[ DOI: 10.30699/acadpub.jru.2.1.1 ]
Downloaded from urology.umsha.ac.ir at 6:48 +0330 on Tuesday November 13th 2018

Journal of Research in Urology
www.urology.umsha.ac.i | Orginal Article

# Efficacy of Bone Marrow Stem-Cell Infusion andSurvival of Renal Transplantation in Non-relative Transplant Recipients

**Hossein Amirzargar[1], Mohamad Ali Amirzargar[2], Marzieh Ebrahimi[3], Hossein Baharvand[4], Abbas Basiri[5], Ghasem Solgi[6], Mahmood Gholyaf[7], Farahnaz Dadras[8], Farhad Khoshjoo[9], Mehdi Hosseini Moghadam[10]**

*1. Assistant Professor, Sina Hospital, Urology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran*
*2. Professor, Urology & Nephrology Researh Center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran*
*3. Associated Professor, Stem Cell Institute, Center for Cell Science Research, Jihad University, Royan Institute, Tehran, Iran*
*4. Professor, Stem Cell Institute, Center for Cell Science Research, Jihad University, Royan Institute, Tehran, Iran*
*5. Professor, Urology and Nephrology Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran*
*6. Associated Professor, Department of Immunology, Faculty of Medicine, Hamedan University of Medical Sciences, Hamadan,Iran*
*7. Associated Professor, Urology & Nephrology Research Center, Hamadan university of Medical Sciences, Hamadan, Iran*
*8. Assistant Professor, Department of Internal Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran*
*9. Assistant Professor, Urology & Nephrology Research Center, Hamadan university of Medical Sciences, Hamadan, Iran*
*10. Assistant Professor, Urology & Nephrology Research Center, Shahid Beheshti university of Medical Sciences, Tehran, Iran*

## *Article Information*

***Article History***
Received: 2017/12/02
Accepted: 2017/12/23
Available online: 2018/01/17

**JUR 2018; 2(1):001-008**

**DOI: 10.30699/acadpub.jru.2.1.1**

**Use your device to scan and read the article online**

**Corresponding Author**
Mohamad Ali Amirzargar, Professor, Urology & Nephrology Researh Center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran.
Tel: 09181117950 **Email:** dr_Amirzargar@yahoo.com

## *Abstract*

**Background and Objective:** The present study investigated the effect of donor stem cells on improving transplant survival and reducing the need to use repressive drugs in patients with kidney transplant.

**Methods:** The clinical trial included two groups of patients. A total of five patients received stem cells prepared from the peripheral blood (18–23 $\times 10^9$ cells/case) four times before and after the transplantation (intervention group). This was in addition to renal transplantation from an unrelated donor. The control group comprised eight patients who received renal transplantation from non-relative recipients. The level of peripheral blood chimerism was determined by the incompatibility of HLA and using a PCR-flow cytometry combined method in the first, third, and twelfth-month after the transplantation.

**Results:** CMV infection was present in 12.5% of patients in the control group whereas 37.5% had urinary tract infection and 12.5% had digestive problems. Five out of eight patients in the control group acutely rejected the transplant in comparison with two out of five patients in the intervention group. Additionally, in each group, a case of exponential rejection was reported. The evaluation of peripheral active chimerism in two patients with stable transplant and normal function showed that peripheral chimerism was detectable up to 3 months after transplantation. No sign of transplant rejection was observed in the presence of chimerism.

**Conclusion:** Injection of donor stem cells can cause peripheral chimerism in kidney transplant recipients. The injection has a direct relation to the improvement of transplant function and increases in its survival.

**Keywords:** kidney transplant, stem cell, chimerism

**How to cite this article:**
Amirzargar H, Amirzargar M A, Ebrahimi M, Baharvand H, Basiri A, Solgi G, et al . Efficacy of Bone Marrow Stem-Cell Infusion and Survival of Renal Transplantation in Non-relative Transplant Recipients . J Res Urol. 2017; 2 (1):1-8

**Copyright © 2017 Iranian Journal of Research in Urology. All rights reserved**

[ DOI: 10.30699/acadpub.jru.2.1.1 ]
Downloaded from urology.umsha.ac.ir at 6:48 +0330 on Tuesday November 13th 2018

زمستان ۱۳۹۶
2018;2(1):001-008
www.urology.umsha.ac.ir
فصلنامهٔ علمی پژوهشی تحقیقات در ارولوژی
مقالهٔ پژوهشی

# اثر تزریق سلول‌های بنیادی خون‌ساز بر عملکرد و بقاء پیوند کلیه در بیماران دریافت‌کنندهٔ پیوند از دهندهٔ غیر خویشاوند

حسین امیرزرگر[۱]، محمدعلی امیرزرگر[۲]، مرضیه ابراهیمی[۳]، حسین بهاروند[۴]، عباس بصیری[۵]، قاسم سلگی[۶]، محمود غلیاف[۷]، فرحناز دادرس[۸]، فرهاد خوشجو[۹]، مهدی حسینی مقدم[۱۰]

۱. استادیار، مرکز تحقیقات ارولوژی اطفال، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۲. استاد، مرکز تحقیقات ارولوژی و نفرولوژی دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
۳. دانشیار، پژوهشکدهٔ سلول‌های بنیادی، مرکز تحقیقات علوم سلولی جهاد دانشگاهی، پژوهشگاه رویان، تهران، ایران
۴. استاد، پژوهشکدهٔ سلول‌های بنیادی، مرکز تحقیقات علوم سلولی جهاد دانشگاهی، پژوهشگاه رویان، تهران، ایران
۵. استاد، مرکز تحقیقات ارولوژی و نفرولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۶. دانشیار،گروه آموزشی ایمونولوژی، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
۷. دانشیار،مرکز تحقیقات ارولوژی و نفرولوژی دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
۸. استادیار،گروه آموزشی داخلی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
۹. استادیار،مرکز تحقیقات ارولوژی و نفرولوژی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
۱۰. استادیار،مرکز تحقیقات ارولوژی و نفرولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

## اطلاعات مقاله

**تاریخچهٔ مقاله**
**دریافت:** ۱۳۹۶/۰۹/۱۱
**پذیرش:** ۱۳۹۶/۱۰/۰۲
**انتشار آنلاین:** ۱۳۹۶/۱۰/۲۷

**JUR 2018; 2(1):001-008**

برای دانلود این مقاله، کد زیر را با موبایل خود اسکن کنید.

## چکیده

**زمینه و هدف:** هدف از مطالعهٔ پیش رو، ارزیابی تأثیر سلول‌های بنیادیِ دهنده بر بهبود بقای پیوند و کاهش نیاز به مصرف داروهای سرکوبگر ایمنی در بیماران پیوند کلیه است.

**مواد و روش‌ها:** در این کارآزمایی بالینی دو گروه بیمار وارد مطالعه شدند؛ بدین‌صورت که تعداد ۵ بیمار افزون بر پیوند کلیه از دهندهٔ غیر خویشاوند (Living Unrelated Donor)، هم‌زمان سلول‌های بنیادی تهیه‌شده از خون محیطی دهنده ($۱۸-۲۳ \times ۱۰^{۹}$ cells/case) را در چهار نوبت، پیش و پس از پیوند دریافت کردند (گروه مداخله)؛ و تعداد ۸ بیمار فقط پیوند کلیه را از دهندهٔ غیر خویشاوند دریافت کردند (گروه کنترل). میزان کایمریسم در خون محیطی، براساس تطابق نداشتنِ HLA و به روش تلفیقی PCR-flowcytometry در ماه‌های اول، سوم و دوازدهم پس از پیوند مشخص شد.

**یافته‌ها:** ۱۲/۵٪ بیماران در گروه کنترل، عفونت CMV و ۳۷/۵٪ عفونت ادراری، داشتند و ۱۲/۵٪ دچار مشکلات گوارشی شدند. ۵ مورد از ۸ بیمار گروه کنترل (۶۲/۵٪) در مقایسه با ۲ بیمار از ۵ موردِ گروه مداخله، حملات ردِ حادِ پیوند را نشان دادند. افزون بر این، در هر گروه تعداد یک مورد ردِ تسریع‌یافته گزارش شد. ارزیابی کایمریسم فعال محیطی در دو بیمار با پیوند پایدار و با عملکرد نرمال نشان داد که تا سه ماه پس از پیوند، کایمریسم محیطی قابل تشخیص بوده و در حضور کایمریسم هیچ‌گونه علائمی از حملات رد پیوند گزارش نگردید.

**نتیجه‌گیری:** تزریق سلول‌های بنیادیِ دهنده، می‌تواند در گیرندهٔ پیوند کلیه، کایمریسم محیطی ایجاد کند و این تزریق با بهبود عملکرد پیوند و افزایش بقای آن ارتباط مستقیم دارد.

**کلمات کلیدی:** پیوند کلیه، سلول بنیادی، کایمریسم

**نویسندهٔ مسئول:** دکتر محمد علی امیرزرگر، استاد، مرکز تحقیقات ارولوژی و نفرولوژی دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.
تلفن: ۰۹۱۸۱۱۱۷۹۵۰ ایمیل: dr_Amirzargar@yahoo.com

[ DOI: 10.30699/acadpub.jru.2.1.1 ]
Downloaded from urology.umsha.ac.ir at 6:48 +0330 on Tuesday November 13th 2018

## مقدمه

هدف اصلی تزریق سلول‌های بنیادی در گیرندهٔ پیوند عضو (مثلِ پیوند کلیه)، القاء تلورانس اختصاصی نسبت به عضو پیوندی در بدن گیرنده است که به دنبال آن بیمار نیاز به مصرف طولانی‌مدت داروهای سرکوبگر ایمنی نداشته باشد. نخستین بار در سال ۱۹۶۶م نشان داده شده که تزریق سلول‌های بنیادی مغز استخوانِ دهنده، هم‌زمان با پیوند عضو، می‌تواند پدیده‌ای به نام «کایمریسم ژنتیکی» در بدن گیرنده ایجاد کند که می‌تواند منجر به بقاء بیشتر پیوند و عملکرد بهتر آن شود [۱، ۲].

متعاقباً و با استفاده از مدل‌های حیوانی، مشخص شد که سلول‌های دندریتیک (لکوسیت مسافر) از بافت کلیهٔ پیوندی به‌سرعت خارج می‌شود و به بافت‌های لنفی گیرندهٔ پیوند، نظیر طحال و تیموس و سپس به دیگر بافت‌های محیطی (ظرف چند هفته) مهاجرت می‌کند. این مهاجرتِ سلول‌ها که در حضور داروهای سرکوب‌گر سیستم ایمنی صورت می‌گیرد، منجر به کایمریسم می‌شود. این فرایند که درنهایت باعث ایجاد تولرانس نسبی در برابر کلیهٔ پیوندی می‌شود، به این دلیل است که تعدادی از لکوسیت‌های مسافر در اصل سلول‌های بنیادی‌ای هستند که پس از تمایز، سلول‌های ایمنی و با منشأ دهندهٔ عضو ایجاد می‌کنند و این سلول‌ها به‌طور طبیعی علیه عضو پیوندی از همان دهنده واکنشی نشان نمی‌دهند [۳، ۴].

فرضیهٔ کایمریسم بر این واقعیت مبتنی است که «بعد از پیوند عضو، یک واکنش دوطرفه بین دهنده و گیرنده ایجاد می‌شود که در صورت متعادل شدن این واکنش دوطرفه، سیستم ایمنیِ گیرنده نمی‌تواند باعث رد پیوند شده و سلول‌های ایمنی دهنده نیز نمی‌توانند واکنش GVHD را ایجاد کنند» [۵، ۸].

همهٔ انواع کایمریسم، از جمله میکروکایمریسم (Microchimerism)، کایمریسم مختلط (Mixed Chimerism) و کایمریسم کامل (Full Chimerism) می‌توانند باعث تلورانس شوند و بدین طریق از رد حاد و مزمن پیوند جلوگیری کنند. بر این اساس، مکانیزم‌های مطرح‌شده برای بقاء پیوند عضو، به دنبال تزریق سلول‌های بنیادیِ دهنده (هم‌زمان با پیوند عضو) عبارت‌اند از: القاء آلرژی، ریزش آنتی‌ژن‌های HLA (sHLA) با منشأ دهنده، حذف کلونال سلول‌های T، القاء سلول‌های T تنظیمی با فعالیت خاص (Veto Cells)، تنظیم بیان مولکول‌های سطحی، تنظیم تولید سایتوکاین‌ها و تقویت میکروکایمریسم و آنتی‌ژن‌های محلول HLA دهنده در بدن گیرندهٔ پیوند.

اگرچه در بسیاری از بیماران پیوندی که تحمل به پیوند را نشان می‌دهند، میکروکایمریسم تشخیص دادنی است؛ بااین‌وجود مکانیزم کایمریسم برای القاء و حفظ دقیق تولرانس هنوز مشخص نیست [۱۱]. لذا هدف از مطالعهٔ حاضر ارزیابی تأثیر سلول‌های بنیادیِ دهنده بر بهبود بقای پیوند و کاهش نیاز به مصرف داروهای سرکوبگر ایمنی در بیماران پیوند کلیه است. افزون بر این، تأثیر این تزریق بر میزان بروز ردِ حاد و مزمن پیوند در بیماران، ارزیابی شده است.

## روش بررسی

### نمونه گیری و جمع آوری گروه مطالعه

در این کارآزمایی بالینی دو گروه بیمار وارد مطالعه شدند؛ بدین‌صورت که تعداد ۵ بیمار علاوه بر پیوند کلیه از دهندهٔ غیرخویشاوند (Living Unrelated Donor)، هم‌زمان سلول‌های بنیادی تهیه‌شده از خون محیطیِ دهنده را نیز دریافت کردند (گروه مداخله)؛ گروه دوم متشکل از ۸ بیمار است که فقط پیوند کلیه را از دهندهٔ غیر خویشاوند دریافت کردند (گروه کنترل). معیارهای ورود اصلی برای دهنده‌های پیوند عبارت بودند از: شرط سنی بین ۲۰ تا ۵۰ سال؛ دادن رضایت کتبی و آگاهانه برای ورود به مطالعه؛ نداشتن هرگونه واکنش زیان‌آور نسبت به تزریق G-CSF (عارضهٔ جانبی مثل تب و درد مفاصل). معیارهای ورود اصلی بیماران نیز، شرط سنی بین ۲۰ تا ۵۰ سال، وضعیت قلبی ـ ریوی سالم و طبیعی، نبودِ اختلالات ایمونولوژیک یا هرگونه نقص ایمنی در نظر گرفته شد. بیماران با هرگونه واکنش حاد ایمونولوژیک، واجد آنتی‌بادی در سرم و واکنش ایمونولوژیک نامناسب به دنبال تزریق سلول از مطالعه خارج شدند.

برای بیماران مزایا و معایب این روش و هدف مطالعه به‌طور دقیق شرح داده و حقوقشان در این مطالعه توضیح داده شد. پس از ارزیابیِ تمام بیماران و دهندگان، رضایت‌نامه

[ DOI: 10.30699/acadpub.jru.2.1.1 ]
Downloaded from urology.umsha.ac.ir at 6:48 +0330 on Tuesday November 13th 2018



آگاهانه مطابق با مصوبهٔ کمیتهٔ اخلاق دانشگاه علوم پزشکی همدان، برای انجام این آزمایش اخذ گردید.

معاینهٔ فیزیکی، ارزیابی روانی ـ اجتماعی، غربالگری آزمایشگاهی (شامل تعیین HLA بیماران و دهنده‌های آن‌ها)، انجام تست کراس مچ لکوسیتی، تعیین گروه خون، بررسی سرولوژیک عفونت‌های ویروسی هپاتیت B و C و HIV و CMV، تست تحمل گلوکز برای بیماران دیابتی، آزمایش ادرار و کشت ادرار، رادیوگرافی قفسهٔ سینه، آنژیوگرافی کلیه، سونوگرافی مجاری ادراری و درنهایت تکرار تست کراس مچ پیش از پیوند، مجموعه آزمایشات انجام گرفته بر روی گروه‌های مطالعه بود.

## تهیه و آماده‌سازی سلول‌های بنیادی از خون محیطی برای تزریق

سلول‌های بنیادی با تزریق فاکتور محرک رشد گرانولوسیتی (G-CSF)، از مغز استخوان به داخل جریان خون محیطی وارد می‌شوند. در این روش مقدار ۴۵۰ میکروگرم از G-CSF به‌صورت زیرجلدی و به مدت ۴ روز پی‌درپی به افراد دهندهٔ پیوند در گروه مداخله تزریق شد. به دنبال این تزریق‌ها، تکثیر سلول‌های بنیادی در مغز استخوان افزایش می‌یابد؛ سپس به داخل جریان خون مهاجرت می‌کنند. در روز پنجم، با آزمایش CBC و تأیید افزایش تعداد سلول‌های خونی، جداسازی سلول‌های لکوسیتی (لکوفرزیس) از خون محیطی، با استفاده از دستگاه جداکنندهٔ سلولی Cobe Spectra انجام شد. طی فرآیند لکوفرزیس، گلبول‌های سفید خون به کیسه‌ای استریل و مخصوص هدایت شدند. سپس روی این نمونه، تعیین درصد سلول‌های واجد مارکرهای CD34، CD45، CD56، CD14 و CD3 با استفاده از روش‌های فلوسایتومتری صورت گرفت. در کل، به‌طور متوسط تعداد $۱۰^{۹}$ × ۲۳-۱۸ سلول بنیادی از هر فرد جدا شد و به چهار کیسهٔ استریل مخصوص انتقال یافت. دو کیسه به‌صورت تازه و پیش از پیوند عضو در روزهای ۳- و ۷- تزریق شد و دو کیسهٔ دیگر به تانک ازت منتقل شد و تا زمان تزریق در روزهای ۱۴ و ۳۰ پس از پیوند در دمای ۸۰- درجهٔ سلسیوس نگهداری شد.

## روش تزریق سلول‌های بنیادی

در نخستین تزریق، سلول‌های بنیادی تهیه‌شده از دهنده به داخل ورید پورت کبد و به روش لاپاراسکوپی به بیمار تزریق شد. تزریق‌های بعدی (نوبت دوم، سوم و چهارم) همگی از طریق خون محیطی و به‌صورت سیستمیک انجام شد. سرعت تزریق سلول‌ها در همهٔ نوبت‌ها به میزان یک میلی‌لیتر محلول سلولی در فاصلهٔ ۸-۶ دقیقه بود. لازم به ذکر است که پیش از هر بار تزریق، مجدداً تست کراس مچ لکوسیتی بین دهنده و گیرنده، به‌منظور اطمینان از تولید نشدن آنتی‌بادی توسط بیمار انجام می‌شد.

## پروتکل جراحی

برای انجام نفروکتومی به روش نفروکتومی از طریق پهلو و خارج شکمی با برش Sub/Supracostal ،کلیهٔ چپ به دلیل ورید طولانی‌تر، نبودنِ کبد در این ناحیه و دسترسی راحت‌تر، برای نفروکتومی انتخاب شد. پیش از انجام نفروکتومی، مقدار ۲۵ گرم مانیتول برای کاهش آسیب کلیوی تزریق شد و در موارد همراه با اسپاسم شریانی، محلول پاپاورین به کار رفت. سپس پیوند کلیه و مراقبت‌های حمایتی پس از جراحی برای گیرنده‌ها طبق پروتکل استاندارد انجام شد.

## رژیم دارویی (Immunosuppressive drugs) برای بیماران:

برای هر دو گروه بیماران مقدار ۱/۶ mg/kg سیکلوسپورین A به مدت سه ماه تجویز شد. پس از ایجاد کایمریسم، میزان داروی سیکلوسپورین کاهش داده شد (تا ۳ mg/kg) در روز و پس از آن سطح سرمی دارو در حد ۱۰۰-۵۰ mg/mL نگه‌داشته شد. پردنیزولون به میزان ۰/۵mg/kg در روز و به مدت سه ماه تجویز شد. سپس میزان آن به ۰/۲ mg/kg در روز ظرف مدت ۶ ماه پس از پیوند کاهش یافت. مایکوفنولات مفتیل (MMF) نیز به‌میزان gr/ ۱12h تجویز شد و در صورت مشاهدهٔ عوارض جانبی (لکوپنی و سمیت گوارشی)، دوز آن تا ۵۰ درصد کاهش یافت.

## آزمایش‌های پس از پیوند برای پیگیری بیماران

سطح سرمی اوره، کراتینین، سدیم، پتاسیم، منیزیم، تری گلیسرید و LDH به‌صورت روزانه اندازه‌گیری شدند. همچنین میزان کایمریسم در خون محیطی براساس عدم تطابق HLA و به روش تلفیقی PCR-flowcytometry مشخص شد؛ بدین‌صورت که نمونهٔ خون محیطی در ماه‌های اول، سوم و دوازدهم از بیماران گرفته شد؛ سپس روی نمونهٔ خون محیطی

[ DOI: 10.30699/acadpub.jru.2.1.1 ]
Downloaded from urology.umsha.ac.ir at 6:48 +0330 on Tuesday November 13th 2018

و طبق پروتکل تأییدشدهٔ Morales و همکاران حضور سلول‌های دهنده در خون محیطی گیرنده (کایمریسم فعال محیطی) ارزیابی شد [۱۲]. در این روش ابتدا تکثیر ژن‌های HLA (مربوط به دهنده) در داخل سلول و به‌صورت PCR In Situ با پرایمرهای نشان‌دار شده با رنگ فلورسانس انجام می‌شود؛ سپس در مرحلهٔ بعد، سلول‌های مذکور با آنتی‌بادی‌های نشان‌دار شده با رنگ فلورساانس ضد CD3 و CD34 رنگ‌آمیزی و با دستگاه فلوسایتومتری، درصد سلول‌های دنوری در خون محیطی بیمار تعیین گردید [۱۲].

## یافته ها

در گروه مداخله، تعداد ۵ بیمار، سلول‌های بنیادی تهیه‌شده از دهندهٔ مربوطه را در چهار نوبت (دو نوبت پیش از پیوند و دو نوبت پس از پیوند) دریافت کردند، درحالی‌که گروه کنترل (تعداد ۸ بیمار) فقط پیوند کلیه را بدون تزریق سلول دریافت کردند. جدول شمارهٔ ۱ مشخصات کلینیکی و یافته‌های بالینی بیماران پس از پیوند را در هر دو گروه نشان داده است. به‌طورکلی ۱۲/۵٪ بیماران در گروه کنترل عفونت CMV و ۳۷/۵٪ عفونت ادراری گرفتند و ۱۲/۵٪ دچار مشکلات گوارشی شدند. درحالی‌که در گروه مداخله هیچ‌گونه عارضهٔ جانبی خطرناکی پس از پیوند دیده نشد.

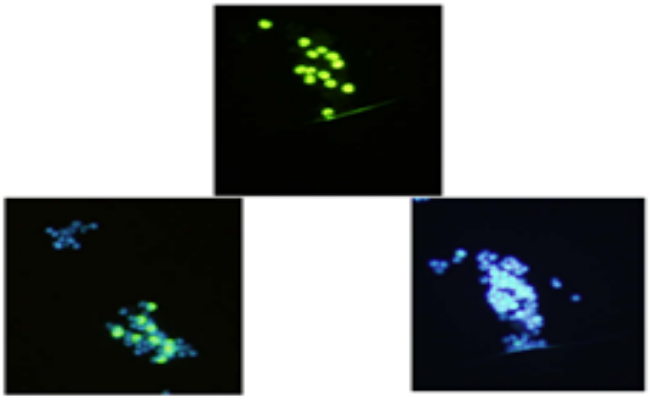
۵ مورد از ۸ بیمار گروه کنترل حملات رد حاد پیوند را نشان دادند (۶۲,۵ درصد)، درحالی‌که در گروه مداخله تعداد ۲ بیمار از ۵ مورد دچار رد حاد پیوند شدند. افزون بر این، در هر گروه تعداد یک مورد رد تسریع‌یافته گزارش شد. ارزیابی کایمریسم فعال محیطی در دو بیمار با پیوند پایدار و با عملکرد نرمال نشان می‌دهد که تا سه ماه پس از پیوند، کایمریسم محیطی تشخیص دادنی است و در حضور کایمریسم هیچ‌گونه علائمی از حملات رد پیوند دیده نشد. در طرف مقابل، دو بیمار دیگر که شواهدی از رد پیوند را نشان دادند، بدون کایمریسم محیطی بودند (شکل ۱ و ۲).

جدول ۱. مشخصات دموگرافیک و یافته‌های کلینیکی در هر دو گروه بیماران

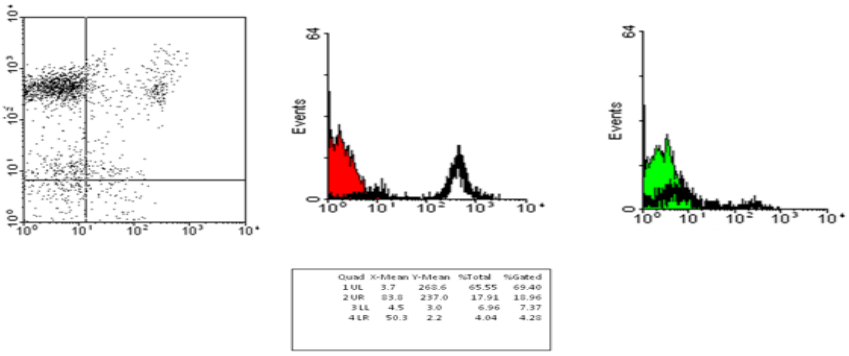
| No | Age | Sex | BG | Primary diagnosis | Disease duration | CMV test | GI problems | UTI | Acute rejection episodes | Cause of rejection | Accelerated rejection |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | **Group A** | | | | | | | | | |
| 1 | 48 | M | O+ | ESRD | | - | - | - | - | - | - |
| 2 | 26 | M | O+ | ESRD | 6 months | + | + | - | + | CMV infection | - |
| 3 | 18 | M | O+ | ESRD | 3 years | - | - | + | + | UTI | - |
| 4 | 27 | F | O+ | ESRD | 5 years | - | - | - | + | Drugs discontinuation | - |
| 5 | 36 | F | B+ | ESRD | 4 years | - | - | + | + | UTI | - |
| 6 | 31 | M | B+ | ESRD | | - | - | - | - | - | - |
| 7 | 37 | M | O+ | Diabetes | | - | - | - | - | - | - |
| 8 | 27 | F | O- | ESRD | 4 years | - | - | + | + | UTI | + |
| | | **Group B** | | | | | | | | | |
| 1 | 35 | F | B+ | ESRD | 2 years | - | - | - | - | - | - |
| 2 | 42 | M | O+ | ESRD | 1.5 years | - | - | - | + | Drugs discontinuation | - |
| 3 | | | A+ | | | - | - | - | + | Unknown | + |
| 4 | 48 | F | A- | ESRD | 6 years | - | - | - | - | - | - |
| 5 | | | O+ | ESRD | 1 years | - | - | - | - | - | - |

[ DOI: 10.30699/acadpub.jru.2.1.1 ]
Downloaded from urology.umsha.ac.ir at 6:48 +0330 on Tuesday November 13th 2018





شکل ۱. شناسایی سلول‌های کایمر (با منشأ دهنده) پس از پیوند در نمونهٔ خون به روش In situ PCR




شکل ۲. تعیین درصد سلول‌های کایمر (کایمریسم محیطی) به روش PCR- Flow cytometry

## بحث و نتیجه گیری

یکی از اهداف اصلی در ایمونولوژی پیوند، بهبود بقاء پیوند بدون نیاز به مصرف داروهای سرکوبگر ایمنی در گیرنده‌های پیوند است ؟. امروزه برای دستیابی به این هدف مهم، استراتژی‌های متعددی بر مبنای تزریق سلول‌های بنیادی به کار گرفته می‌شوند. پیشنهاد شده است که در همهٔ این پروتکل‌های مبتنی بر تزریق سلول‌های بنیادی، حضور سلول‌های دهنده حتی در میزان کم (میکروکایمریسم) در خون محیطی بیمار می‌تواند منجر به افزایش بقای پیوند شود. همچنین مطرح شده است که واکنش‌های سلول‌های ایمنی بیمار با سلول‌های ایمنی دهنده (سلول‌های کایمریک) در بدن بیمار پیوندی برای حفظ بقای پیوند لازم است ؟.

مطالعهٔ حاضر براساس این شواهد و فرضیه‌ها طراحی و انجام شد؛ بدین‌صورت که سلول‌های بنیادیِ دهنده با تزریق زیرجلدی و متوالی G-CSF (به مدت ۴ روز) وارد خون محیطی شدند و پس از جداسازی و تخلیص، در چهار نوبت (دو نوبت پیش و دو نوبت پس از پیوند) به گیرندهٔ پیوند کلیه تزریق شدند. سپس نتایج پیوند و پیگیری کوتاه‌مدت و بلندمدت (۶ سالهٔ) این بیماران با نتایج پیوند گروه کنترل مقایسه شدکه فقط پیوند کلیه دریافت کرده بودند. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان بروز حملات رد حاد پیوند، بروز عفونت CMV، عفونت ادراری و مشکلات گوارشی، در گروه مداخله کمتر از گروه کنترل بود (جدول ۱). همچنین آن دسته از بیماران، با پیوند پایدار و بدون حملات رد پیوند، به‌خوبی کایمریسم فعال محیطی را تا سه ماه نشان دادند؛ درحالی‌که بیماران باسابقهٔ حملات رد پیوند، فاقد این کایمریسم بودند.

همسو با نتایج این مطالعه، Carsia- Modres و همکارانش نشان دادند که سلول‌های کایمریک ۱ تا ۶ ماه پس از پیوند تشخیص دادنی هستند و آن گروه از بیماران که دو بار تزریق سلول‌های مغز استخوان دهنده را داشتند (پیوند از دهندهٔ جسد صورت گرفته بود)، در مقایسه با یک‌بار تزریق،

[ DOI: 10.30699/acadpub.jru.2.1.1 ]
Downloaded from urology.umsha.ac.ir at 6:48 +0330 on Tuesday November 13th 2018



میزان کایمریسم محیطی بیشتری را نشان دادند. ضمن اینکه حضور این کایمریسم در نمونهٔ مغز استخوان بیماران بیشتر از نمونهٔ خون محیطی بود و در دسته‌ای که بین دهنده و گیرنده تطابق HLA وجود داشت، میزان بالاتر کایمرسیم کاملاً مشهود بود [۲]. در مطالعهٔ دیگری توسط همین گروه ، مشخص شد که میزان کایمریسم در فاصلهٔ زمانی ۶ ماه و یک سال پس از پیوند، در حد کمتر از یک درصد (سلول‌های $CD34^+$ و $CD3^+$ دنوری) در خون محیطی وجود دارد و این میزان در نمونهٔ مغز استخوان بیماران با افزایش ۱۰ برابری دیده شد [۱۳]. باید توجه کرد که بیمارانِ با سابقهٔ رد حاد پیوند در مقایسه با بیمارانی که پیوند پایدار داشتند، به میزان چشمگیری کاهش کایمریسم در خون محیطی داشتند. همچنین میزان کایمریسم، رابطهٔ مستقیمی با میزان تطابق در آلل‌های HLA کلاس دو بین بیمار و دهنده داشت.

در مطالعهٔ مشابه Cianeio و همکاران یافته‌های مشابهی دربارهٔ میزان کایمریسم و ارتباط آن با بقاء و عملکرد پیوند گزارش شد [۱۴]. گفتنی است که در این تحقیق، پس از ۱/۵ سال پیگیری بیماران، دوز داروهای سرکوبگر ایمنی بین دو گروه تفاوت معنی‌داری نداشت. ضمن اینکه مطالعات مشابه هم، با مدت‌زمان پیگیری طولانی‌تر، این تفاوت دوز دارو را مشاهده کرده‌اند [۱۵-۱۹] و در مطالعات دیگر، پس از دو تا سه سال از زمان پیوند، امکان کاهش دوز داروهای سرکوبگر ایمنی در گروه مداخله فراهم شد [۲۰-۲۳].

به‌طورکلی تزریق سلول‌های بنیادی مغز استخوانِ دهنده (با دوز متوسط $۳/۳-۵/۵ \times ۱۰^۸$ cells/ kg) در چهار نوبت، پیش و پس از پیوند، قادر به ایجاد کایمریسم بود. در این مطالعه هیچ‌گونه درمان دارویی القاءکننده ( Induction Therapy) یا داروهای سرکوبگر (افزون بر داروهای معمول پیوند) استفاده نشد. پس از شش سال پیگیری دو بیمارِ در دسترس در گروه مداخله، هیچ‌گونه شواهدی از بروز حملات رد حاد دیده نشد و دریافت دوز داروهای سرگوب‌گر سیستم ایمنی در این دو بیمار کاهش یافته است؛ به‌صورتی‌که روزانه ۵۰ میلی‌گرم سیکوسپورین، ۵ میلی‌گرم پردنیزولون و ۵۰۰ میلی‌گرم داروی Cellcept دریافت می‌کردند.

تزریق اول سلول‌ها از طریق ورید پورت کبد باعث کاهش پاسخ ایمنی گیرنده و نیز بروز نکردنِ GVHD شد. درواقع لکوسیت‌های دنوری قادر به تأثیرگذاری بر سیستم ایمنی گیرنده شدند و پاسخ آلوریکتیو علیه عضو پیوندی را تا اندازه‌ای تحت تأثیر قرار دادند. گفتنی است برای دستیابی به نتایج قطعی در این زمینه، مطالعات مشابه با تعداد نمونهٔ بیشتر و مدت‌زمان پیگیری طولانی‌تر کاملاً ضروری به نظر می‌رسد.

## تعارض منافع

بین نویسندگان، هیچگونه تعارض منافعی وجود ندارد

## References

1. Monaco AP, Liegeois A, Wood ML, Clark AW. Active enhancement of tissue allografts with antilymphocyte serum and bone marrow. Adv Nephrol Necker Hosp. 1975;5:135-72. PMID: 242206
2. Monaco AP, Wood ML, Maki T, Gozzo JJ, DeFazio S. The use of donor-specific antigen for the induction of immunologic unresponsiveness to experimental and clinical allografts. Transplant Proc. 1988;20(1 Suppl 1):122-30. PMID: 3279606
3. Elwood ET, Larsen CP, Maurer DH, Routenberg KL, Neylan JF, Whelchel JD, et al. Microchimerism and rejection in clinical transplantation. Lancet. 1997;349(9062):1358-60. PMID: 9149698
4. Ciancio G, Garcia-Morales R, Mathew J, Carreno M, Burke GW, Ricordi C, et al. Donor bone marrow infusions are tolerogenic in human renal transplantation. Transplant Proc. 2001;33(1-2):1295-6. PMID: 11267299
5. Siemionow M, Nasir S. Chimerism and bone marrow based therapies in transplantation. Microsurgery. 2007;27(5):510-21. ttps://doi.org/10.1002/micr.20395. PMID:17596895
6. Starzl TE, Demetris AJ, Trucco M, Zeevi A, Ramos H, Terasaki P, et al. Chimerism and donor-specific nonreactivity 27 to 29 years after kidney allotransplantation. Transplantation. 1993;55(6):1272-7. PMC2953386.

[ DOI: 10.30699/acadpub.jru.2.1.1 ]
Downloaded from urology.umsha.ac.ir at 6:48 +0330 on Tuesday November 13th 2018

7. Bluth MH, Reid ME, Manny N. Chimerism in the immunohematology laboratory in the molecular biology era. Transfus Med Rev. 2007;21(2):134-46. https://doi.org/10.1016/j.tmrv.2006.11.002. PMID:17397763
8. Mengel M, Jonigk D, Wilkens L, Radermacher J, von Wasielewski R, Lehmann U, et al. Chimerism of metanephric adenoma but not of carcinoma in kidney transplants. Am J Pathol. 2004;165(6):2079-85. ttps://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63258-0. PMC1618722.
9. De Pauw L, Abramowicz D, Donckier V, Kornreich A, Destrée M, Demoor F et al. Isolation and infusion of donor CD34+ bone marrow cells in cadaver kidney transplantation. Nephrol Dial Transplant. 1998;13(1):34–6. https://doi.org/10.1093/ndt/13.1.34 PMID:9481712
10. Yasumoto A, Yamada K, Sablinski T, LeGuern C, Sykes M, Sachs DH. Mechanism of tolerance following class II gene transduction of autologous swine bone marrow. Transplant Proc. 1997;29(1-2):1132. https://doi.org/10.1016/S0041-1345(96)00466-6 PMID:9123233
11. Brennan DC, Mohanakumar T, Flye MW. Donor-specific transfusion and donor bone marrow infusion in renal transplantation tolerance: a review of efficacy and mechanisms. Am J Kidney Dis. 1995;26(5):701–15. https://doi.org/10.1016/0272-6386(95)90432-8 PMID:7485121
12. Garcia-Morales R, Carreno M, Mathew J, Cirocco R, Zucker K, Ciancio G et al. Continuing observations on the regulatory effects of donor-specific bone marrow cell infusions and chimerism in kidney transplant recipients. Transplantation. 1998 ;65(7):956–65. https://doi.org/10.1097/00007890-199804150-00016 PMID:9565101
13. Garcia-Morales R, Carreno M, Mathew J, Zucker K, Cirocco R, Ciancio G et al. The effects of chimeric cells following donor bone marrow infusions as detected by PCR-flow assays in kidney transplant recipients. J Clin Invest. 1997;99(5):1118–29. https://doi.org/10.1172/JCI119240 PMID:9062371
14. Ciancio G, Burke GW, Garcia-Morales R, Suzart K, Rosen A, Ricordi C et al. Effect of living-related donor bone marrow infusion on chimerism and in vitro immunoregulatory activity in kidney transplant recipients. Transplantation. 2002;74(4):488–96. https://doi.org/10.1097/00007890-200208270-00010 PMID:12352907
15. Barber WH, Mankin JA, Laskow DA, Deierhoi MH, Julian BA, Curtis JJ et al. Long-term results of a controlled prospective study with transfusion of donor-specific bone marrow in 57 cadaveric renal allograft recipients. Transplantation. 1991;51(1):70–5.https://doi.org/10.1097/00007890-199101000 00011 PMID:1987708
16. Mathew JM, Garcia-Morales RO, Carreno M, Jin Y, Fuller L, Blomberg B et al. Immune responses and their regulation by donor bone marrow cells in clinical organ transplantation. Transpl Immunol. 2003 Jul-Sep;11(3-4):307–21. https://doi.org/10.1016/S0966-3274(03)00056-X PMID:12967784
17. Garcia-Morales R, Esquenazi V, Zucker K, Gomez CI, Fuller L, Carreno M et al. An assessment of the effects of cadaver donor bone marrow on kidney allograft recipient blood cell chimerism by a novel technique combining PCR and flow cytometry. Transplantation. 1996;62(8):1149–60. https://doi.org/10.1097/00007890-199610270-00021 PMID:8900317
18. Trivedi H, Shah V, Shah P, Darji P, Sane A, Vanikar A et al. High dose DBMC associated tolerance in live-related renal allograft recipients. Transplant Proc. 2000;32(7):2001–2. https://doi.org/10.1016/S0041-1345(00)01531-1 PMID:11120039
19. Trivedi H, Vanikar A, Shah V, Mehta A, Shah S, Shah T et al. Mega dose unfractionated donor bone marrow-derived cell infusion in thymus and periphery-an integrated clinical approach for tolerance in living related renal allografts. Transplant Proc. 2003;35(1):203–6. https://doi.org/10.1016 /S0041-1345(02)03901-5 PMID:12591366
20. Trivedi HL, Shah VR, Shah PR, Sane AS, Vanikar AV, Trivedi VB et al. Megadose approach to DBMC infusion-induced allograft hyporesponsiveness in living-related renal allograft recipients. Transplant Proc. 2001;33(1-2):71–6. https://doi.org/10.1016/S0041-1345(00)02787-1 PMID:11266709
21. Trivedi HL, Shah VR, Vanikar AV, Gera D, Shah PR, Trivedi VB et al. High-dose peripheral blood stem cell infusion: a strategy to induce donor-specific hyporesponsiveness to allografts in pediatric renal transplant recipients. Pediatr Transplant. 2002 ;6(1):63–8. https://doi.org/10.1034/j.1399-3046.2002.1o043.x PMID:11906645
22. Trivedi HL, Vanikar AV, Modi PR, Shah VR, Vakil JM, Trivedi VB et al. Allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation, mixed chimerism, and tolerance in living related donor renal allograft recipients. Transplant Proc. 2005;37(2):737–42. https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2005.01.028 PMID:15848518
23. Trivedi HL, Vanikar AV, Vakil JM, Shah VR, Modi PR, Trivedi VB. A strategy to achieve donor-specific hyporesponsiveness in cadaver renal allograft recipients by donor haematopoietic stem cell transplantation into the thymus and periphery. Nephrol Dial Transplant. 2004;19(9):2374–7. https://doi.org/10.1093/ndt/gfh274 PMID:15299099