

# پیوند خون بند ناف

دکتر جمشید نارنج کار، دکتر فاطمه هدایی، دکتر سارا بهرامزاده  
گروه فارماکولوژی دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد

## چکیده

جلب کرد. به دلیل تاثیر درمانی مطلوب، از سال ۱۹۸۸ تا ۲۰۰۰، ۷۰۰ مورد پیوند خون بند ناف (UCBT)<sup>۲</sup> موفق صورت گرفته است، سهولت جمع آوری، قابلیت نگهداری برای مدت طولانی، آماده مصرف بودن در هر زمان (در صورت وجود بانک خون بند ناف)، عدم نیاز به یکسان بودن HLA، افزایش احتمال پیوند غیر خویشاوندی، همچنین عدم ایجاد مشکل برای مادر و نوزاد، عدم نیاز به بیهوشی، عدم احساس ناراحتی در اهداکننده، کاهش خطر انتقال عفونت‌ها برای گیرنده، تحمل ایمونولوژیک زیاد

پیوند مغز استخوان<sup>۱</sup> (BMT) درمان رایج بیماری‌هایی مثل هموگلوبینوپاتی، نارسایی مغز استخوان، لوسمی، نقص ایمنی و اختلالات بدخیم هماتولوژیک می‌باشد. این روش درمانی دارای محدودیت‌هایی از قبیل مشکل یافتن افراد با HLA یکسان، پیچیدگی روش تهیه نمونه مغز استخوان و احتمال آسیب به اهداکننده می‌باشد. با توجه به محدودیت‌های فوق و به دنبال یافتن جایگزینی مناسب، خون بند ناف به دلیل دارا بودن شمار زیادی stem cell توجه پژوهشگران را به خود

لنفوسیت‌های خون بند ناف (به دلیل نابالغ بودن) و در نتیجه کاهش بروز GVHD (graft versus host disease) از جمله مزیت‌هایی است که UCBT در مقایسه با BMT دارد. با توجه به مزایای فوق و کاربرد روزافزون UCBT در جهان استفاده گسترده از این روش و ایجاد بانک خون بند ناف در ایران پیشنهاد می‌شود.

#### مقدمه

در سال ۱۹۸۳ Edward A. Boyse از دانشگاه Arizona اولین بار پیشنهاد استفاده از خون بند ناف [UCB (Umbilical cord blood)] را به‌عنوان منبع سلول‌های هماتوپوئیک جهت پیوند مطرح نمود و این ایده در سال ۱۹۸۴ توسط وی در نمونه‌های حیوانی آزمایش شد. در سال ۱۹۸۸ اولین پیوند آلوژنیک خون بند ناف برای درمان کودکی با آنمی فانکونی توسط Gluckman با موفقیت انجام شد که اهداکننده خون بند ناف، خواهر او با HLA یکسان بود. گزارشات اخیر در مورد استفاده از پیوند خون بند ناف چشم‌انداز تازه‌ایی را جهت درمان بیماری‌های هماتولوژیک اکتسابی و مادرزادی (هموگلوبینوپاتی، نارسایی مغز استخوان، نقص ایمنی و بدخیمی هماتولوژیکی) گشود، به طوری که از اکتبر ۱۹۸۸ تا مارس ۲۰۰۰، ۷۰۰ مورد پیوند خون بند ناف از ۱۲۱ مرکز پیوند در ۲۹ کشور داخل و خارج اروپا به Eurocord (مرکز بین‌المللی پیوندهای مغز استخوان و بند ناف در اروپا) گزارش شده است. هم‌زمان با افزایش یافته‌ها درباره خصوصیات بیولوژیک سلول‌های خون بند ناف، بانک‌های آن در سراسر دنیا برای پیوندهای نسبی و غیر نسبی تأسیس شده است.

#### خون بند ناف

در مطالعات آزمایشگاهی اثبات شد که UCB منبع غنی سلول‌های پایه هماتوپوئیک است و سلول‌های هسته دار آن تقریباً ۱۰ برابر بیش از مغز استخوان توانایی تکثیر دارند.

متوسط پارامترهای اندازه‌گیری شده در یک واحد خون بند ناف با حجم متوسط ۸۶/۵ml (۱۴۹ml - ۵۰) گلبول‌های قرمز ۴۱ml (۷۵/۲ml - ۱۸/۲)، سلول‌های مونوکلئار  $10^9 \times 0.411$  ( $10^9 \times 1.08 - 0.123$ )، سلول‌های هسته دار (NC)  $10^9 \times 1.173$  ( $10^9 \times 3.325 - 40.508$ ) colony forming unit - granulocyte - macrophage (CFU - GM)  $10^4 \times 28$  ( $10^4 \times 1.98 - 512.46$ ) و سلول‌های  $CD34^+$   $10^6 \times 3.06$  ( $10^6 \times 19.58 - 0.57$ ) است.

در ضمن مطالعات in vitro نشان داده است که لنفوسیت‌های UCB به دلیل عدم بلوغ، فعالیت ایمنولوژیک کمتری نسبت به سلول‌های موجود در خون یا مغز استخوان دارند، در نتیجه نسبت به لنفوسیت‌های بالغ جمع‌آوری شده از اهداکننده‌های زنده کمتر باعث بروز واکنش پیوند علیه میزبان graft versus host disease (GVHD) می‌شوند.

#### مراحل پیوند خون بند ناف

##### جمع‌آوری خون بند ناف

از مادرانی که برای این عمل انتخاب می‌شوند در ابتدا اجازه جمع‌آوری، ذخیره سازی و آزمایش UCB اخذ می‌شود. بعد از زایمان، بند ناف در دو قسمت مسدود و بریده می‌شود. سپس به وسیله بتادین ضدعفونی و در نهایت توسط سوزن ۱۷ سوراخ شده و خون بر

اثر جاذبه وارد کیسه مخصوص جمع‌آوری می‌شود. این کیسه حاوی ۲۵ml ماده ضدانعقاد سیترات فسفات دکستروز (CPD) است.

در مطالعه Takashi Yamada و همکارانش در سال ۲۰۰۰، حجم خون به دست آمده در ۲۹ سزارین  $۳۲/۶ \pm ۱۰۳/۹$  ml و در ۱۲۶ زایمان طبیعی  $۲۵/۳ \pm ۸۴/۲$  ml بود. تعداد سلول‌های  $CD34^+$  به طور بارزی در گروه سزارین به دلیل حجم بالای خون جمع‌آوری شده بیشتر بود. آن‌ها نتیجه گرفتند که اختلاف در حجم خون در نتیجه وضعیت بند ناف و نوزاد قبل از مسدود کردن بند ناف است. در سزارین نوزاد در وضعیت بالاتری نسبت به جفت و در زایمان طبیعی نوزاد تقریباً ۲۰cm پایین‌تر از جفت قرار دارد.

بررسی دیگری توسط Grisaru و همکارانش نشان داد که قرارگیری نوزاد در سطح بالاتر یا پایین‌تر نسبت به جفت پس از زایمان طبیعی اثری مشابه مطالعه قبلی بر حجم UCB و تعداد سلول‌های  $CD34^+$  دارد.

در مطالعه دیگری توسط Rubinstein و همکارانش اثر قرارگیری جفت داخل و خارج رحم روی جمع‌آوری خون بررسی شد. در صورت وجود جفت داخل رحم، جمع‌آوری خون بند ناف به دلیل هم‌زمانی با کار کادر زایمان و عدم امکان رگ‌گیری مناسب مشکل می‌باشد. قابل به ذکر می‌باشد که حجم خون جمع‌آوری شده به مکان قرارگیری جفت (داخل یا خارج رحم) بستگی زیادی ندارد.

#### بررسی میکروبیولوژیکی

ابتدا سابقه پزشکی برای اطمینان از عدم وجود اختلالات ژنتیکی وراثتی مورد بررسی

قرار می‌گیرد. همچنین ۲ml از خون بند ناف تحت شرایط استریل از کیسه خون برداشته و از نظر HLA کلاس I و II، گروه خونی ABO، Rh و تعداد سلول‌های هسته دار (NC) و همچنین وجود HIV ارزیابی می‌شود. علاوه بر این با استفاده از سرم مادر، شناسایی مارکرهای بیماری‌های عفونی و ویروسی از طریق آزمایشات سرولوژیک و در مواقع لزوم به روش polymerase chain reaction (PCR) انجام می‌شود. این غربالگری شامل Anti-HCV، Anti-HTLV، Anti-HIV2، Anti-HIV1 و Anti-CMV سیفیلیس است.

#### ذخیره سازی و نگهداری

استفاده از خون بند ناف به طور کامل دارای دو محدودیت می‌باشد: ۱ - خطر واکنش انتقال خون (transfusion reaction): به علت اختلاف گروه خونی بین اهداکننده و گیرنده، به خصوص اگر گیرنده دارای تیترا بالای ایزوآگلوتینین (Isoagglutinin) باشد. ۲ - زیاد بودن حجم خون ذخیره شده: این مسأله باعث افزایش هزینه ذخیره‌سازی، نیاز به مقدار بیشتر DMSO (Dimethyl sulfoxide) و در نتیجه افزایش احتمال وقوع واکنش‌های بعد از پیوند مثل مسمومیت (Toxicity) می‌شود. برای رفع محدودیت‌های فوق تلاش‌هایی برای جداسازی سلول‌های UCB با استفاده از سدیمانتاسیون، سانتریفوژ یا روش‌های شیب غلظت انجام گرفت ولی متأسفانه این عمل باعث کاهش سلول‌های پیش ساز شد. بهترین نتایج برای جداسازی سلول‌ها با استفاده از ژلاتین، HES، ficoll، percoll و methylcellulas به دست آمد اما در بیشتر کشورها استفاده بعضی از این مواد برای انسان مجاز نیست. امروزه بهترین پیوندها با کل خون یا خون تهیه شده توسط

فرآیند HES (Hydroxyethyl starch) صورت می‌گیرد.

خون آماده شده را با ۶ میلی لیتر DMSO (۱۰ درصد) به عنوان ضدانجماد مخلوط و در ظروف فلزی نگهداری می‌کنند. این ظروف در دمای  $100^{\circ}\text{C}$  - منجمد و سپس در مخزن قرنطینه ( $175^{\circ}\text{C}$ ) در فضا تبخیر نیتروژن) ذخیره می‌شوند. قرنطینه تا زمانی (معمولاً ۶ ماه) ادامه می‌یابد که با پیگیری وضعیت سلامت مادر و نوزاد، وجود هر گونه بیماری عفونی واگیردار یا ژنتیکی رد گردد. بعد از تایید نهایی ظروف حاوی UCB به مخزن اصلی منتقل و برای ۵ سال در دمای  $190^{\circ}\text{C}$  - نگهداری می‌شود.

### انتقال و پیوند

مخزن قرنطینه تنها در صورت نیاز به پیوند باز خواهد شد. در شرایط معمول برای اطمینان از حیات سلول‌های پیش‌ساز، آزمون aliquot (برای تشخیص سلول‌های رشد یافته) روی نمونه خون گرم شده انجام می‌شود، که ۱۴ روز به طول می‌انجامد. تنها در صورتی که انجام پیوند ضروری و حیاتی باشد، این مرحله صورت نمی‌گیرد.

بعد از گرم کردن و آماده کردن، با رگ‌گیری ساده خون در طی ۳۰ دقیقه تا ۴ ساعت به گیرنده تزریق می‌شود. در یک روش جایگزین، بعد از گرم کردن کل خون محلول dextran/albumin اضافه شده و برای ۱۰ دقیقه در  $100^{\circ}\text{C}$  با سرعت ۲۵۰g سانتی‌فوز و توده سلولی روی آن را جدا کرده، مجدداً در dextran/albumin شناور و سریعاً به بیمار تزریق می‌کنند.

### مقایسه UCBT با BMT

جمع‌آوری خون بند ناف به راحتی صورت می‌گیرد و هیچ زیان آشکاری برای اهداکننده ندارد. در طول مراحل انسداد بند ناف در زمان طبیعی خود آسیبی به نوزاد نمی‌رسد و این عمل احتیاجی به بیهوشی اهداکننده ندارد، به طوری که پس از زایمان اهداکننده دچار عارضه‌ای نشده و بعد از آن می‌تواند به فعالیت‌های روزمره خود ادامه دهد.

مدت زمان یافتن اهداکننده نیز کوتاه است. در UCBT خطر GVHD به خصوص نوع مزمن آن (که حدود ۱۰۰ روز بعد از پیوند اتفاق می‌افتد) کمتر می‌باشد. در نتیجه می‌توان پیوند UCB را با وجود غیر یکسان بودن HLA نیز انجام داد.

همچنین به دلیل انجام آزمایشات سرولوژیکی خون مادر در طول مراحل جمع‌آوری و حفظ شرایط استریل در طول نگهداری خون، احتمال خطر عفونت‌های ویروسی مثل سایتومگالوویروس (CMV) و ایشتاین بار (EBV) در UCBT کمتر است.

در مقایسه با BM، UCB دارای تعداد کمتری سلول‌های پیش‌ساز هماتوپوئیتیک  $CD34^{+}$  در واحد حجم است. به طوری که این پیوند را محدود به کودکانی با وزن کمتر از ۳۰kg می‌کند. البته پیوند موفقیت‌آمیز آن در بزرگسالان نیز گزارش شده است که نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد. به همین منظور کشت خون بند ناف مورد توجه قرار گرفته است. در یک بررسی روی گسترش و کشت خون بند ناف مشخص شد قدرت تکثیر سلول‌های پیش‌ساز خون بند ناف در مقایسه با سلول‌های پیش‌ساز مغز استخوان بیشتر است. اما پتانسیل پیوندی سلول‌های کشت داده شده به

نحو قابل توجهی کاهش می‌یابد. با توجه به این مسأله اخیراً بررسی‌هایی برای استفاده از ۲ واحد خون بند ناف تماماً صورت گرفته است، اما مدارک مستدلی مبنی بر کارایی این روش وجود ندارد.

### پیوند خون بند ناف در ایران

تاکنون دو مورد پیوند UCB جهت درمان تالاسمی دوکودک ۶ و ۸ ساله توسط مرکز پیوند

مغز استخوان بیمارستان شریعتی تهران انجام شده که یک مورد آن موفقیت‌آمیز بوده است. متعاقب استفاده از این روش، طرح تحقیقاتی «تاسیس بانک خون بند ناف در ایران» توسط این مرکز و با همکاری گروهی از دانشجویان دانشگاه علوم پزشکی تهران در دست اجراست. امید است که در آینده‌ای نزدیک شاهد بکارگیری گسترده این روش درمانی بهینه در جامعه‌مان باشیم.

زیر نویس‌ها

1. Bone Marrow Transplantation
2. Umbilical Cord Blood Transplantation

منابع

1. Wagner J.E., Rosenthal J., Sweetman R., et al., Successful transplantation of HLA-matched and HLA mismatch umbilical cord blood unrelated donors: analysis of engraftment and acute graft-versus-host disease. *Blood*. 1996; 88(3): 795-802.
2. Gluckman E., Broxmeyer H.E., Auerbach A.D., et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with fanconi's anemia by means of umbilical cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med*. 1989; 321: 1174-1178.
3. Will A.M. Umbilical cord blood transplantation. *Arch Dis Child*. 1999; 80: 3-6.

تذکر: این مقاله دارای ۱۱ رفرنس دیگر نیز می‌باشد. علاقمندان به دسترسی به سایر منابع این مقاله می‌توانند با دفتر مجله رازی تماس حاصل نمایند.

