-۸۴۶۶)	۲۹۲۷ (۱۳۶۴-۶۲۶۴)	<۰/۰۰۱
تعداد پلاکت‌ها	۴۰۷۵۰ (۴۰۰۰-۱۶۷۰۰۰)	۴۳۷۱ (۴۰۰۰-۱۸۸۰۰۰)	۰/۳۷۷



نمودار شماره ۱ -تفاوت میانگین تعداد لنفوسیت های CD4 و CD8 قبل و بعد از درمان

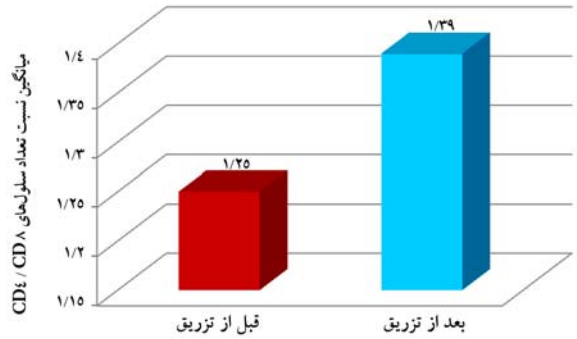
در ۱۰ بیمار از ۳۲ بیمار(۳۱٪) شمارش مطلق تعداد نوتروفیل‌ها به کمتر از ۱۵۰۰ سلول در میکرولیتر کاهش پیدا نمود. تعداد پلاکت‌ها بر خلاف انتظار همیشه با افزایش همراه نبود و در ۴۳٪ بیماران (۱۴بیمار از ۳۲بیمار) تعداد پلاکت‌ها پس از تزریق ایمونوگلوبولین داخل وریدی با کاهش همراه بود. از بین این گروه فقط ۳بیمار(۲۱٪) برای اولین بار IVIG دریافت کرده بودند و در بقیه موارد، بیماران قبلاً هم سابقه دریافت IVIG داشتند.

از بین ۱۸ بیماری که تعداد پلاکت‌ها در آن‌ها پس از تزریق با افزایش همراه بود، ۱۱بیمار(۶۱٪) برای اولین بار IVIG دریافت کرده بودند و فقط ۷ بیمار سابقه تزریق داشتند.

در جدول و نمودار شماره ۲ میانگین درصد لنفوسیت‌های CD4 و CD8 مثبت و میزان تغییرات آن‌ها قبل و۱ ساعت بعد از درمان آورده شده است. همان‌طور که جدول نشان می‌دهد نسبت سلول‌های CD4/CD8 یک ساعت پس از درمان افزایش معنی‌داری را نسبت به قبل از آن نشان می‌دهد (p<۰/۰۰۱) و این افزایش عمدتاً به دلیل کاهش معنی‌دار درصد سلول‌های CD8 مثبت می‌باشد(p=۰/۰۰۱).

جدول شماره ۲- تغییرات میانگین درصد سلول‌های CD4 وCD8 مثبت و نسبت آن‌ها قبل و ۱ ساعت پس از تزریق IVIG

زیرگروه لنفوسیتی	قبل از تزریق SD± میانگین	۱ساعت بعد از تزریق SD±میانگین	مقدار p
CD4+	۳۳/۳۷±۶/۴۸	۳۴/۴۴±۶/۰۴	۰/۱۰۵
CD8+	۲۸/۵± ۸/۴۳	۲۶/۶±۸/۴۱	۰/۰۰۱
CD4+/ CD8+	۱/۲۵±۰/۳۷	۱/۳۸±۰/۴	<۰/۰۰۱



نمودار شماره۲ - تفاوت نسبت تعداد لنفوسیت‌های CD4/CD8 قبل و بعد از درمان

تفاوت میانگین درصد سلول‌های CD4 مثبت قبل و ۱ ساعت پس از تزریق IVIGاز نظرآماری معنی‌دار

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

نیست($p>0/05$).

از بین تمام نمونه‌های مورد آزمایش در ٤ بیمار نسبت سلول‌های CD4/CD8 با کاهش همراه بود که این امر به دلیل افزایش درصد سلول‌های CD8 مثبت در این بیماران بود،اما افزایش تعداد پلاکت‌ها در این ٤ بیمار قابل توجه نبود. اما به طور کلی به دلیل کاهش در تعداد مطلق لنفوسیت‌ها پس از تزریق ایمونوگلوبولین داخل وریدی، تعداد مطلق سلول‌های CD4 و CD8 نیز با کاهش همراه بود.

همان‌طور که در جدول شماره ۳ نشان داده شده است تعداد سلول‌های +CD4 نسبت به قبل از درمان با کاهش معنی‌داری همراه می‌باشد($p<0/001$).

جدول شماره ۳- تغییرات میانگین تعداد سلول‌های CD4 و CD8 مثبت و نسبت آن‌ها قبل و ۱ ساعت پس از تزریق IVIG

زیرگروه لنفوسیتی	قبل از تزریق میانگین (range)	۱ساعت بعد از تزریق میانگین (range)	مقدار p
CD4+	۷۷	۱۰۲۹ (۲۲۷۹-۳۵٤)	<۰/۰۰۱
CD8+	۱۰٦۹ (۲٤۲۷-۲۷٦)	۷۸۰ (۱۸۸٦-۲۱۱)	<۰/۰۰۱
CD4+/CD8+	۱/۲۵ (۱/۹۷-۰/۵۹)	۱/۳۹ (۲/۱٦-۰/٦۱)	<۰/۰۰۱

به علاوه این کاهش در تعداد سلول‌های +CD8 نیز دیده می‌شود ($p<0/001$)،اما نسبت این سلول‌ها با افزایش معنی‌داری نسبت به قبل از تزریق IVIG همراه است($p<0/001$).

ارتباط بین حجم کلی IVIG تزریق شده و تعداد گلبول‌های سفید به طورمعکوس برآورد گردید ($p<0/05$ و $r=-0/419$). همچنین ارتباط بین سن و در صد سلول‌های CD8 قبل ($R=+0/388$) ($p<0/05$) و بعد از تزریق IVIG به طور مستقیم برآورد شد ($R=+0/507$) ($p<0/05$).

بحث و نتیجه‌گیری

یکی از درمان‌های رایج بیماری ITP، مصرف IVIG می‌باشد که در برخی از مطالعات عوارضی همچون نوتروپنی در مورد آن ذکر گردیده است.ایمونوگلوبولین داخل وریدی علاوه بر ITP در بسیاری از بیماری‌های خود ایمنی و نقص ایمنی کاربرد دارد.[۷و۸]

در مطالعه حاضر که بر روی ۳۲ کودک مبتلا به ITP حاد ومزمن انجام گرفته است، تعداد مطلق نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها پس از تزریق IVIG کاهش معنی‌داری را نسبت به قبل از درمان نشان داد؛ به طوری که نسبت سلول‌های CD4/CD8 یک ساعت پس از تزریق ایمونوگلوبولین داخل وریدی با افزایش معنی‌داری همراه بود و در بیشتر موارد این افزایش به دلیل کاهش معنی‌دار در درصد سلول‌های +CD8 پس از تزریق ایمونوگلوبولین داخل وریدی بود (جداول شماره۲و۳)، ولی درصد سلول‌های +CD4 تغییرات معنی‌داری را نشان نداد.

هرچند یک افزایش ملایم در میانگین درصد این سلول‌ها بعد از تزریق مشاهده شد اما به علت کاهش در تعداد مطلق لنفوسیتی، تعداد مطلق سلول های CD4 و CD8 نیز پس از تزریق ایمونوگلوبولین داخل وریدی با کاهش همراه بود که احتمالاً وجود آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن‌های لنفوسیتی یا القاء اپوپتوز در آن‌ها می‌تواند دلیل این امر باشد.

در بررسی صورت گرفته توسط Berkovitch و همکاران که بر روی ١٤ بیمار ITP انجام شد، کاهش در تعداد مطلق نوتروفیل‌ها پس از تزریق گزارش شده است.[۷] در مطالعه دیگر که توسط Sugita و همکاران بر روی ٤٩ بیمار ITP انجام شد نیز نتایج مشابهی به دست آمد[۸]، اما استفاده از آنتیD چنین کاهش سلولی را به همراه نداشته است.[۹]

حتی در بررسی‌های انجام شده در In vitro نیز استفاده از ایمونوگلوبولین داخل وریدی باعث دگرانولاسیون و القاء اپوپتوز در نوتروفیل‌ها شده

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

است،[۱۰] اما در هیچ کدام از بیماران مشکلات ناشی از عفونت گزارش نشده است.

در مطالعه حاضر نیز در هیچ یک از بیماران متعاقب تزریق IVIG یا چندین روز پس از آن مشکلات عفونی گزارش نشده است. احتمالاً آنتی‌بادی‌های ضد نوتروفیلی یا القاء اپوپتوز در نوتروفیل‌ها دلیل این کاهش باشد. در مورد کاهش تعداد لنفوسیت‌ها نیز در چندین مطالعه در In vitro نشان داده شده که استفاده از ایمونوگلوبولین داخل وریدی می‌تواند باعث القاء پروسه اپوپتوز در لنفوسیت‌ها گردد. همچنین آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن‌های لنفوسیتی در محصول IVIG می‌تواند علت این کاهش باشد.[۱۱]

در مطالعه Macey و همکاران بیماران مبتلا به ITP که تغییرات در زیرگروه لنفوسیتی CD4 و CD8 در آن‌ها روز اول پس از تزریق IVIG مورد مطالعه قرار گرفت، نسبت سلول‌های CD4/CD8 کاهش معنی‌داری را نسبت به قبل از درمان نشان داد که در بیشتر موارد این کاهش به دلیل افزایش درصد سلول‌های +CD8 بوده است. به علاوه در این بیماران تعداد پلاکت‌ها با افزایش همراه بود.[۱۲]

در مطالعه Aukrust که در بیماران مبتلا به نقص ایمنی انجام شده نیز کاهش در نسبت سلول‌های CD4/CD8 ۲۰ ساعت پس از مصرف IVIG از نظر آماری معنی‌دار بوده است.[۱۳] اما در مطالعه Berlana بر روی بیماران مبتلا به هیپوگاماگلوبولینمی بلافاصله پس از تزریق IVIG، تغییراتی در درصد و نسبت سلول‌های CD4/CD8 گزارش نشده است.[۱۴] بنابراین شاید بتوان نتیجه گرفت در کوتاه مدت نسبت این تغییرات یا شدت آن‌ها ممکن است متفاوت با آن چیزی باشد که در بلند مدت مشاهده می‌شود.

در بررسی‌های پروفایل سیتوکینی مشخص شده که بیان TNF-α داخل سلولی پس از تزریق IVIG و آنتی‌D افزایش می‌یابد.[۱۵] به علاوه این سیتوکین قادر است باعث القاء اپوپتوز سلولی گردد.[۱۶] بنابراین ممکن است یکی از مکانیسم‌های ایجادکننده کاهش در درصد سلول‌های +CD8 القاء اپوپتوز در آن‌ها در نتیجه تزریق IVIG و با واسطه سیتوکین‌ها باشد. استفاده از Ig CMV نیز باعث القاء اپوپتوز در سلول‌های +CD8 و NK شده است.

بنابر نتایج حاصل ازاین مطالعه و در مقایسه با داده‌های مطالعات قبلی می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از ایمونوگلوبین وریدی در بیشتر موارد منجر به کاهش تعداد نوتروفیل‌ها شود. البته در مورد تعداد لنفوسیت‌ها، مطالعات در این زمینه کم است. تغییرات ایجاد شده در زیر گروه‌های لنفوسیتی بسته به نوع بیماری یا زمان نمونه‌گیری متعاقب تزریق IVIG تا حدودی متفاوت باشد.

در این پژوهش اثر ایمونوگلوبین یک ساعت پس از اتمام تزریق مورد مطالعه قرار گرفته و به علت وجود محدودیت در دسترسی به بیماران و بستری نبودن آن‌ها در بیمارستان(به علت مشکلات مالی و شهرستانی بودن) قادر به پیگیری آن‌ها و بررسی زمان برگشتن شمارش سلولی به حد نرمال نبوده و فقط در ۱۱ بیمار درصد سلول‌های CD4 و CD8 ۲٤ ساعت پس از تزریق پیگیری شد. شاید بتوان با پیگیری پاسخ به درمان در طولانی مدت،اطلاعات بهتری رااز عملکرد ایمونوگلوبولین در سلول‌های لنفوسیتی به دست آورد.

تقدیر و تشکر

این مقاله در غالب پایان نامه و با بودجه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ایران به انجام رسیده است نویسندگان مقاله از همکاری این معاونت و زحمات خانم بهره‌مند، پرستار محترم درمانگاه خون بیمارستان حضرت علی اصغر(ع) و خانم دکتر تشویقی وهمچنین کارکنان آزمایشگاه این بیمارستان و خانم دکتر حسینی و پرسنل گروه هماتولوژی و مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی ایران کمال سپاسگزاری و تشکر را دارند.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

فهرست منابع

1- Hoffbrand AV, April C, Wayne T, Doug C, James B. Immune thrombocytopenic purpura: pathology in patient with persistent problems. In: Postgraduate hematology. 5th ed. Blackwell publishing; 2005.p. 937-938.

2- Cines DB, Blanchette VS. Immune thrombocytopenic purpura. N Engl J Med; 2002. 346: 995-1006.

3- Watts RG. Idiopathic thrombocytopenic purpura: a 10-year natural history study at the children's hospital of alabama. Clin Pediatr; 2004. 43: 691-702.

4- Bayary J, Dasgupta S, Misra N Ephrem ARl. Intravenous immunoglobulin in autoimmune disorder: An insight into the immunoregulatory mechanisms. Intl Immunopharmacology; 2006. 6(4): 528-34.

5- Prins C, Gelfand EW, French LE. Intravenous immunoglobulin: properties mode of action and practical use in dermatology. Acta Derm Venereol; 2007. 87: 206-18.

6- Orange JS, Hossny EM, Weiler CR, Ballow M, Berger M, Bonilla FA. Use of intravenous immunoglobulin in human disease, allergy, asthma and immunology. J Allergy Clin Immunol; 2006. 117: 525-53.

7- Berkovitch M, Dolinski G, Tauber T, Aladjem M, Kaplinsky C. Neutropenia as a complication of intravenous immunoglobulin in children with immune thrombocytopenic purpura: common and non-alarming. Intl J Immunopharmacol; 1999. 21(6): 411-15.

8- Sugita K, Eguchi M. Suppressive effect of intravenous immunoglobulin on peripheral blood neutrophil count in patient with idiopathic thrombocytopenic purpura. J Pediater Hematol Oncol; 2005. 27: 7-10.

9- Niebanck AE, Kwiatkowski JL, Raffini LJ. Neutropenia following IVIG therapy in pediatric patient with immune-mediated thrombocytopenia. J Pediater Hematol Oncol; 2005. 27: 145-47.

10-Teeling JL, Groot ER, Eerenberg AJ, Bleeker WK, Van Mierlo G, Aarden LA, et al. Human intravenous immunoglobulin preparation degranulate human neutrophil in vivo. Clin Exp Immunol; 1998. 114(2); 264-70.

11- Prasad NK, Papoff G, Zeuner A. Therapeutic preparation of normal polyspecific IgG (IVIG) induce apoptosis in human lymphocyte and monocyte: A novel mechanism of action of IVIG involving the fast apoptotic pathway. J Immunol; 1998. 161: 3781-790.

12- Macey MG, Newland AC. CD4 and CD8 subpopulation change during high dose Intravenous immunoglobulin treatment. British J Hematol; 1990. 76(4): 513-20.

13- Aukrust P, Muller F, Nordoy I. Modulation of lymphocyte and monocyte activity after Intravenous immunoglobulin administration in vivo. Clin Exp Immunol; 1997. 107: 50-56.

14- Berlana D, Vidaller A, Jodar R, Fort E, Domingo A, Pastó L. Change in biochemical, immunoglobulin administration in patient with hypogamaglobulinemia. Transfusion Clin Biolog; 2005. 12: 433-40.

15- Malinowska I, Pludowska AO, Buescher ES, Wasik M, Rokicka-Milewska R. Release of cytokines and soluble cytokine after intravenous anti-D treatment in children with chronic thrombocytopenic purpura. Hematology J; 2001. 2(4): 242-49.

16- Nakatani K, Takeshita S, Tsujmoto H. Intravenous immunoglobulin preparation induce apoptosis in TNF-α-stimulated epithelial cells via a mitochondrial dependent pathway. Clin Exp Immunol; 2002. 127: 445-54.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

Changes in CD4/CD8 Ratio and Absolute Neutrophil Count after Intravenous Immunoglobulin Infusion in Pediatric Patients with Immune Thrombocytopenic Purpura

***Sh. Ansari, MD[I] A. Kazemi, PhD[II] E. Shahabi, MSc[III]**

Abstract

Background : Intravenous immunoglobulin (IVIG) is a plasma derived product. IVIG has been used in treatment of autoimmune, immunodeficiency and infectious diseases. In this study we assessed the effect of intravenous immunoglobulin administration on WBC, neutrophil, lymphocyte and platelet counts as well as the percent of CD4 and CD8 T-cell lymphocytes and number of lymphocytes in pediatric patients with Immune Thrombocytopenic Purpura (ITP).

Methods: In this cross-sectional study, we analyzed blood samples from 32 patients with ITP few minutes before and 1 hour after completion of IVIG infusion. In all patients platelet count, white blood cell count and differential cell count was performed with Sysmex kx-21 before and after IVIG infusion. The following lymphocyte phenotypic markers of CD4 and CD8 lymphocytes were also examined. Statistical analysis was carried out using paired t-test ($p<0.05$). Correlation between age and total volume IVIG infused with variables was analyzed with Pearson coefficient correlation.

Results: Cellular blood count showed significant decrease in leukocyte ($p<0.001$), neutrophil ($p<0.001$) and lymphocyte counts ($p<0.001$) 1 hour after IVIG infusion, but this changes was not significant in regard to the number of platelets ($p=0.377$). CD4/CD8 ratio increased significantly after IVIG infusion ($p<0.001$). Absolute counts of CD4 and CD8 lymphocytes significantly decreased after IVIG treatment ($p<0.001$).

Conclusion: It seems that the IVIG decreases the Absolute Neutrophil Count (ANC) after treatment (without increasing the risk of infection). It can also decrease lymphocyte number. However, changes in the number and percentage of CD4 and CD8 lymphocytes depend on the time of sample collection after IVIG infusion.

Keywords: 1) Intravenous immunoglobulin 2) Idiopathic thrombocytopenic purpura 3) Neutrophil count 4) Lymphocyte

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-03-29]

This article is a summary of the thesis by E. Shahabi for the degree of MSc in Hematology under supervision of Sh. Ansari, MD and consultation with A. Kazemi, Ph.D (2009).

This study has been conducted under the financial support of Iran University of Medical Sciences and Health Services.

*I) Associate Professor of Pediatric Hematology and Oncology, Shariati Str, Zafar Ave, Hazrat-e-Ali Asghar Hospital, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran (*Corresponding Author)*

II) Associate Professor of Hematology, Faculty of Paramedical Sciences, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran

III) MSc in Hematology, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran