

بررسی تأثیر سرم موش حامله بر عملکرد سلول‌های دندریتیک با استفاده از مدل MLR آلورژنیک

ژاله شجاعیان (M.Sc.)^۱، سید محمد مؤذنی (Ph.D.)^۲، امیرحسین زرنانی (D.M.T., Ph.D.)^۳.

۱- کارشناس ارشد، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

۲- دانشیار، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

۳- استادیار، گروه ایمنی‌شناسی تولید مثل، مرکز تحقیقات آنتی‌بادی منوکلونال، پژوهشکده ابن‌سینا، تهران، ایران.

چکیده

مقدمه: شواهد موجود نشان می‌دهد که جنین آلوگرافت بوسیله تعدیل موضعی و سیستمیک پاسخ‌های ایمنی مادر حفاظت می‌شود. به نظر می‌رسد که وجود فاکتورهای مهاری در سرم زنان باردار یکی از عوامل ایجاد تعدیل سیستمیک در پاسخ‌های ایمنی مادر در طول دوران بارداری باشد. در این مطالعه، تأثیر سرم موش حامله و سرم طبیعی روی عملکرد سلول‌های دندریتیک، که سلول‌های عرضه‌کننده آنتی‌ژن با توانایی منحصر به فرد در القاء پاسخ‌های ایمنی اولیه هستند، بوسیله MLR آلورژنیک مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها: ابتدا سرم موش‌های باردار آلورژنیک در اوایل، اواسط و اواخر بارداری جمع‌آوری و در $70^{\circ}C$ ذخیره گردید. سلول‌های دندریتیک از طحال موش نژاد Balb/C با روش هضم آنزیمی توسط کلاژناز جمع‌آوری و سلول‌های کم‌چگال با استفاده از گرادیان نایکودنز (Nycodenz) جدا گردید. خلوص سلول‌های دندریتیک جدا شده به وسیله آنالیز فلوسیتومتری بیش از ۹۵٪ تعیین گردید. سلول‌های دندریتیک جدا شده در محیط RPMI حاوی سرم موش‌های حامله در اوایل، اواسط و اواخر بارداری موش‌های حامله، انکوبه شدند و پس از شستشو و دریافت $3000 rad$ اشعه به عنوان سلول‌های محرک در آزمایش MLR آلورژنیک مورد استفاده قرار گرفتند. لنفوسیت‌های T از غدد لنفاوی موش C57BL/6 با استفاده از روش نایلینول (Nylon wool) جدا شدند. خلوص نهایی این سلول‌ها نیز با استفاده از فلوسیتومتری در حدود ۹۰٪ تعیین گردید. لنفوسیت‌های T و سلول‌های دندریتیک به صورت مختلف (MLR آلورژنیک) کشت داده شدند و میزان تکثیر سلولی با استفاده از تایمیدین رادیواکتیو اندازه‌گیری گردید.

نتایج: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که سرم اوایل و اواخر بارداری در مقایسه با سرم طبیعی موش هیچ تأثیری بر عملکرد سلول‌های دندریتیک ندارد، درحالی‌که سرم اواسط بارداری به صورت معنی‌داری باعث مهار توان تحریکی سلول‌های دندریتیک می‌گردد.

نتیجه‌گیری: براساس اطلاعات موجود، این مطالعه اولین گزارش تأثیر سرم حامله روی سلول‌های دندریتیک می‌باشد. کاهش پاسخ MLR در اواسط حاملگی احتمالاً ناشی از سرریز عوامل مهاری موجود در موضع بارداری، همانند سایتوکین‌های IL-4، IL-10، TGF- β ، PGE-2 در سرم باردار است.

کلواژگان: سلول‌های دندریتیک، طحال، حاملگی، سرم، کشت مختلط لکوسیتی، و موش.

آدرس مکاتبه: دکتر سید محمد مؤذنی، گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، صندوق پستی: ۱۱۱-۱۴۱۱۵، تهران، ایران.

پست الکترونیکی: Moazzeni@dr.com

مقدمه

در توصیف تحمل ایمونولوژیک جنین نیمه بیگانه از سوی سیستم ایمنی مادر چهار نظریه اصلی توسط Medawar در سال ۱۹۵۳ ارائه گردید که عبارتند از: ۱- جنین از نظر آنتی‌ژنیک خنثی است ۲- سیستم ایمنی مادر در طی بارداری تعدیل می‌شود ۳- رحم یک مکان امن ایمونولوژیک است ۴- جفت به عنوان سد ایمونولوژیک عمل می‌کند (۱). در حال حاضر تنها نظریه مربوط به تعدیل سیستم ایمنی مادر، در طی بارداری مورد پذیرش بسیاری از محققین می‌باشد. با توجه به بیگانه بودن جنین نسبت به سیستم ایمنی مادر وجود مکانیسم‌های سرکوب سیستم ایمنی در طی حاملگی دور از ذهن نیست و بسیاری از مطالعات انجام شده صحت این نظریه را تأیید کرده‌اند (۲،۳). یکی از مهمترین مکانیسم‌های عدم رد جنین، تولید فاکتورهای سرکوبگر ایمنی در موضع بارداری است. فاکتورهای مختلفی در سطح تماس مادر- جنین تولید می‌شوند که قادر به سرکوب جنبه‌های مختلف سیستم ایمنی مادر می‌باشند از آن جمله می‌توان به $TGF-\beta$ ،^۱ IL-10،^۲ PGE2^۳ و بسیاری از سایتوکین‌های دیگر اشاره کرد (۴). ضمن اینکه بیشترین غلظت این فاکتورها در موضع بارداری متمرکز می‌باشد؛ اما اثرات سیستمیک این فاکتورها در اثر پدیده سرریز^۴ نیز کاملاً مشهود است (۵). فاکتورهای مهارتی موجود در سرم دوران بارداری روی عملکرد اجزای مختلف سیستم ایمنی مادر مانند سلول‌های T، سلول‌های B و سلول‌های NK^۵ تأثیر می‌گذارند (۶، ۷). سلول‌های دندریتیک مهم‌ترین سلول‌های حرفه‌ای عرضه کننده آنتی‌ژن و تنها سلول‌هایی هستند که می‌توانند پاسخ سلول‌های T دست‌نخورده را القا نمایند. این سلول‌ها نه فقط برای القای پاسخ‌های ایمنی اولیه

حیاتی می‌باشند؛ بلکه برای القای تحمل ایمونولوژیک و تنظیم پاسخ ایمنی با واسطه سلول T اهمیت کلیدی دارند (۷). نقش مهم این سلول‌ها در تعدیل پاسخ‌های ایمنی در انسان و جوندگان نشان داده شده است (۸،۹). به همین سبب در این پژوهش تأثیر سرم موش‌های باردار بر عملکرد سلول‌های دندریتیک از نظر تحریک تکثیر لنفوسیت‌های T آلوژن مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از این مطالعه می‌تواند محققین را در شناخت هرچه بهتر چگونگی مهار ایمنی سیستمیک و تعدیل سیستم ایمنی در طی بارداری و ابداع راهکارهای جدید برای حل معضل سقط‌های ایمونولوژیک یاری نماید.

مواد و روشها

الف) حیوانات مورد مطالعه: موش‌های هم‌خون^۶ نژاد Balb/C نر و ماده با سن ۱۲-۸ هفته و موش‌های هم‌خون نژاد C57BL/6 نر با سن ۱۲-۸ هفته از انستیتو تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی خریداری شدند. موش‌ها در شرایط مناسب بهداشتی و بدون محدودیت غذایی نگهداری شدند. شرایط نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی در نگهداری موش‌ها اعمال گردید. **ب) تعیین سن بارداری موش:** از تکنیک تشخیص پلاک واژینال برای تعیین سن بارداری استفاده شد (۱۰). قبل از جفت‌گیری موش‌های ماده Balb/C به مدت ۱۰ روز در یک قفس نگهداری شدند و سپس با موش‌های نر C57BL/6 جفت‌اندازی انجام شد. موش‌های ماده تا سه روز متوالی هر روز صبح از نظر تشکیل پلاک واژینال مورد بررسی قرار گرفتند. در تمام موش‌های ماده پلاک مثبت، وجود اسپرم در ترشحات واژن از طریق تهیه اسمیر واژینال بررسی گردید. روز رؤیت اسپرم در اسمیر واژینال به عنوان روز ۰/۵ حاملگی در نظر گرفته شد.

- 1- Transforming Growth Factor - β
- 2- Interleukin - 10
- 3- Prostaglandin E2
- 4- Overflow
- 5- Natural Killer

6- Inbred

استفاده از تکنیک نایلون ول^۶ جدا گردید (۱۱). به‌طور خلاصه، سوسپانسیون سلولی حاصل از هضم مکانیکی غدد لنفاوی، به منظور حذف سلول‌های چسبان به مدت ۲ ساعت در RPMI کامل کشت داده شد. سلول‌های غیر چسبان جمع‌آوری و پس از شستشو، با غلظت $6-8 \times 10^6 \text{ cell/ml}$ بر روی ستون نایلون ول بارگذاری شدند. پس از ۴۵ دقیقه، ستون با RPMI کامل گرم شسته شد و سلول‌های غیرچسبان جمع‌آوری گردید. این سلول‌ها پس از شستشو به عنوان سلول‌های پاسخگو در سیستم MLR آلورژنیک مورد استفاده قرار گرفتند.

(و) **تعیین میزان خلوص سلول‌های دندریتیک و T جداشده:** مطابق با پژوهش قبلی (۱۱)، پس از بلوک کردن گیرنده‌های ناحیه Fc، سلول‌های دندریتیک با آنتی‌بادی ضد CD11c (Hamster anti-mouse CD11c, Pharmingen, USA) و لنفوسیت‌های T با آنتی‌بادی ضد CD3 (RPE-conjugated rat anti-mouse, Serotec,) UK^۷ انکوبه شدند. از کنترل ایزوتیپ مناسب به عنوان کنترل منفی استفاده شد. پس از شستشو به سوسپانسیون سلول‌های دندریتیک آنتی‌بادی ضد ایمونوگلوبولین هامستر کونژوگه با RPE اضافه گردید. پس از اتمام زمان انکوباسیون هر دو نوع سوسپانسیون سلولی بطور جداگانه شستشو و با پارافرمالدئید ثابت شدند. نتایج با استفاده از دستگاه فلوسایتومتر (Partec, Germany) آنالیز گردید.

(ز) **MLR آلورژنیک:** سلول‌های دندریتیک تیمار شده با سرم دوره‌های مختلف بارداری و سرم موش غیر باردار به میزان 3000 Rad اشعه داده شد و به عنوان سلول‌های محرک در MLR یک طرفه استفاده گردید. 2×10^4 عدد از این سلول‌ها و 10^6 عدد سلول T آلورژن در هر حفره میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای به صورت سه تایی

(ج) **تهیه سرم:** سرم موش‌های حامله در اوایل (روز ۲-۳)، اواسط (روز ۹-۱۱) و اواخر (روز ۱۹-۱۷) حاملگی تهیه و پس از عبور از فیلتر 0.22μ در دمای 70°C ذخیره گردید.

(د) **تخلیص سلول‌های دندریتیک و تیمار کردن آنها با سرم دوره‌های مختلف بارداری:** سلول‌های دندریتیک مطابق روشی که قبلاً شرح داده شد (۱۱) از طحال موش‌های نر Balb/c، ۱۰-۱۲ هفته‌ای تخلیص شدند. به‌طور خلاصه، پس از هضم آنزیمی طحال با آنزیم‌های کلاژناز D و DNase (Roche, Germany)، سلول‌های کم‌چگال^۱ توسط محیط گرادیان نایکودنز ۱۳٪ (Axis-Shield, Norway) جدا گردیدند. سلول‌های کم‌چگال به مدت ۲ ساعت در RPMI^۲ کامل (Sigma, USA) حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاوی (FCS) (Gibco, England) و غلظت‌های مختلف ۲/۵٪، ۵٪، ۱۰٪ و ۲۰٪ از سرم اواسط بارداری به مدت ۱۲۰ دقیقه کشت داده شدند. پس از طی مدت مذکور با شستشوی آرام پلیت کشت توسط محیط RPMI گرم (37°C)، سلول‌های غیر چسبان حذف شدند. سلول‌های چسبان مجدداً به مدت ۱۸ ساعت در محیط مذکور کشت داده شدند. سپس سلول‌های شناور که عمدتاً سلول‌های دندریتیک بالغ بودند، جمع‌آوری و بعد از تعیین خلوص در MLR آلورژنیک استفاده شدند. پس از بررسی نتایج، غلظت بهینه سرم انتخاب شد و سرم‌های اوایل و اواخر بارداری و همچنین سرم موش‌های غیر باردار با همین غلظت در آزمایش‌های جداگانه به کشت دو ساعته و شبانه سلول‌های دندریتیک اضافه گردیدند. توانایی سلول‌های دندریتیک مذکور نیز در طی آزمایش MLR مورد ارزیابی قرار گرفت.

(ه) **تخلیص لنفوسیت‌های T:** لنفوسیت‌های T از غدد لنفاوی اینگوینال^۴ و براکیال^۵ موش‌های C57BL/6 با

1- Low Density
2- Roswell Park Memorial Institute
3- Fetal Calf Serum
4- Inguinal

5- Brachial
6- Nylon Wool
7- Red Phycoerythrin

اینگوئینال و براکیال حدود $10^6 \times 20 - 10^6 \times 15$ سلول به دست آمد. بعد از طی مراحل جداسازی لنفوسیت‌های T، حدود $10^6 \times 3 - 5$ سلول باقی ماند. بررسی فلوسایتومتری این سلول‌ها با استفاده از آنتی‌بادی منوکلونال ضد CD3 نشان داد که خلوص نهایی لنفوسیت‌های T ۹۰٪-۸۵٪ است.

(ج) *سنجش تکثیر سلولی*: به منظور بررسی تأثیر سرم موش‌های باردار بر توانایی سلول‌های دندریتیک در القا پاسخ تکثیری سلول‌های T آلون، سلول‌های دندریتیک در طی کشت شبانه با سرم موش‌های باردار در دوره‌های مختلف حاملگی و همچنین سرم موش‌های ماده غیر باردار به عنوان کنترل منفی، تیمار شده و به عنوان سلول محرک در سیستم MLR آلونژیک مورد استفاده قرار گرفتند.

نتایج حاصل از پاسخ تکثیری لنفوسیت‌های T نشان داد که تمام غلظت‌های مورد استفاده از سرم واسط بارداری در مقایسه با سرم موش‌های غیر باردار توان تحریکی سلول‌های دندریتیک را به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد ($P < 0.05$). اگرچه با افزایش غلظت سرم واسط بارداری در محیط کشت سلول‌های دندریتیک، تکثیر لنفوسیت‌های T بیشتر کاهش می‌یافت؛ ولی اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف سرم واسط بارداری از نظر مهار توان تحریکی سلول‌های دندریتیک در MLR آلونژیک مشاهده نشد (نمودار ۱). نهایتاً با توجه به عدم اختلاف معنی‌دار بین غلظت‌های مختلف سرم و همچنین سهولت تخلیص سلول‌های دندریتیک به هنگام استفاده از غلظت‌های کمتر سرم موش، غلظت ۲/۵٪ به‌عنوان غلظت مناسب انتخاب گردید و سرم سایر دوره‌های بارداری نیز با همین غلظت به کشت سلول‌های دندریتیک اضافه گردید.

مقایسه سرم مراحل مختلف بارداری و سرم موش‌های غیر باردار از نظر تأثیر بر روی سلول‌های دندریتیک در القاء پاسخ تکثیری لنفوسیت‌های T آلونژیک نشان داد که

کشت داده شدند. از سلول‌های دندریتیک خالص و لنفوسیت‌های T خالص به عنوان کنترل در هر بار آزمایش MLR استفاده گردید. بعد از گذشت ۷۲ ساعت $1 \mu Ci$ تیمیدین نشاندار (Pharmacia, Sweden) به هر حفره اضافه و ۱۸ ساعت بعد سلول‌ها توسط دستگاه Cell harvester (Titertek, Denmark) بر روی فیلتر مخصوص هاروست شدند. میزان جذب تیمیدین نشاندار با دستگاه بتاکوانتر (Wallac 1410, Pharmacia, Sweden) اندازه‌گیری گردید. آزمایشات MLR به صورت سه تائی و در هر مورد (سرم‌های اوایل، واسط و اواخر بارداری و سرم موش غیر باردار) بر روی پنج نمونه مستقل تکرار گردید.

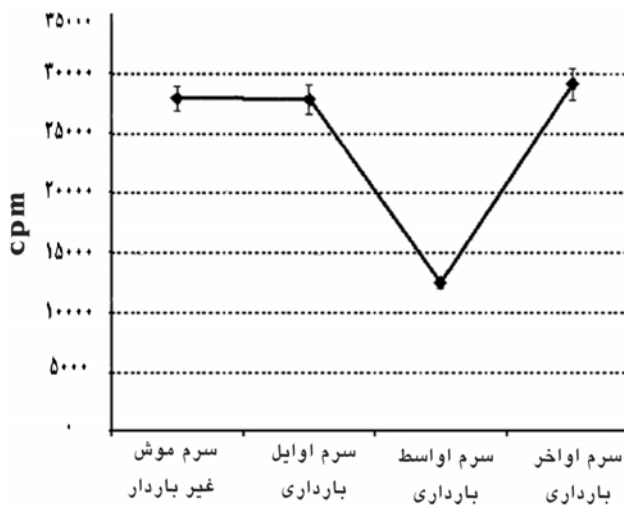
(ح) *آنالیز آماری*: برای مقایسه cpm کشت آلونژیک سلول‌های دندریتیک تیمار شده با سرم دوره‌های مختلف بارداری و سرم موش‌های غیر باردار از آزمون آماری Mann-Whitney استفاده شد.

نتایج

(الف) *جداسازی سلول‌های دندریتیک از طحال*: بعد از کشت ۲ ساعته، و حذف سلول‌های غیرچسبان، حدود ۸۰٪ سلول‌های باقیمانده، مرفولوژی سلول‌های دندریتیک را نشان دادند. بعد از انکوبه شدن سلول‌های چسبیده باقیمانده به مدت ۱۸ ساعت، سلول‌های دندریتیک بالغ شدند و چسبندگی خود را از دست دادند و در محیط کشت شناور گردیدند. میزان بازده سلول‌های دندریتیک پس از تیمار کردن این سلول‌ها با سرم موش‌های باردار و غیرباردار حدود $10^3 \times 3$ سلول به ازای هر طحال بود. بررسی خلوص سلول‌های دندریتیک با استفاده از آنتی‌بادی منوکلونال ضد CD11c نشان داد که خلوص نهایی سلول‌های دندریتیک بیش از ۹۵٪ می‌باشد.

(ب) *جداسازی سلول‌های T از غده لنفاوی*: از غده لنفاوی

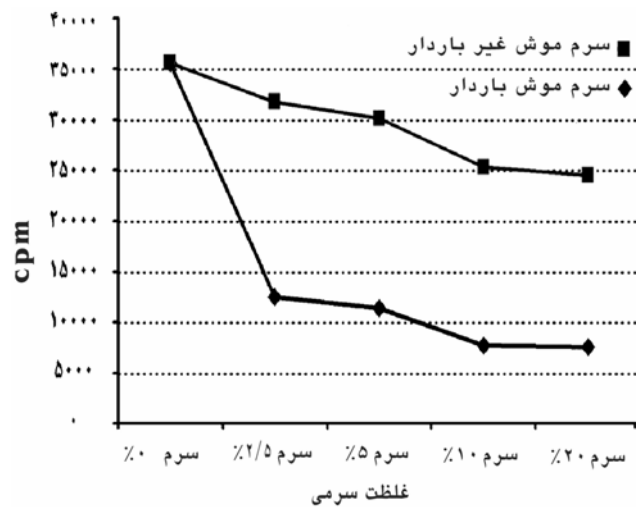
1- Count Per Minute



نمودار ۲- مقایسه تأثیر سرم اوایل، اواسط و اواخر بارداری روی عملکرد سلول‌های دندریتیک در القاء پاسخ تکثیری لنفوسیت‌های T آلون در آزمایش MLR آلونژیک

گرفته است (۶،۶) ولی تاکنون هیچ مطالعه‌ای در ارتباط با تأثیر بارداری بر روی عملکرد سلول‌های دندریتیک در دسترس نمی‌باشد. سلول‌های دندریتیک مهم‌ترین سلول‌های حرفه‌ای عرضه کننده آنتی‌ژن می‌باشند، به همین سبب در این پژوهش تأثیر سرم موش‌های باردار بر عملکرد سلول‌های دندریتیک از نظر تحریک تکثیر لنفوسیت‌های T آلونژیک مورد ارزیابی قرار گرفت.

در این مطالعه، سرم موش‌های باردار در اوایل، اواسط و اواخر حاملگی روی سلول‌های دندریتیک اثر داده شد و قدرت سلول‌های مزبور در تحریک آلونژیک لنفوسیت‌های T با سیستم MLR آلونژیک مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج به‌دست آمده با میزان تحریک لنفوسیت‌های T آلونژیک توسط سلول‌های دندریتیک تیمار شده با سرم موش‌های غیر باردار مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشان داد که سرم اوایل و اواخر بارداری در مقایسه با سرم موش‌های غیر باردار هیچ تأثیر مهاری معنی‌داری را روی سلول‌های دندریتیک از نظر تحریک سلول‌های T آلونژیک ندارند، در حالیکه سرم اواسط بارداری موجب



نمودار ۱- مقایسه تأثیر غلظت‌های متغیر از سرم اواسط بارداری روی عملکرد سلول‌های دندریتیک در القاء پاسخ تکثیری لنفوسیت‌های T آلونژیک در آزمایش MLR آلونژیک

سرم اوایل و اواخر بارداری تأثیری از این نظر ندارند ولی سرم اواسط بارداری به‌طور معنی‌داری ($P < 0.01$) توان تحریکی سلول‌های دندریتیک را کاهش می‌دهد (نمودار شماره ۲).

بحث

با توجه به اینکه جنین یک پیوند نیمه بیگانه است، سرکوب پاسخ‌های ایمنی مادر بر ضد آنتی‌ژن‌های جنین دور از ذهن نیست و بسیاری از مطالعات انجام شده صحت این نظریه را تایید کرده‌اند (۲،۴،۱۲). مطالعات انجام شده در مورد چگونگی تعدیل و یا سرکوب سیستم ایمنی مادر در طی حاملگی نشان می‌دهد که این امر به واسطه مکانیسم‌های مختلف انجام می‌گیرد. از مهمترین مکانیسم‌های عدم رد جنین تولید فاکتورهای سرکوبگر ایمنی در موضع بارداری است و هرگونه اثرات سیستمیک این فاکتورها احتمالاً ناشی از پدیده سرریز است (۵). اگرچه تأثیر سیستمیک بارداری بر عملکرد سلول‌های مختلف سیستم ایمنی نظیر سلول‌های T، سلول‌های B و سلول‌های NK مورد ارزیابی قرار

مهار توانایی سلول‌های دندریتیک در القاء تکثیر لنفوسیت‌های T آلورژن می‌گردد.

گزارشات متعدد وجود فاکتورهای مهاری را در سرم فرد باردار نشان داده‌اند. نشان داده شده است که سرم زنان باردار دارای فاکتوری است که تولید IL-2 را در طی فعالیت لنفوسیتی مهار می‌کند (۱۳). Domingo و همکاران نشان دادند که سرم فرد باردار توانایی IL-1 را در القاء تولید IL-2 مختل می‌کند (۱۴). علاوه بر این هورمون‌ها نقش مهمی در تنظیم پاسخ‌های ایمنی دارند. پروژسترون به‌عنوان یک فاکتور مهار ایمنی موضعی نقش مهمی در مهار ایمنی در سطح تماس مادر - جنین بازی می‌کند و سر ریز آن در گردش خون در مهار ایمنی سیستمیک نیز مؤثر است (۱۵). LH و HCG اثر مهاری روی سلول‌های NK دارند. همچنین برخی از سیتوکین‌ها که فاکتورهای محلول تولید شده به وسیله سلول‌های ایمنی فعال هستند در مهار ایمنی سیستمیک دخیل می‌باشند (۵).

نتایج مطالعات نشان می‌دهد که سرم افراد باردار روی عملکرد سلول T اثر مهاری دارد و این پدیده ناشی از فاکتورهای مهاری موجود در سرم است (۱۶، ۱۷). این اثر مهاری روی عملکرد لنفوسیتی در هر دو سیستم MLR آلورژنیک و اتولوگ مشاهده شده است (۱۷). یکی از فاکتورهای مؤثر بر عملکرد لنفوسیتی در سرم فرد باردار گلیکوپروتئین Ia اختصاصی حاملگی (PSG1a) است که در مقادیر بالا به وسیله تروفوبلاست‌های جفتی تولید می‌شود و قادر است که به‌عنوان نوعی تعدیل‌کننده مهم سلول T و منوسیت در سطح سیستمیک عمل کند (۱۸). فاکتور دیگر با خصوصیت مهارکننده ایمنی PGE2 است که نوعی مهارکننده قوی عملکرد سلول‌های عرضه‌کننده آنتی‌ژن و بیان IL-2 توسط سلول‌های T است (۱۹، ۱۸).

بعضی از فاکتورهای تولید شده در طی حاملگی به‌طور بالقوه توانایی عرضه آنتی‌ژن توسط سلول‌های دندریتیک را مختل می‌کنند؛ از آن جمله می‌توان به HLA-G^۲ محلول، IL-10، PGE2 و کورتیکواستروئیدها اشاره کرد.

HLA-G محلول در سرم بیماران پیوند قلبی بالا می‌رود (۲۰). افزایش این فاکتور در سرم خانم‌های باردار نیز اتفاق می‌افتد (۲۱). سلول‌های دندریتیک نوعی گیرنده مهاری را به نام IL-T4 بیان می‌کنند که با چندین لیگاند از جمله HLA-G قادر به واکنش می‌باشد (۲۲). تاثیر HLA-G محلول روی سلول‌های دندریتیک و بررسی توانایی این سلولها در تحریک آلورژنیک لنفوسیت‌های T، کاهش عملکرد این سلولها را نشان داده است که این موضوع خود تأییدی بر نقش مهاری HLA-G محلول در بارداری می‌باشد (۲۳). نکته جالب توجه اینکه فاکتورهای مهاری مذکور و بویژه IL-10 و PGE2 عمدتاً بر روی سلول‌های دندریتیک نابالغ تأثیر دارند و پس از بلوغ این سلولها از فاکتورهای نامبرده متأثر نمی‌شوند (۲۴ و ۲۵). در مطالعه حاضر، سرم موش‌های باردار بر روی سلول‌های دندریتیک تازه جدا شده از بافت طحال اثر داده شد. این سلولها در مراحل ابتدایی تخلیص از بافت، نابالغ می‌باشند و بدین ترتیب از فاکتورهای موجود در سرم موش‌های حامله نظیر PGE2 و IL-10 به راحتی متأثر می‌شوند.

عدم تأثیر سرم موش‌های حامله در اوایل بارداری (شروع روز دوم حاملگی) بر روی توانایی سلول‌های دندریتیک در تحریک آلورژنیک لنفوسیت‌های T احتمالاً مربوط به پایین بودن سطح سرمی فاکتورهای مهاری مذکور است. مطالعات انجام شده توسط Badet و همکارانش نشان می‌دهد که بیشترین تأثیر مهاری سوپ سلول‌های دسی جوآ موش حامله بر MLR آلورژنیک در اواسط حاملگی است و سوپ سلولی تهیه شده در اوایل

1- Pregnancy Specific Glycoprotein- 1a

2- Human Leukocyte Antigen

بارداری تأثیر زیادی در مهار MLR آلوزنیک ندارد (۲۶).

از طرف دیگر با نزدیک شدن به زایمان سطح سیتوکین‌های تیپ II نظیر IL-10 و IL-4 در خون مادران حامله کاهش می‌یابد و بنابراین عدم تأثیر سرم موش‌های حامله در اواخر بارداری احتمالاً مربوطه به کاهش فاکتورهای مهاری در خون مادر می‌باشد. نتایج حاصل از مطالعه حاضر در مورد مهار قدرت تحریکی سلول‌های DC توسط سرم موش‌های باردار در اواسط حاملگی با نتایج حاصل از مطالعه Badet (۲۶) در مورد مهار MLR آلوزنیک توسط سوپ دسی جوآی اواسط بارداری مطابقت و همخوانی دارد. به علاوه مطالعه Manak نشان داد که سرم اواسط حاملگی می‌تواند پاسخ تکثیری سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی را نسبت به میتوزن کاهش دهد. در حالیکه سرم اوایل و اواخر بارداری چنین تأثیری ندارد (۱۷).

بنابراین چنین به نظر می‌رسد که عوامل موجود در سرم موش‌های حامله با توانایی مهار قدرت تحریکی سلول‌های دندریتیک در اواسط حاملگی به‌طور معنی‌داری نسبت به اوایل و اواخر حاملگی بالاتر است. با توجه به نتایج این مطالعه که سرم اواسط بارداری قادر به مهار توانایی سلول‌های دندریتیک در القاء پاسخ تکثیری لنفوسیت‌های T آلوزن می‌باشد، می‌توان اظهار داشت که غلظت عوامل مهار ایمنی در سرم موش باردار نسبت به سرم نرمال به‌طور قابل ملاحظه‌ای بالاتر است.

به‌علاوه حضور فاکتورهای سرکوبگر موجود در گردش خون موش‌های حامله اواسط بارداری نسبت به اوایل و اواخر بارداری به‌طور محسوس بالاتر است، که این می‌تواند ناشی از افزایش قابل ملاحظه‌ای در غلظت فاکتورهای مهارکننده‌ای مثل IL-10، TGFβ و PGE2 در اواسط حاملگی باشد. اما غلظت این عوامل مهم سرکوبگر ایمنی در اوایل و اواخر بارداری به‌اندازه‌ای نیست که روی عملکرد DC تأثیرگذار باشد.

در مطالعه قبلی ما (۱۱) میزان بازده سلول‌های دندریتیک 7×10^6 به ازای هر طحال بود؛ ولی در این مطالعه این بازده به حدود 3×10^6 به ازای هر طحال کاهش پیدا کرد. علت اصلی این امر افزایش فوق‌العاده زیاد قدرت اتصال سلول‌های دندریتیک به سطوح پلاستیکی به دنبال تیمار کردن این سلول‌ها با سرم موش می‌باشد. با افزایش درصد سرم مورد استفاده میزان چسبندگی افزایش یافت و همین امر سبب گردید که میزان بازده سلول‌های دندریتیک پس از کشت شبانه نسبت به مواقعی که فقط از FCS استفاده می‌شد به طور قابل توجهی کاهش یابد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات سرکار خانم پروانه احمدی که تایپ مقاله را به عهده گرفته‌اند تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Medawar P.B. Some immunological and endocrinological problems raised by the evolution of viviparity in vertebrates. *Symp Soc Exp Biol.* 1953;7:320-338.
- 2- Thellin O., Heinen E. Pregnancy and the immune system: between tolerance and rejection. *Toxicology.* 2003; 185:179-184.
- 3- Mellor A.L., Munn D.H. Immunology at the maternal-fetal interface: lessons for T cell tolerance and suppression. *Annu Rev Immunol.* 2000; 18:367-91.
- ۴- مصفا نریمان، زرنانی امیرحسن، حسن زهیرمحمد. ایمونولوژی حاملگی طبیعی. انتشارات دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی شهید بهشتی (۱۳۸۲)، صفحات: ۱۸۱-۱۶۴.
- 5- Heyborne K., Silver R.M. Immunology of

- postimplantation pregnancy, In: Reproductive Immunology, Boronson R. (Editors), Blackwell scientific publications Ltd.1996; pp: 383-417.
- 6- Letellier C., Fizet D., Baltz T., Vezon G. Immunosuppressive activity of sera of pregnant women on cytotoxic T-lymphocyte-mediated cytolysis. I characterization of the active fraction. Gynecol Obstet Invest.1994; 37:1-5.
- 7- Banchereau J., Briere F., Caux C., Davoust J., Lebecque S., Liu Y.J., Pulendran B., Palucka K. Immunobiology of dendritic cells. Ann Rev Immunol.2000; 18:767-811.
- 8- Bhzrdwaj N. The modulation of immunity by dendritic cells. Clin Appl Immun Rev.2003; 3:173-82.
- 9- Pulendran B., Banchereau J., Maraskovsky E., Maliszewski C. Modulating the immune response with dendritic cells and their growth factors. Trends Immunol.2001; 22:41-47.
- 10- Sorensen A.N., and Tribe D.E. Breeding, housing and care of laboratory animals. In: World animal sciences, Ruitenber E.J., Peters P.W.J. (Editors). Elsevier science publishers.1986;pp:1-40.
- ۱۱- ژاله شجاعیان، سید محمد مؤذنی، امیرحسین زرنانی، مقایسه توانایی سلول‌های دندریتیک طحال موش‌های حامله و غیر حامله در تحریک آلورژیک لنفوسیت‌های T، فصلنامه پزشکی باروری و ناباروری، سال ۵ (۱۳۸۲)، شماره ۱، صفحات ۱۳-۵.
- 12- Erlebacher A. Why isn't the fetus rejected? Current Opinion in Immunol.2001;13:590-593.
- 13- Wolf-Levin R., Aoki K., Azuma T., Yagami Y., Okada H. Human pregnancy serum suppresses the proliferative response of lymphocytes to autologous PHA-activated T lymphoblasts. Am J Reprod Immunol.1996;35:63-69.
- 14- Domingo G.D., Moreno A., Palomino P. The effect of human pregnancy serum on the synthesis and action of interleukin-1. J Reprod Immunol.1988; 13:17-30.
- 15- Bartho J., Wegmann T.G. A progesterone-dependent immunomodulatory protein alters the Th1/ Th2 balance. J Reprod Immunol.1996; 31: 81-95.
- 16- Malinowski A., Szpakowski M., Tchorzewski H., Zeman K., Kowalczyk T., Podciechowski L., Oszukowski P. Immunomodulating properties of sera in normal pregnant women. Ginekol Pol. 1992; 63:439-446.
- 17- Manak R.C. Mitogenic responses of peripheral blood lymphocytes from pregnant and ovariectomized heifers and their modulation by serum. J Reprod Immunol.1982; 4:263-276.
- 18- Luppi P. How immune mechanisms are affected by pregnancy. Vaccine.2003; 21:3352-3357.
- 19- Tawfik O.W., Hunt J.S., Wood G.W. Implication of prostaglandin E2 in soluble factor mediated immune suppression by murine decidual cells. Am J Reprod Immunol Microbiol.1986; 12 (4):111-7.
- 20- Lila N., Carpentier A., Amrein C., Khalil-Daher I., Dausset J., Carosella E.D. Implication of HLA-G molecule in heart graft acceptance. Lancet.2000;355(9221):2138.
- 21- Hunt J.S., Jadhav L., Chu W., Geraghty D.E., Ober C. Soluble HLA-G circulates in maternal blood during pregnancy. Am J Obstet Gynecol. 2000;183(3):682-8.
- 22- Allan D.S., Mc Michael A.G., Braud V.M. The ILT family of leukocyte receptors. Immunobiology.2000;202(1):34-41. Review.
- 23- Fricc G., Laupeze B., Fardel O., Sebti Y., Pangault C., Guilloux V., Beauplet A., Fauchet R., Amiot L. Soluble HLA-G inhibits human dendritic cell-Triggered allogeneic T-cell proliferation without altering dendritic cell differentiation and maturation processes. Hum Immunol. 2003;64:752-761.
- 24- Steinbrink K., Wolfl M., Jonuleit H., Knop J., Enk A.H. Induction of tolerance by IL-10-treated dendritic cells. J Immunol.1998;159:4772-4780.
- 25- Kalinski P., Schuitemaker J.H., Hilken C.M., Kapsenberg M.L. Prostaglandin E2 induces the final maturation of IL-12-deficient CD1a⁺ CD83⁺ DCS: The levels of IL-12 are determined during the final dendritic cell maturation and are resistant to further modulation. J Immunol. 1998; 61:2804-2809.
- 26- Badet M.T., Bell S.C., Billington W.D. Immunoregulatory activity of supernatants from short-term cultures of mouse decidua tissue. J Reprod Fertil.1983;68:351-358.