بررسی ارتباط سطح سرمی فرم محلول مارکرهای CD26 و CD30 با سقط‌های مکرر خود بخودی

حسین هادی ندوشن (.Ph.D)[1]، رضا جعفری شکیب (.Ph.D)[2]، عباس افلاطونیان (.M.D)[3].

۱- استادیار، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.

۲- استادیار، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی گیلان، گیلان، ایران.

۳- دانشیار، گروه زنان، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: یافته‌هائی وجود دارد که نشان می‌دهد در انسان در طی حاملگی طبیعی، سلول‌های Th2 و در افراد با سابقه سقط‌های مکرر خود بخود Th1 از فعالیت بیشتری برخوردارند. اتصال متقاطع مارکرهای CD26 و CD3 در غشاء سلول‌های T با آنتی‌بادی‌های منوکلونال مربوطه منجر به تکثیر این سلولها و تولید IL-2 می‌شود که سایتوکین منسوب به Th1 می‌باشد. CD30 نوعی مارکر است که ترجیحاً در غشاء سلول‌هائی یافت می‌شود که سایتوکین‌های مرتبط با Th2 را تولید می‌کنند و فرم محلول آن (sCD30) هم عمدتاً توسط این سلولها ترشح می‌شود. هدف از انجام این مطالعه، تعیین ارتباط سطح سرمی فرم محلول CD26 (sCD26) به عنوان مارکر Th_1 و فرم محلول CD30 به عنوان مارکر Th_2با سقط‌های مکرر خودبخود بود. همچنین در اینجا ارتباط میزان این مولکولها با سایتوکین‌های تولید شده توسط سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش بررسی: مطالعه به صورت مورد- شاهد بر روی دو گروه مختلف ارجاعی به مرکز تحقیقاتی- درمانی ناباروری یزد انجام گرفت. گروه مورد شامل ۲۱ خانم با سابقه حداقل سه مورد سقط مکرر خودبخود و در روز سقط و گروه شاهد نیز ۳۲ خانم حامله بدون سابقه سقط و حداقل دارای یک فرزند بودند. میزان sCD26 و sCD30 در سرم و همچنین میزان اینترفرون گاما(IFNγ) اینترلوکین دو (IL-2) اینترلوکین چهار (IL-4) اینترلوکین ده (IL-10) و اینترلوکین سیزده (IL-13) در سوپرناتنت محیط کشت سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی به روش ELISA سنجش و در دو گروه مقایسه شدند.

نتایج: میزان sCD26 و sCD30 در افراد با سابقه سقط مکرر خودبخود و گروه کنترل یکسان بود. IL-2 در سوپرناتنت محیط کشت سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی افراد با سابقه سقط مکرر خودبخود بالاتر از افراد کنترل باردار بود (p=۰/۰۰۱). در حالیکه میزان IL-10 در افراد حامله بالاتر از افراد با سابقه سقط مکرر خودبخود بود (p=۰/۰۰۲). میزان سایر سایتوکینها در دو گروه یکسان بود. ارتباطی بین میزان sCD26 و sCD30 و سایتوکین‌های مورد مطالعه در دو گروه مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهد که sCD30 و sCD26 در سرم افراد با سابقه سقط مکرر به عنوان شاخصی برای پیش‌آگهی و تشخیص سقط کاربری ندارد. ولی افزایش تولید سایتوکین IL-2 و کاهش IL-10 در افراد با سابقه سقط مکرر ممکن است به عنوان عوامل خطرساز سقط در نظر گرفته شود.

کلید واژگان: سقط مکرر خودبخود، سایتوکین، sCD26، sCD30.

مسئول مکاتبه: دکتر حسین هادی ندوشن، مرکز تحقیقاتی- درمانی ناباروری یزد، صفائیه، یزد، ایران.

پست الکترونیک: hossein.hadinedoushan@adelaide.edu.au

Downloaded from http://www.jri.ir

زمینه و هدف

سقطهای مکرر خود بخود (RSA)[1] هنوز یکی از مهمترین معضلات تولیدمثل در جهان محسوب می‌شود. وقوع سه مورد یا بیشتر سقط مکرر در ۱ تا ۲٪ از خانمها در سنین باروری گزارش شده است (۱). علیرغم تعیین چندین عامل دخیل در ایجاد این عارضه، علت آن تقریباً در ۵۰٪ موارد ناشناخته است. در صدی از سقطهای مکرر ناشناخته[2] به فعالیت سیستم ایمنی مادر نسبت به آنتی‌ژن‌های جنین نسبت داده می‌شود (۲). تعادل نسبت سلول‌های T کمکی گروه یک (Th1)[3] به T کمکی گروه دو (Th2) در این افراد مورد مجادله است. سلول‌های Th1 به دنبال فعال شدن، سایتوکین‌های اینترفرون گاما (IFNγ)، اینترلوکین دو (IL-2) و فاکتور نکروز دهنده تومور بتا (TNFβ) را ترشح می‌کنند؛ در حالیکه سلول‌های Th2 قادر به سنتز سایتوکین‌های IL-5، IL-4 ، IL-10, IL-13 می‌باشند (۳). چنین استنباط می‌شود که بارداری با کاهش فعالیت سلول‌های Th1 و افزایش فعالیت سلول‌های Th2 همراه است (٤). برخی مطالعات نشان می‌دهد که در بارداری‌های طبیعی، افزایش فعالیت Th2 و در افراد با سابقه سقطهای مکرر افزایش فعالیت Th1 وجود دارد (۷-۵).

CD26 گلیکوپروتئینی به وزن مولکولی *KD* ۱۱۰ است که ترجیحاً در غشاء سلول‌های T خاطره‌ای بروز یافته و در پاسخ‌های ایمنی با واسطه سلول‌های T نقش دارد. بین بروز این مارکر و تولید IFNγ توسط سلول‌های T دارای مارکر (CD4) همبستگی وجود دارد (۸). همچنین اتصال متقاطع مارکرهای CD26 و CD3 در غشاء سلول T با آنتی‌بادی‌های منوکلونال مربوطه منجر به تکثیر این سلولها و تولید IL-2 می‌شود. به نظر می‌رسد که بروز مقادیر بالایی از این مولکول می‌تواند بیانگر میزان پاسخ ایمنی سلول‌های Th1 باشد (۹،۱۰).

CD30 نیز گلیکوپروتئینی غشائی با وزن ملکولی *KD* ۱۲۰ است که در غشاء لنفوسیتها وجود دارد و در انتقال سیگنالها نقش دارد. انتقال سیگنالها از طریق این ملکول موجب فعال شدن کلون‌هائی از سلول‌های T می‌شود که سایتوکین‌هائی با الگوی سلولی Th2 را ترشح می‌کنند (۱۱،۱۲). میزان اشکال محلول سرمی مولکول‌های CD26 (sCD26) و CD30 (sCD30) با تعداد سلول‌های عرضه‌کننده این مارکر در ارتباط است و از این رو می‌تواند به عنوان مارکری برای تعیین تعداد این سلولها به کار گرفته شود.

در این مطالعه سطح سرمی مارکرهای CD30 وCD26 در افراد با سابقه سقطهای مکرر خودبخود در روز سقط و افراد کنترل باردار تعیین و مقایسه شد. همچنین سطح سرمی این مولکولها با سایتوکین‌های IFNγ و-IL 2 (سایتوکین‌های Th1) و IL-10 ،IL-13 ،IL-4(سایتو-کین‌های Th2) در سوپرناتنت محیط کشت سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی تحریک شده با میتوژن فیتوهماگلوتینین (PHA)[4] تعیین ارتباط گردید. هدف از انجام این مطالعه علاوه بر تعیین ارتباط سطح سرمی این مارکرها با ایجاد سقطهای مکرر خودبخود، تعیین ارتباط آنها با میزان سایتوکین‌های Th1 وTh2 نیز بود.

روش بررسی

الف) افراد مورد بررسی و نوع مطالعه: مطالعه به صورت مورد- شاهد بر روی دو گروه مختلف مراجعه کننده به مرکز درمانی- تحقیقاتی ناباروری در سال ۱۳۸۲ وابسته به دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد انجام گرفت. گروه مورد شامل ۲۱ خانم با سابقه حداقل سه مورد سقط مکرر اولیه در روز سقط بود. این گروه از لحاظ سالم بودن واژن، سرویکس و لوله‌های رحمی با معاینه بالینی، سونوگرافی و در صورت نیاز با

1- Recurrent Spontaneous Abortions
2- Unexplained
3- T helper
4- Phytohemagglutinin

Downloaded from http://www.jri.ir

لاپاروسکوپ و MRI بررسی شدند و از لحاظ این موارد مشکلی نداشتند. همچنین افراد مورد بررسی با توجه به سوابق و پرونده‌های موجود دارای هورمون‌های پرولاکتین FSH, LH و هورمون‌های تیروئیدی طبیعی بودند. کاریوتیپ مراجعین و همسر آنها طبیعی بود. سرم آنها فاقد آنتی‌بادی کلاس IgM بر علیه توکسوپلاسما، روبلا، هرپس سیمپلکس و سیتومگالوویروس بود[1]. گروه شاهد نیز شامل ۳۲ خانم حامله بدون سابقه سقط و حداقل دارای یک فرزند بودند و از لحاظ سنی با گروه مورد یکسان بودند. سن جنین خانم‌های باردار با سن جنین خانمها با سابقه سقط در آخرین مورد سقط نیز تقریباً یکسان بود. در بررسی هر دو گروه از لحاظ آنتی‌فسفولیپید آنتی‌بادی (APA)[2] از کلاس‌های IgM، IgG به روش الایزا (Orgentec Diagnosticka GmbH, France)، آنتی‌کاردیولیپین آنتی‌بادی (ACL)[3] از کلاس‌های IgM، IgG، IgA (به روش الایزا Diasorin, Italy) و آنتی- نوکلئار آنتی‌بادی (ANA)[4] از کلاس‌های IgM و IgG (به روش الایزا Diagnostic Automation, Canada)در سرم منفی بودند. از افراد مورد مطالعه $10ml$ خون هپارینه گرفته شد و پرسشنامه‌ای شامل متغییرهای سن، مدت ازدواج، تعداد سقط، سن جنین در آخرین مورد سقط در گروه مورد و نیز تعداد دفعات بارداری برای گروه شاهد تهیه شد. از هر نمونه $2ml$ سرم جدا شده و تا جمع‌آوری کامل نمونه‌ها در $-70\ ^{o}C$ منجمد شد.

ب) کشت سلولها و تهیه سوپرناتنت: سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (PBMC)[5] با سانتریفوژ گرادیان و به کمک Ficoll (Pharmacia, Biotech, Sweden) جدا و پس از دو بار شستشو با بافر فسفات (PBS)[6] در محیط کشت سلولی RPMI-1640 (Gibco-BRL, USA) حاوی $100\ IU/ml$ پنی سیلین، $100\ \mu g/ml$ استرپتومایسین، $2\ mM/L$ L- گلوتامین و ۱۰٪ از سرم جنین گاوی (FBS)[7] (Gibco, BRL USA) به صورت سوسپانسیون در آمد. تعداد 10^{6} از این سلولها در $1\ ml$ از محیط کشت فوق در پلیت‌های چهارخانه مخصوص محیط کشت سلول (Nunc, Denmark) به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور $37\ ^{o}C$ و حاوی دی‌اکسید کربن ۵٪ در حضور $5\ \mu g/ml$ از میتوژن فیتوهماگلوتیئین (PHA) (Sigma, Chemical, USA) کشت داده شد. آنگاه سوپرناتنت محیط کشت این سلولها در ویال‌های اپندورف تا جمع‌آوری کامل نمونه‌ها در $-70\ ^{o}C$ منجمد شد.

پس از تهیه کامل نمونه‌ها، آزمون ELISA برای تعیین میزان سرمی sCD26 و sCD30 بر روی سرم و تعیین سایتوکین‌های IL-13، IL-10، IL-4، IL-2 و IFNγ در سوپرناتنت محیط کشت سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی براساس دستورالعمل کیت‌های مربوطه انجام شد (Bender Medsystem Viena, Austria).

ج)روش اندازه‌گیری سایتوکینها و مارکرهای محلول به روش ELISA: در تمام کیت‌های مورد سنجش سایتوکینها، آنتی‌بادی علیه سایتوکین مربوطه در کف حفره‌ها قرار داده شده بود. نمونه‌های مورد مطالعه به همراه استانداردها به حفره‌ها اضافه شد و پس از مدت معینی انکوبه شدن و شستشو، آنتی‌بادی منوکلونال علیه سایتوکین و متصل به بیوتین و استرپتوآویدین متصل به آنزیم پراکسیداز (HRP) در حجم معینی به آنها اضافه شد. پس از انکوبه شدن و شستشوی مجدد، با اضافه کردن سوبسترا (H_2O_2) و کروموژن (TMB) و انکوبه شدن در زمان معین، متناسب با مقدار سایتوکین رنگ آبی ظاهر شد. در این مرحله، واکنش با اضافه کردن محلول متوقف کننده (اسید کلریدریک مولار) پایان یافت و شدت رنگ حاصله (OD) در طول

1- TORCH negative
2- Antiphospholipid Antibody
3- Anticardiolipin Antibody
4- Antinuclear Antibody
5- Peripheral Blood Mononuclear Cells
6- Phosphate Buffer Salin
7- Fetal Bovine Serum

Downloaded from http://www.jri.ir

موج ٤٥٠*nm* و طول موج رفرانس ٦٢٠*nm* خوانده شد. براساس میزان شدت رنگ استانداردها و غلظت آنها منحنی استاندارد رسم و غلظت سایتوکینها براساس این منحنی محاسبه گردید. حداقل میزان اندزه‌گیری سایتوکین‌های Il-13, IL-10, IL-4, IL-2 و IFNγ براساس دستورالعمل کیت‌های مربوطه به ترتیب *pg/ml* ٢/٣، ١، ١/٥، ١و١ بود. همچنین این مقادیر برای sCD30و sCD26 نیز به‌ترتیب*U/ml* ٠/٣٣و*ng/ml* ١١ بود.

د) آنالیز آماری: نتایج با نرم افزارآماری SPSS ویرایش ١١/٥ مورد ارزیابی قرار گرفت. برای مقایسه میانگین متغییرها در دو گروه مورد مطالعه از آزمون Independent sample t-test و برای تعیین همبستگی بین متغیرها از ضریب همبستگی Pearson استفاده شد. در تمام آزمونها $p<0/05$ از لحاظ آماری معنی‌دار تلقی گردید.

نتایج

در این مطالعه ٢١ خانم با سابقه سقط مکرر در روز سقط به عنوان مورد و ٣٢ خانم حامله بدون سابقه سقط به عنوان شاهد مورد بررسی قرار گرفتند. طیف سنی افراد در گروه مورد ٣٥- ٢١ سال و در گروه شاهد نیز ٣٦-٢٠ سال بود. میانگین سنی در دو گروه مورد مطالعه تقریباً یکسان بود (میانگین ٢٧/٩٥ در گروه مورد و ٢٨/١٢ سال در گروه شاهد). میانگین سن جنین در آخرین مورد سقط در گروه مورد ١١/٢٤ هفته بود. مشخصات دموگرافیک افراد مورد مطالعه در جدول شماره ١ آورده شده است.

سطح سرمی sCD26 در خانمها با سابقه سقط مکرر حداقل ٤٢٥ و حداکثر *ng/ml* ٧٤٤/٥ بود. همچنین میزان این مارکر در خانم‌های باردار بدون سابقه سقط حداقل ٤١٦/٥ و حداکثر *ng/ml* ٩٨٥/٢ بود.

سطح سرمی sCD30 نیز در افراد با سابقه سقط مکرر حداقل ٣/٢ و حداکثر *U/ml* ١٩٥/٢ و در گروه فاقد سابقه سقط حداقل ٩/٦ و حداکثر *U/ml* ١٦٢/٤ بود.

بین میزان سطح سرمی sCD26 در افراد با سابقه سقط (٥٨٣/٧±١٣/٥) و افراد فاقد سابقه سقط (٥٦٦/٦±٢٤/٣) تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. همچنین میزان سطح سرمی sCD30 در افراد با سابقه سقط (٢٩/٢±٥/٤) و افراد کنترل بدون سابقه سقط (٣٤/٦±٣/٤) یکسان بود ($p=0/43$).

میزان IL-2 در سوپرناتنت محیط کشت سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی در افراد با سابقه سقط‌های مکرر خودبخود به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود ($p=0/001$). میزان IL-10 درسوپرناتنت محیط کشت سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی در افراد بدون سابقه سقط به طور معنی‌داری بیشتر از افراد با سابقه سقط مکرر خودبخود بود ($p=0/002$). میزان IL-4، IL-13 و IFNγ در دو گروه مورد بررسی یکسان بود (جدول شماره ٢).

ارتباط آماری معنی‌داری بین سطح سرمی sCD26 با

جدول ١ – مشخصات دموگرافیک افراد با سابقه سقط مکرر وافراد حامله کنترل در گروههای مورد (خانمها با سابقه سقط) و شاهد (خانمهای حامله) در مراجعه کنندگان به مرکز درمان ناباروری یزد

گروهها M±SD / متغیر	گروه مورد (خانمها با سابقه سقط مکرر) (n=٢١)	گروه شاهد (خانمهای حامله بدون سابقه سقط) (n= ٣٢)
سن *(سال)*	٢٧/٩٥± ٣/٨	٢٨/١٢± ٤/١٧
مدت ازدواج *(سال)*	٧/٩٨± ٣/٢٥	٨/١٥± ٤/٥٩
دامنه تعداد سقط یا حاملگی	٣-١٠	٢-٤
میانگین تعدادآخرین مورد سقط یا حاملگی	٣/٧٢± ١/٢	٢/٥٣±٠/٧٢
میانگین سن جنین در آخرین مورد سقط یا حاملگی *(هفته)*	١١/٢٤± ٣/٥٧	١١/٤٧±٣/٩٤

Downloaded from http://www.jri.ir

جدول ۲- غلظت سایتوکینها در سوپر ناتنت محیط کشت سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی در گروههای مورد (خانمها با سابقه سقط) و شاهد (خانم‌های حامله) در مراجعه کنندگان به مرکز درمان ناباروری یزد

غلظت سایتوکینها * M±SEM / متغیر	IL - 2	IL - 4	IL - 10	IL - 13	IFNγ
گروه مورد (خانمها با سابقه سقط مکرر)	۱۸۲۹/٤±٥۱٤	۷۹/۱±۸/۳	٤۱٤/٦±۱۲۱/۳	٤٥۰/٤±٦۳/٥	۸۸۸/۹±۹۸
گروه شاهد (خانمهای حامله بدون سابقه سقط)	۳۷۸/٦±٦٤/۹	۹۳/۳±۹/٤	۸۷۹/۹±۱۱۰/۳	٥٥۲/۳±٤۷/٥	٦۸٥/۹±۷۹/۷
P-value	۰/۰۰۱	۰/٥۴	۰/۰۰۲	۰/۴	۰/۱۱۹

*غلظت سایتوکین ها بر حسب واحد *Pg/ml* می باشد.

غلظت سایتوکین‌های مورد سنجش در سوپرناتنت محیط کشت سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی در هیچکدام از گروه‌ها وجود نداشت. همچنین بین سطح سرمی sCD30 با غلظت سایتوکین‌های مربوطه در سوپرناتنت محیط کشت در دو گروه مورد مطالعه ارتباطی مشاهده نشد.

بحث

پاسخ‌های ایمنی ناهنجار سیستم ایمنی مادر نسبت به آنتی‌ژن‌های جنینی به عنوان یکی از فاکتورهای پاتوژنیک دخیل در سقط‌های مکررخودبخود محسوب می‌شوند (۱۳). در بخشی از این مطالعه با این فرض که میزان sCD26 با فعالیت سلول‌های Th1 و میزان sCD30 با میزان فعالیت Th2 در ارتباط است سطح سرمی مارکرهای sCD26 و sCD30 در خانمها با سابقه سقط مکرر در روز سقط و خانم‌های حامله فاقد سابقه سقط تعیین و مقایسه شد. نتایج این مطالعه نشان داد که میزان سرمی هر دو مارکر در دو گروه مورد بررسی یکسان است. سطح سرمی این مارکرها در برخی از بیماریها تعیین شده است. مطالعه بر روی افراد تحت دیالیز نشان داده است که سطح سرمی sCD26 در این افراد نسبت به کنترل کمتر و سطح سرمی sCD30 در آنها بیشتر از کنترل سالم است (۱٤). افزایش سطح سرمی sCD26 و sCD30 در بیماران مبتلا به درماتیت اتوپیک در مقایسه با افراد کنترل بالاتر گزارش شده است (۱٥). همچنین افزایش سطح سرمی sCD30 در افراد با تورمورهای بدخیم استخوان مشاهده شده است (۱٦). Makhseed و همکاران سطح سرمی sCD30 را در ۲۳ خانم با سابقه سقط مکرر و ۲۸ خانم فاقد سابقه سقط به عنوان کنترل تعیین و مقایسه کردند. نتایج آنها نشان داد که میزان سرمی sCD30 در این دو گروه تفاوتی ندارد (۱۷)؛ که با یافته‌های مطالعه حاضر یکسان است.

مقایسه تعداد سلول‌های T دارای مارکر CD26 در خون محیطی و تعیین غلظت سایتوکین‌های IL-10، IL-4، TNFα، IFNγ در سرم ۲۰ خانم با سابقه سقط مکرر و ۲۷ خانم باردار فاقد سابقه سقط حاکی از آنست که تفاوتی در تعداد این سلولها و همچنین غلظت سایتوکین‌های مربوط در دو گروه وجود ندارد (۱۸). همچنین Hashimoto و همکاران با اندازه‌گیری سطح سرمی sCD26 و sCD30 در طی بارداری نشان دادند که آنالیز همزمان این دو مارکر می‌تواند تعیین کننده تعادل Th1/Th2 در این افراد باشد (۱۹). سنجش سطح سرمی sCD26 در افراد با سابقه سقط‌های مکرر در این پژوهش برای اولین بار مورد مطالعه قرار گرفته است. یافته‌های این مطالعه بیانگر این مطلب است که تعیین سطح سرمی این مارکرها در افراد با سابقه سقط کاربردی نداشته و میزان غلظت آنها در سرم با ایجاد سقط‌های مکرر خودبخود ارتباطی ندارد.

مطالعاتی وجوددارد که نشان‌می‌دهد میزان این مارکرها

Downloaded from http://www.jri.ir

با تعادل فعالیت سلول‌های Th1 و Th2 در ارتباط است (۲۰). برای تعیین میزان فعالیت سلول‌های T کمکی، سایتوکین‌های مترشحه از این سلولها سنجش می‌شود. سایتوکینها، پپتیدهایی هستند که به عنوان سیگنال‌های رابط پاسخ‌های ایمنی عمل می‌کنند. آنها مدیاتورهای احتمالی در ناهنجاری‌های پاسخ‌های ایمنی در دوره بارداری در نظر گرفته می‌شوند (۱۳).

در بخش دیگری از این بررسی برای تعیین میزان فعالیت Th2 و Th1، میزان سایتوکین‌های IFNγ، IL-2 (Th1) و IL-4، IL-10، IL-13 (Th2) در سوپرناتنت محیط کشت سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی تحریک شده با میتوژن اندازه‌گیری شد. یافته‌های حاصل نشان می‌دهد که غلظت IL-2 در افراد با سابقه سقط مکرر در مقایسه با خانم‌های باردار با سن جنین یکسان به طور معنی‌داری بالاتر است. مطالعات چندی وجود دارند که غلظت این سایتوکین را در سوپرناتنت محیط کشت افراد با سابقه سقط مکرر مورد سنجش قرار داده‌اند. نتیجه این مطالعه یافته‌های برخی از این مطالعات را تایید می‌کند (۷-۵).

براساس شواهد موجود IFNγ در رشد و عملکرد سلول‌های تروفوبلاست انسان اخلال ایجاد کرده (۲۱) و سبب سقط در موش می‌شود (۲۲). در این مطالعه تفاوت معنی‌داری در میزان غلظت این سایتوکین در دو گروه مورد مطالعه مشاهده نشد. محققان دیگری نیز نتایج مشابه (۲۳،۲٤) و یا بر خلاف این نتایج گزارش نموده‌اند (٦،۷). نکته قابل توجه آن است که در مقایسه گروه دارای سابقهٔ سقط مکرر با گروه کنترل افزایش معنی‌دار غلظت IL-2 دیده شد. هرچند میانگین غلظت سایتوکین دیگر منسوب به Th1 یعنی IFNγ در افراد با سابقه سقط بیشتر از گروه کنترل بود؛ اما این تفاوت معنی‌دار نبود. این عدم همخوانی ممکن است ناشی از این واقعیت باشد که سلول‌های دیگری غیر از Th1 نیز در محیط کشت قادر به سنتز این سایتوکینها هستند.

چنانچه سلول‌های لنفوسیت B و منوسیتها توانائی سنتز IL-2 را دارا بوده و سلول‌های NK نیز می‌توانند سایتوکین IFNγ را بسازند که در مجموعه سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی وجود دارند (۱۳) و یا اینکه میزان مصرف این سایتوکینها در محیط کشت متفاوت است. از بین سایتوکین‌های منسوب به سلول‌های Th2، این مطالعه فقط قادر به تعیین افزایش غلظت سایتوکین IL-10 در افراد باردار در مقایسه با افراد با سابقه سقط مکرر خودبخود بود که با نتایج دیگران مطابقت دارد (۷-۵). در انسان، بر خلاف موش IL-10 به عنوان سایتوکین مختص سلول‌های Th2 در نظر گرفته نمی‌شود و سلول‌های مختلفی قادر به سنتز آن می‌باشند (۲۵). منشاء اصلی این سایتوکین در خون محیطی، سلول‌های لنفوسیت B و ماکروفاژها هستند (۲٦). ضمن اینکه باید نقش سلول‌های T تنظیمی یک (Tr1)[1] را نیز در تولید این ماده در نظر گرفت (۲۷). عدم تفاوت در غلظت سایتوکین‌های IL-13، IL-4 در گروه‌های مورد بررسی به معنی یکسان بودن فعالیت سلول‌های Th2 در این افراد است. یکسانی غلظت IL-4 در افراد با سابقه سقط مکرر و گروه کنترل در برخی از مطالعات ذکر گردیده‌اند (۲٤،۲۵،۲۸)؛ در حالیکه گزارشاتی نیز وجود دارد که حاکی از کاهش غلظت این سایتوکین در افراد با سابقه سقط مکرر در مقایسه با گروه کنترل است (۷-۵). تعیین غلظت IL-13 در سوپرناتنت محیط کشت سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی افراد با سابقه سقط مکرر و کنترل باردار برای اولین باردر این مطالعه انجام گرفت.

عدم همخوانی برخی از یافته‌های این بررسی با نتایج دیگر محققان، می‌تواند ناشی از انتخاب افراد مورد و شاهد باشد. چنانچه برخی از مطالعات، خانم‌های با سابقه سقط مکرر را در زمانی غیر از روز سقط به عنوان مورد و یا خانم‌های غیرباردار و یا در زمان

1- T regulatory1

Downloaded from http://www.jri.ir

زایمان و فاقد سابقه سقط را به عنوان شاهد مورد بررسی قرار داده‌اند. همچنین استفاده از روش‌های مختلف تحریک سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی ومدت زمان تحریک آنها و نوع آزمون‌های به کار گرفته شده برای سنجش سایتوکینها نیز ممکن است در این امر دخیل باشد.

به طور خلاصه، نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که سنجش sCD30 وsCD26 در سرم افراد با سابقه سقط مکرر به عنوان اندیکاتور سقط کاربری ندارد. افزایش تولید سایتوکین IL-2 و کاهش IL-10 در افراد با سابقه سقط مکرر ممکن است به عنوان ریسک فاکتورهای سقط در نظر گرفته شود. علاوه بر این پذیرش مطلق این واقعیت که در بارداری‌های موفق شیفت فعالیت Th1 به Th2 رخ می‌دهد نیز صحیح نمی‌باشد.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران برای تصویب طرح و تهیه مواد و وسائل مورد نیاز و جناب آقای حسین فضلی به خاطر تهیه نمونه‌ها قدردانی و تشکر می‌شود.

References

1- Regan L. Overview of recurrent miscarriage. Gynaecol Forum.1998;3:3-7.

2- Laird S.M., Tuckerman E.M., Cork B.A., Linjawi S., Blakemore A.I., Li T.C. A review of immune cells and molecules in women with recurrent miscarriage. Hum Reprod Update. 2003; 9(2):163-74.

3- Mosmann T.R., Sad S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. Immunol Today.1996 ;17(3):138-46.

4- Raghupathy R. Th1-type immunity is incompatible with successful pregnancy. Immunol Today.1997;18 (10):478-82.

5- Raghupathy R., Makhseed M., Azizieh F., Omu A., Gupta M., Farhat R. Cytokine production by maternal lymphocytes during normal human pregnancy and in unexplained recurrent spontaneous abortion. Hum Reprod.2000;15(3):713-18.

6- Makhseed M., Raghupathy R., Azizieh F., Al-Azemi M.M., Hassan N.A., Bandar A. Mitogen-induced cytokine responses of maternal peripheral blood lymphocytes indicate a differential Th-type bias in normal pregnancy and pregnancy failure. Am J Reprod Immunol. 1999;42(5):273-78.

7- Marzi M., Vigano A., Trabattoni D., Villa M.L., Salvaggio A., Clerici E., Clerici M. Characterization of type 1 and type 2 cytokine production profile in physiologic and pathologic human pregnancy. Clin Exp Immunol. 1996;106(1):127-33.

8- Morimoto C., Schlossman S.F. The structure and function of CD26 in the T-cell immune response. Immunol Rev.1998;161:55-70.

9- Fleischer B. CD26: a surface protease involved in T-cell activation. Immunol Today.1994;15(4): 180-84.

10- Dong R.P., Morimoto C. Role of CD26 for CD4 memory T cell function and activation. Hum Cell.1996 ;9(3):153-62.

11- Del Prete G., De Carli M., Almerigogna F., Daniel C. K., D'Elios M.M., Zancuoghi G., et al. Preferential expression of CD30 by human CD4+ T cells producing Th2-type cytokines. FASEB J. 1995;9(1):81-6.

12- Romagnani S., Del Prete G., Maggi E., Chilosi M., Caligaris-Cappio F., Pizzolo G. CD30 and type 2 T helper (Th2) responses. J Leukoc Biol.1995;57(6):978.

13- Veenstra van Nieuwenhoven A.L., Heineman M.J., Faas M.M. The immunology of successful pregnancy, Hum Reprod Update. 2003;9(4):347-57.

14- Nakao K., Nagake Y., Okamoto A., Ichikawa H., Yamamura M., Makino H. Serum levels of soluble CD26 and CD30 in patients on hemodialysis. Nephron. 2002;91(2):215-21.

15- Katoh N., Hirano S., Suehiro M., Ikenaga K., Yamashita T., Sugawara N., et al. Soluble CD30 is more relevant to disease activity of atopic dermatitis than soluble CD26. Clin Exp Immunol. 2000;121(2): 187-92.

16- Holzer G., Pfandlsteiner T., Blahovec H., Trieb K., Kotz R. Serum concentrations of sCD30 and sCD40L in patients with malignant bone tumours. Wien Med Wochenschr.2003;153(1-2): 40-2.

17- Makhseed M., Raghupathy R., Azizieh F., Farhat R., Hassan N., Bandar A. Circulating cytokines and CD30

Downloaded from http://www.jri.ir

Circulating interferon-gamma and interleukin-4-secreting cells in recurrent spontaneous abortion. Am J Reprod Immunol.1999;41(4):257-63.

24- Bates M.D., Quenby S., Takakuwa K., Johnson P. M., Vince G.S. Aberrant cytokine production by peripheral blood mononuclear cells in recurrent pregnancy loss. Hum Reprod.2002; 17(9):2439-44.

25- Yssel H., De Waal Malefyt R., Roncarolo M.G., Abrams J.S., Lahesmaa R., Spits H., et al. IL-10 is produced by subsets of human CD4+ T cell clones and peripheral blood T cells. J Immunol.1992;149(7):2378-84.

26- Borish L. IL-10: evolving concepts. J Allergy Clin Immunol.1998;101(3):293-97.

27- Horwitz D.A., Zheng S.G., Gray J.D. The role of the combination of IL-2 and TGF-beta or IL-10 in the generation and function of CD4+ CD25+ and CD8+ regulatory T cell subsets. J Leukoc Biol.2003;74(4): 471-78.

28- Wilson R., Moor J., Jenkins C., Miller H., Walker J. J., McLean M.A., et al. Abnormal first trimester serum interleukin 18 levels are associated with a poor outcome in women with a history of recurrent miscarriage. Am J Reprod Immunol.2004;51(2):156-59.

in normal human pregnancy and recurrent spontaneous abortions. Hum Reprod.2000;15(9):2011-17.

18- Sehmsdorf U.S., Zenclussen A.C., Arck P., Hertwig K., Joachim R.A., Klapp B., et al. Human miscarriage is associated with increased number of CD26 decidual lymphocytes. Scand J Immunol. 2004;59(4):400-7.

19- Hoshimoto K., Ohta N., Ohkura T., Inaba N. Changes in plasma soluble CD26 and CD30 during pregnancy: markers of Th1/Th2 balance? Gynecol Obstet Invest.2000;50(4):260-63.

20- Keane N.M., Price P., Lee S., Stone S.F., French M. A. An evaluation of serum soluble CD30 levels and serum CD26 (DPPIV) enzyme activity as markers of type 2 and type 1 cytokines in HIV patients receiving highly active antiretroviral therapy. Clin Exp Immunol. 2001;126(1):111-16.

21- Yui J., Garcia-Lloret M., Wegmann T.G., Guilbert L. Cytotoxicity of tumor necrosis factor--α (TNF-α) and gamma interferon (IFN-γ) against primary human placental trophoblasts. Placenta.1994;15:819-28.

22- Chaouat G., Menu E., Clark D.A., Dy M., Minkowski M., Wegmann T.G. Control of fetal survival in BA_DBA/2mice by lymphokine therapy. J Reprod Fertil.1990;89:447-57.

23- Palfi M., Jablonowska B., Matthiesen L., Ernerudh J.

Downloaded from http://www.jri.ir