

## نقش سلولهای کشنده طبیعی خون محیطی در سقطهای مکرر خودبخود

دکتر حسین هادی ندوشن<sup>۱</sup> ، دکتر ماهرو میراحمدیان<sup>۲</sup> ، دکتر عباس افلاطونیان<sup>۳</sup> ، دکتر فیروزه اکبری اسبق<sup>۴</sup>

### چکیده

**مقدمه:** سقطهای مکرر خود بخود به سقط مکرر سه یا بیشتر جنین قبل از هفته بیستم حاملگی اطلاق می‌شود. شیوع این عارضه در خانم‌های بارور حامله ۱ - ۰/۸٪ است. علیرغم تعیین چندین فاکتور در ایجاد این عارضه ، تقریباً ۶۰٪ موارد علت سقط نامشخص است. نقش سیستم ایمنی در ایجاد سقطهای مکرر خودبخود نامشخص مورد توجه می‌باشد.

**روش بررسی:** این مطالعه از نوع مورد-شاهد و با استفاده از روش فلوسیتومتری ، میزان سیتوتوکسیسته سلولهای NK (Natural Killer Cells) خون محیطی در سه گروه مورد مقایسه قرار گرفت. در گروه I ، ۲۱ خانم با سابقه سقط مکرر خود بخود در روز سقط سوم یا بیشتر، در گروه II ، ۳۲ خانم با سابقه حداقل سه مورد سقط قبلی که حداقل سه ماه از زمان آخرین مورد سقط آنها می‌گذشت به عنوان مورد و در گروه III نیز ۳۲ خانم حامله که سن جنین آنها مشابه سن جنین خانم‌های گروه I در زمان سقط بوده و حداقل یک زایمان داشته و فاقد هر گونه سابقه سقط بودند به عنوان شاهد قرار داشتند.

**نتایج:** تفاوتی از لحاظ سن در گروههای مورد بررسی وجود نداشت. میزان سیتوتوکسیسته سلولهای NK در تمام نسبتهای سلولهای عمل‌کننده به هدف در گروه I ( $p \leq 0.045$ ) و II ( $p \leq 0.002$ ) نسبت به گروه III به طور معنی‌داری بالاتر بود. میزان سیتوتوکسیسته سلولهای NK در گروه I و II یکسان بود. بین سن، تعداد سقط و میزان سیتوتوکسیسته سلولهای NK ارتباط معنی‌داری وجود نداشت.

**نتیجه‌گیری:** نتایج ما نشان می‌دهد که میزان سیتوتوکسیسته سلولهای NK افراد با سابقه سقط مکرر نسبت به کنترل بالاتر است. افزایش میزان سیتوتوکسیسته سلولهای NK را می‌توان بعنوان یک ریسک فاکتور برای سقط مکرر در نظر گرفت و برای ایجاد حاملگی نرمال، میزان سیتوتوکسیسته سلولهای NK را باید کاهش داد. در طی سه ماهه اول حاملگی در افراد با سابقه سقط مکرر میزان سیتوتوکسیسته سلولهای NK تغییری نمی‌کند. بررسی روتین میزان سیتوتوکسیسته سلولهای NK در افراد با سابقه سقط مکرر پیشنهاد می‌شود.

### واژه‌های کلیدی: سلولهای کشنده طبیعی ، سقط مکرر خودبخود ، سیتوتوکسیسته

### مقدمه

حاملگی محسوب می‌شود به وقوع سقط مکرر سه یا بیشتر جنین قبل از هفته بیستم حاملگی اطلاق می‌شود. شیوع این عارضه ۰/۸ تا ۱ درصد در خانم‌های حامله است<sup>(۱)</sup>. در ایجاد سقطهای مکرر، آنومالیهای کروموزومی ۵٪ ، اختلالات آندوکرینی ۱۷٪ ، عوامل عفونی ۵٪ ، آنتی فسفولیپید آنتی‌بادیها ۵-۳٪ دخیل بوده و بقیه را به عوامل نامشخص نسبت می‌دهند. در گروه عوامل نامشخص نقش سیستم ایمنی مورد توجه بوده و سلولهای کشنده طبیعی (Natural Killer Cells) NK از اهمیت خاصی برخوردارند<sup>(۲)</sup>.

سلولهای NK جزء سیستم ایمنی ذاتی بوده که در دفاع علیه

سقطهای مکرر خود بخود که یکی از مهمترین معضلات

۱- عضو هیات علمی گروه ایمونولوژی

۲- استاد گروه ایمونولوژی

۳- دانشیار گروه زنان و زایمان

۴- استاد گروه زنان و زایمان

۳- دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید صدوقی یزد

۴- دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تهران

## روش بررسی

**(الف) نوع مطالعه و روش نمونه گیری:** مطالعه بصورت مورد-شاهد در سه گروه مختلف انجام گرفت. گروه I خانم‌ها با سابقه سقطهای مکرر خودبخود در روز سقط سوم یا بیشتر (۲۱ نفر)، گروه II خانم‌ها با سقطهای مکرر که سابقه حداقل سه مورد سقط قبلی داشته و حداقل سه ماه از زمان آخرین سقط آنها می‌گذشت (۳۲ نفر) بعنوان مورد و گروه III نیز خانم‌های حامله که سن جنین آنها مشابه سن جنین خانم‌های گروه I در آخرین مورد سقط بود و حداقل یک زایمان طبیعی داشته و فاقد هرگونه سابقه سقط بودند (۳۲ نفر)، به عنوان شاهد مورد بررسی قرار گرفتند. در گروه‌های مورد افرادی که علت سقط آنها آناتومیکی، هورمونی، اختلال کروموزومی بود و یا از لحاظ سندرم

(Toxoplasma Rubella Cytomegalovirus Herpes Simplex) TORCH مثبت بودند، از مطالعه کنار گذاشته شدند. همچنین آزمونهای ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay Test) بر روی تمام نمونه‌های سرم افراد مورد بررسی برای تعیین آنتی‌فسفولیپید آنتی‌بادی (Anti-Phospholipide Antibody) APA از کلاس IgM و آنتی‌کاردیولیپین آنتی‌بادی (Anti-Cardiolipine Antibody) ACL (بر اساس IgG و IgA، IgM از کلاسهای IgG و IgA) دستورالعمل کیت (DiaSorin)، آنتی‌نوکلئار آنتی‌بادی (Anti-Neuclear Antibody) ANA از کلاسهای IgG و IgM (طبق دستورالعمل کیت Diagnostic Automation) انجام گرفت و افرادی که از لحاظ یکی از کلاسهای این سه نوع اتوآنتی‌بادی مثبت بودند نیز از مطالعه حذف شدند. نمونه‌های سقط اکثراً از بیمارستان مادر و مرکز ناباروری و نمونه‌های حامله از مرکز بهداشت اکبری وابسته به دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد تهیه شدند. از افراد مورد مطالعه پس از اخذ رضایت آنها ۱۰ میلی‌لیتر خون هپارینه تهیه و پرسرنامهای شامل متغیرهای سن، مدت ازدواج، تعداد سقط، سن جنین در آخرین سقط و از افراد حامله نیز سن جنین و تعداد حاملگی فراهم شد.

**(ب) روش آماده سازی نمونه‌های مورد آزمایش:** با استفاده از سانتریفوژ گرادیان بر روی فایکول سلولهای تک هسته‌ای خون محیطی جداگردید و پس از سه بار شستشو با محیط کشت RPMI-1640، غلظت آنها به  $5 \times 10^6/ml$  رسانده و به

پاتوژنهای عفونی و سلولهای سرطان نقش مهمی دارند. این سلولها تقریباً ۱۰٪ کل لنفوسیت‌های خون محیطی را شامل شده و حامی مارکرهای CD56 و CD16 بوده و بر خلاف سلولهای T مارکر CD3 را بروز نمی‌دهند. گیرنده‌های NK به دو دسته گیرنده‌های مهایری و گیرنده‌های فعال‌کنندگی تقسیم می‌شوند. یکی از گیرنده‌های مهایری مولکول KIR2DL4 است که قادر به شناسایی مولکول (Major Histocompatibility Complex) MHC کلاس یک غیر کلاسیک به نام HLA-G (Human Leukocyte Antigen-G) می‌باشد. این مولکول با پلی مورفیسم ژنی کم منحصرأ بر سطح تروفوبلاستهای خارج ویلوسی جنینی بروز می‌کند که دسیدئا را در طی مراحل اولیه حاملگی مورد هجوم قرار می‌دهد.<sup>(۳)</sup>

از آنجا که واکنش سلولهای NK با مولکول HLA-G بر سطح سلولهای هدف منجر به مهار فعالیت این سلولها می‌شود چنین استنباط می‌شود که نحوه تماس سلولهای NK با تروفوبلاست در ایجاد لانه‌گزینی موفق و تشکیل جفت اهمیت فراوانی داشته و هر گونه اختلال در این ارتباط به خصوص در طی سه ماهه اولیه حاملگی می‌تواند منجر به سقط شود.<sup>(۴)</sup> برخی از مطالعات نشان می‌دهد که در طی حاملگی تعداد سلولهای NK خون محیطی کاهش یافته و در واقع افزایش تعداد این سلولها می‌تواند به عنوان یکی از علائم بروز سقط مکرر باشد. مطالعاتی در جهت تعیین تعداد این سلولها در سقطهای مکرر صورت گرفته است. تعیین میزان سیتوتوکسیسته می‌تواند در درمان این افراد و نیز پیش‌آگهی نتیجه حاملگی کاربری داشته باشد.<sup>(۵)</sup>

برای تعیین میزان سیتوتوکسیسته سلولهای NK عمدتاً از مجاورت این سلولها با سلولهای سرطانی K562 استفاده می‌شود. این سلولها که از رده سلول لوسمی اریترومیلوبلاستیک می‌باشند فاقد مولکولهای MHC بوده و به لیز توسط سلولهای NK حساس هستند. میزان سیتوتوکسیسته عمدتاً با روش فلوسیتومتری و روش سنجش آزادسازی کرومیوم اندازه‌گیری می‌شود.<sup>(۶)</sup> در این مطالعه میزان سیتوتوکسیسته سلولهای NK خون محیطی در خانم‌ها با سابقه سقطهای مکرر خودبخود در زمان سقط و افراد با سابقه سقط مکرر قبلی و نیز افراد حامله بدون هرگونه سابقه سقط باروش فلوسیتومتری بررسی و با یکدیگر مقایسه شده است.

۳۷ درجه سانتی گراد با اتمسفر ۵٪ از CO<sub>2</sub> انکوبه می شدند. بعد از انکوباسیون لوله‌ها با ۰/۵ ml از محیط RPMI-1640 شستشو داده شده و با ۳۰۰ μl از فرمالدئید ۲٪ فیکس می شدند و آنالیز نتایج با دستگاه Facs Calibur Becton Dickinson انجام می شد. پارامترهای Forward Scatter و Side Scatter برای ایجاد ناحیه Gate استفاده شد. dot plot دو پارامتری برای فلورسانس رنگ PI (log F13) و رنگ PKH2 (log F11) برای تعیین درصد سلولهای هدف مرده استفاده شد. برای تعیین سیتوتوکسیسیته سلولهای NK لازم است که سلولهای هدف مرده در نمونه کنترل که دچار لیز خودبخود شده‌اند از تمام نمونه‌ها کسر شود. شکل (۱) به عنوان مثال، میزان سیتوتوکسیسیته سلولهای NK را در نسبت های ۵۰:۱، ۲۵:۱ و ۱۲:۵:۱ به ترتیب ۳۴/۲۲، ۲۸/۴۱ و ۲۳/۳۹ نشان می دهد که این اعداد می بایست از تعداد سلولها با لیز خودبخود(حدود ۵-۱٪) کسر شود<sup>(۵)</sup>.

Ouad	Event	% Gated	%Total
UL	0	0.00	0.00
UR	1017	34.22	19.43
LL	54	1.82	1.03
LR	1901	63.96	36.31

Ouad	Event	% Gated	%Total
UL	2	0.07	0.04
UR	835	28.41	16.18
LL	104	3.54	2.02
LR	1998	67.98	38.72

عنوان سلولهای عمل کننده (Effector) برای بررسی میزان سیتوتوکسیسیته سلولهای NK به روش فلوسایتمتری استفاده شد. (ج) آماده سازی لاین سلولی K562 به عنوان سلول هدف (Target): رده سلولی K562 که از انستیتو پاستور ایران تهیه شده بود پس از دفریز در محیط کشت RPMI-1640 حاوی ۱۰٪ FBS (Fetal Bovine Serum)، ۱۰۰ unit/ml پنی سیلین، ۱۰۰ μg/ml استرپتومایسین در ۳۷ درجه سانتی گراد و اتمسفر ۵٪ از CO<sub>2</sub> کشت داده و روزانه پاساژ داده می شدند. در مرحله اول آزمون نیاز به رنگ آمیزی این سلولها با PKH-2 می باشد. (PKH-2 Cell linker, Sigma, St Louis, MO). PKH-2 رنگ لیپوفیلیک سبز می باشد که به غشای سلول زنده نفوذ کرده اما بر روی فعالیت بیولوژیکی آنها تأثیری ندارد. به طور خلاصه جهت رنگ آمیزی لاین سلولی K562 را به غلظت ۵×۱۰<sup>۶</sup>/ml رسانده و دوبار در محیط RPMI-1640 فاقد FBS شستشو داده می شدند و در ۰/۵ ml از رقیق کننده PKH-2 قرار می گرفتند. در لوله دیگر ۴ میکرومول از رنگ PKH-2 در ۰/۵ ml از رقیق کننده مخلوط و سلولها به این لوله اضافه شده و بصورت سوسپانسیون در می آمدند. انکوباسیون رنگ و سلولها در محیط به مدت سه دقیقه انجام شده و آنگاه با اضافه کردن یک میلی لیتر از FBS رنگ آمیزی متوقف می گردید. این سلولها سه بار در محیط RPMI-1640 حاوی FBS شستشو داده شده و به غلظت ۱×۱۰<sup>۵</sup>/ml رسانده و به عنوان سلول هدف (Target) استفاده می شدند.

(د) چگونگی آزمون فلوسیتومتری برای سنجش فعالیت سلولهای NK: برای تعیین میزان سیتوتوکسیسیته سلولهای NK سه نسبت ۵۰:۱ و ۲۵:۱ و ۱۲:۵:۱ از سلولهای عمل کننده به هدف تهیه می شد. برای این منظور ۱۰۰ μl از سلولهای عمل کننده در غلظت های ۵×۱۰<sup>۶</sup>/ml، ۲/۵×۱۰<sup>۶</sup>/ml و ۱/۲۵×۱۰<sup>۶</sup>/ml تهیه شده و در لوله آزمایش پلی استیرین ۷۵×۱۲ mm با ۱۰۰ μl از سلولهای هدف رنگ آمیزی شده مجاور می شد. ۱۰۰ μl از سلولهای عمل کننده و هدف به تنهایی نیز به عنوان کنترل در لوله های جداگانه دیگری قرار داده می شدند. در این زمان رنگ پروپیدیوم بیدید PI (Propidium Iodide) به مقدار ۲۵ μl در غلظت ۱۰۰ μg/ml به تمام لوله ها شامل لوله های کنترل اضافه شده و بمدت دو ساعت در انکوباتور

سیتوتوکسیسیته سلولهای NK مورد ارزیابی قرار گرفتند. در گروه III، حداقل سن افراد مورد مطالعه ۱۷ و حداکثر ۳۷ سال با میانگین وانحراف معیار  $27/16 \pm 5/49$  بود. حداقل زمان ازدواج ۲ و حداکثر ۲۱ سال و نیز حداقل تعداد زایمان ۱ و حداکثر ۴ بود. مشخصات دموگرافیک گروه I و II در جدول (۱) آورده شده است. از لحاظ سن افراد مورد مطالعه و سن جنین سقط شده یا حامله در گروهها، تفاوت معنی داری وجود نداشت. تفاوت معنی داری بین میزان سیتوتوکسیسیته سلولهای NK در نسبت ۱۲/۵:۱ سلولهای عمل کننده به هدف بین گروه I و III ( $p=0.045$ ) و گروه II و III وجود داشت ( $p=0.001$ ). میزان سیتوتوکسیسیته سلولهای NK در نسبت ۲۵:۱ سلولهای عمل کننده به هدف بین گروه I و III ( $p=0.03$ ) و گروه II و III ( $p=0.001$ ) معنی دار بود. همچنین تفاوت معنی داری بین میزان سیتوتوکسیسیته سلولهای NK در نسبت ۵۰:۱ سلولهای عمل کننده به هدف بین گروه I و III ( $p=0.02$ ) و گروه II و III وجود داشت. میزان سیتوتوکسیسیته سلولهای NK در تمام نسبت های سلولهای عمل کننده به هدف بین گروههای II و III معنی دار نبود (نمودار ۱). ارتباط معنی داری بین میزان سیتوتوکسیسیته سلولهای NK با سن، مدت ازدواج، تعداد دفعات سقط و دفعات حاملگی وجود نداشت.

### بحث و نتیجه گیری

جایگزینی جنین در دسیدنا حاوی پروسه پیچیده ای شامل تغییرات اپی تلوم جدار رحم، تغییر سیکل هورمونی و پاسخ های

Quad	Event	% Gated	%Total
UL	۰	۰.۰۰	۰.۰۰
UR	679	23.39	13.35
LL	138	4.75	2.71
LR	2086	71.86	41.02

شکل ۱: میزان سیتوتوکسیسیته سلولهای NK در نسبت های ۱:۵۰، ۱:۲۵، ۱:۱۲/۵ که به ترتیب ۳۴/۲۲، ۲۸/۴۱، ۲۳/۳۹ درصد می باشد

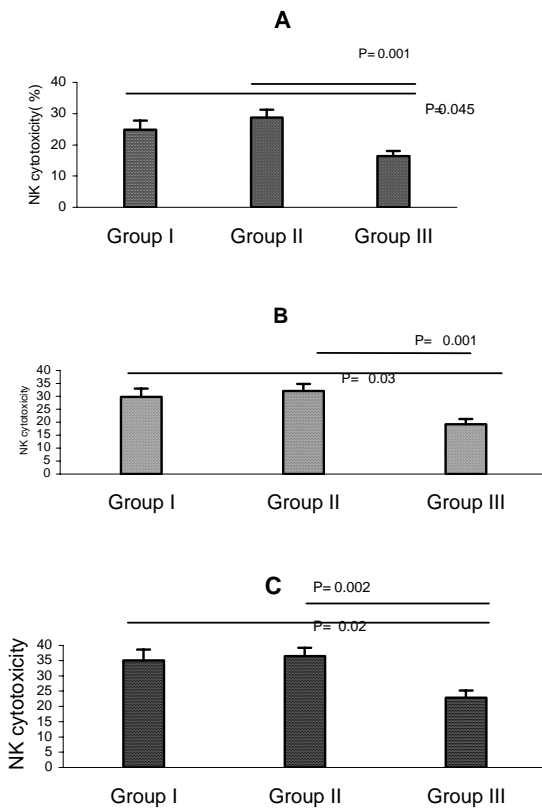
ح) آنالیز آماری: نتایج با نرم افزار آماری SPSS.ver12 مورد ارزیابی قرار گرفت. برای مقایسه میزان سیتوتوکسیسیته سلولهای NK در سه گروه مورد مطالعه، از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه استفاده و پس از تعیین وجود اختلاف معنی دار در گروهها از Tukey Post Hoc برای تعیین اختلاف معنی دار بین گروهها استفاده شد. برای تعیین ارتباط نیز آزمون آماری همبستگی Pearson بکار گرفته شد.

### نتایج

در این مطالعه ۲۱ نفر در گروه I، ۳۲ نفر در گروه II و ۳۲ نفر در گروه III و در مجموع ۸۵ نفر از لحاظ میزان

جدول ۱: مشخصات افراد مبتلا به سقط های مکرر خودبخود در زمان سقط و سقط قبلی

گروه II (سقط قبلی)				گروه I (روز سقط)				متغیر
انحراف معیار	میانگین	حداکثر	حداقل	انحراف معیار	میانگین	حداکثر	حداقل	
۴/۱۸	۲۸/۱۵	۴۲	۱۹	۳/۳۹	۲۷/۹۵	۳۵	۲۱	سن
۳/۲۷	۸/۶۸	۱۷	۴	۳/۳۲	۷/۹۵	۱۸	۴	مدت ازدواج
۱/۴۳	۳/۹۳	۱۰	۳	۰/۹۵	۳/۷۱	۶	۳	تعداد سقط
۲/۳۶	۹/۱۲	۲۰	۴	۲/۷۶	۹/۲	۲۰	۴	سن جنین در آخرین سقط بر حسب هفته



A: در نسبت ۱:۱۲/۵ سلولهای عمل کننده به هدف

B: در نسبت ۱:۲۵ سلولهای عمل کننده به هدف

C: در نسبت ۱:۵۰ سلولهای عمل کننده به هدف

**نمودار ۱: میانگین وانحراف استاندارد میانگین میزان سابتوتو کسبیسیتة سلولهای NK در گروههای مورد مطالعه**

کاهش تعداد سلولهای NK وهمچنین کاهش میزان سیتوتوکسیسیتة آنها را در طی حاملگی گزارش نموده اند.<sup>(۱۰)</sup> Morikawa و همکارانش با مطالعه بر روی زنان غیرحامله که سابقه سقط مکرر داشته دریافتند که میانگین میزان سیتوتوکسیسیتة سلولهای NK در این گروه ۴۲/۸٪ است که به طور معنی داری بیشتر از میانگین سیتوتوکسیسیتة ۳۲/۱٪ سلولهای NK در گروه کنترل است که حاملگی منجر به تولد نوزاد داشته اند.<sup>(۱۱)</sup>

Emmer و همکارانش افزایش میزان سیتوتوکسیسیتة سلولهای NK در خانمهایی که سقط مکرر خودبخود داشته در مراحل اولیه

ایمنی موضعی و سیستمیک مادر است. اختلال در این پروسهها می تواند منجر به ختم حاملگی گردد. در خانمهایی که عمل دفع جنین پس از ترانسفر آن در عمل خارج لقاحی رخ داده یا افرادی که سقط مکرر خود بخود دارند افزایش تعداد سلولهای NK گزارش شده است.<sup>(۷)</sup> سلولهای NK که منشأ از مغز استخوان دارند پس از تمایز وارد جریان خون می شوند. بنظر می رسد که اتصال بین اینتگرین  $\beta 2\alpha L$  بر روی سلولهای NK خون محیطی و مولکولهای چسبان بین سلولی Intera Cellular Adhesine Molecule-1 بر روی آندوتلیوم رگهای دسیدئا موجب مهاجرت سلولهای NK از خون محیطی به استرومای آندومتر یا دسیدئا می گردد. سلولهای NK دسیدئا از نظر فعالیت با سلولهای NK خون محیطی در ارتباط می باشند. بنابراین تغییر میزان سیتوتوکسیسیتة آنها می تواند منعکس کننده و بیانگر میزان سیتوتوکسیسیتة سلولهای NK موجود در آندومتر یا دسیدئا باشد. سلولهای NK عمل سیتوتوکسیسیتة خود را بر علیه سلولهای هدف با آزاد کردن ترکیبات موجود در گرانولهای خود مانند سیتولیرین و گرانزیمها، القای آپوپتوزیس و یا ترشح طیف وسیعی از سایتوکینها انجام می دهند.<sup>(۶)</sup> سقطهای مکرر خودبخود که به حداقل سه سقط مداوم اطلاق می شود به دو گروه اولیه (هرگز فرزندی به دنیا نیاورده) و ثانویه (یک حاملگی و زایمان موفق و بدنبال آن سقط مداوم واقع شده) تقسیم می گردند.<sup>(۸)</sup>

این مطالعه بر روی افراد با سقطهای مکرر اولیه به عنوان گروه مورد و افراد حامله به عنوان شاهد انجام گرفت و حتی المقدور سعی گردید تا عواملی که ممکن است در سقط دخیل باشند در نظر گرفته شوند. مطالعه ما که برای اولین بار در ایران با روش فلوسیتومتری انجام گرفت افزایش میزان سیتوتوکسیسیتة سلولهای NK را در افراد با سابقه سقطهای مکرر (در روز سقط یا سقط قبلی) را نسبت به گروه حامله نشان می دهد. مطالعات اندکی در مورد ارزیابی میزان سیتوتوکسیسیتة سلولهای NK در افراد حامله وجود دارد. یک مطالعه نشان می دهد که این میزان از هفته ۱۶ حاملگی تا زمان زایمان کاهش یافته و سپس به میزان نرمال برمی گردد.<sup>(۹)</sup> در حالی که دیگران

حاملگی، نسبت به گروه کنترل گزارش کردند<sup>(۱۲)</sup>.

Gilman-sachs و همکارانش هم میزان سیتوتوکسیسته سلولهای NK را به روش فلوسیتومتری در افراد با سقط‌های مکرر بیشتر از کنترل نشان دادند. آنها همچنین ارتباط ضعیفی بین زیرگروه‌های سلولهای NK خون محیطی و فعالیت این سلولها ارایه نمودند<sup>(۵)</sup>. مطالعات Yamada و همکارانش نیز که بر روی میزان سیتوتوکسیسته سلولهای NK خون محیطی در افراد با سابقه سقط مکرر قبل از حاملگی انجام گرفته است بیانگر افزایش میزان سیتوتوکسیسته این سلولها می باشد. در مواردی که میزان این سیتوتوکسیسته بیشتر از ۴۶٪ بود احتمال سقط در آنها نیز ۳/۶ برابر در حاملگی بعدی افزایش می‌یافت<sup>(۱۳)</sup>. عدم ارتباط معنی دار بین میزان سیتوتوکسیسته سلولهای NK و سقط‌های مکرر خودبخود نیز گزارش شده است<sup>(۱۴)</sup>.

Shakhar و همکارانش نشان دادند که میزان سیتوتوکسیسته سلولهای NK در افراد با سابقه سقط‌های مکرر اولیه بالاتر از افراد کنترل حامله است در حالی که این تفاوت در افراد با سابقه سقط‌های مکرر ثانویه و کنترل وجود ندارد<sup>(۸)</sup>.

در مطالعه ما ارتباط معنی‌داری بین میزان سیتوتوکسیسته سلولهای NK و تعداد دفعات سقط وجود نداشت که با نتایج Morikawa همخوانی دارد<sup>(۱۱)</sup>.

همچنین عدم ارتباط معنی دار بین سن و مدت ازدواج، با میزان سیتوتوکسیسته سلولهای NK در این مطالعه با نتایج Matsubayashi مشابه است که بر روی خانم‌های نابارور انجام گرفته است<sup>(۱۵)</sup>. عدم ارتباط معنی‌دار در میزان سیتوتوکسیسته سلولهای NK خون محیطی افرادی که در روز سقط از آنها نمونه تهیه شده و افرادی که قبلاً سقط داشته اند می‌تواند بیانگر این مطلب باشد که هرچند سلولهای NK می‌توانند بعنوان ریسک فاکتور در بروز سقط‌های مکرر دخیل باشند اما عوامل دیگری نیز

در این پدیده نقش داشته و افزایش ناگهانی میزان سیتوتوکسیسته NK در روز سقط مشاهده نمی‌شود.

در مطالعه دیگر (منتشر نشده) ما ارتباط معنی‌داری بین غلظت اینترلوکین دو (IL-2) و اینترفرون گاما (IFN $\gamma$ ) که سایتوکین‌های T کمکی یک (Th1) می‌باشند و میزان سیتوتوکسیسته سلولهای NK نشان دادیم که در اینجا نقش سلولهای Th1 نیز در افزایش میزان سیتوتوکسیسته سلولهای NK را مطرح می‌نماید. نشان داده شده است که مجاورت سلولهای NK با IL-2 و IFN $\gamma$  نه تنها باعث افزایش میزان سیتوتوکسیسته NK نسبت به سلولهای K562 حساس می‌شود بلکه کشتن لاین سلولهای مقاوم مانند Daudi موجب می‌گردد<sup>(۱۶)</sup>.

### نتیجه‌گیری

نتایج ما نشان می‌دهد که افزایش میزان سیتوتوکسیسته سلولهای NK را می‌توان به عنوان یک عامل خطر در سقط‌های مکرر خود بخود در نظر گرفت و برای ایجاد حاملگی طبیعی نیاز به کاهش فعالیت این سلولها می باشد. افزایش میزان سیتوتوکسیسته این سلولها در طی سه ماهه اول حاملگی در افراد با سابقه سقط مکرر رخ نمی‌دهد.

### پیشنهادها: ۱- بررسی روتین میزان سیتوتوکسیسته سلولهای

NK در افراد با سابقه سقط‌های مکرر خود بخود

۲- ارزیابی میزان موفقیت حاملگی در افراد با سابقه سقط‌های مکرر خود بخود با کاهش میزان سیتوتوکسیسته سلولهای NK.

### قدردانی:

از پرسنل مرکز ناباروری یزد به ویژه آقایان حسین فضلی و مهرداد سلیمانی که در انجام این پروژه ما را یاری کردند تشکر و قدردانی می‌شود.

### References

1- Jablonowska B . et al . *Prevention of recurrent spontaneous abortion by intravenous immunoglobulin*. Human Reproduction. 1999, 14 (3): 838-41.

2- Raj R , et al . *Maternal Th1 and Th2-Type reactivity to placental antigens in normal human pregnancy and unexplained recurrent spontaneous abortion*. Cellular Immunology. 1999, 196: 122-30

- 3- Sherif S F , et al . *Natural killer cell receptors*. Blood. 2002, 100 (6) : 1935-47.
- 4- Peter ME , et al . *Altered phenotype of HLA-G expressing trophoblast and decidual natural killer cells in pathological pregnancies*. Human Reproduction. 2002, 17 (4) : 1072-80.
- 5- Gilman SA , et al . *Natural killer cell subsets and NK cell cytotoxicity in women with histories of recurrent spontaneous a bortion*. Am J Repord Immunol. 1999, 41 : 99-105.
- 6- Ntrivalas EI , et al . *Status of peripheral blood natural killer cells in women with recurrent spontaneous abortion and infertility of unknown aetiology*. Human Reproduction. 2001, 16 (5) : 855-61.
- 7- Sarah AR . *Control of the immunological environment of the uterus*. *Reviews of Reproduction*. 2000, 5 : 164-74.
- 8- Shakhhar K , Ben-Eliyahu S, Loewenthal R, Rosenne E, Carp H . *Differences in number and activity of peripheral natural killer cells in primary versus secondary recurrent miscarriage*. Fertil Steril. 2003 Aug; 80(2) : 368-75.
- 9- Toder V , Nebel L , Elrad H , Blank M , Durdana A , Gleicher N . *Studies of natural killer cells in pregnancy*. J Clin Lab Immunol. 1984 Jul; 14(3) : 129-33.
- 10- Michou VI , Kanavaros P , Athanassiou V , Chronis GB , Stabamas S , Tsilivakos V . *Fraction of the peripheral blood concentration of CD56<sup>+</sup>/CD16/CD3<sup>+</sup> cells in total natural killer cells as an indication of fertility and infertility*. Fertil Steril. 2003 Sep ; 80(2) :691-97.
- 11- Morikawa , et al . *NK cell activity and subsets in women with a history of spontaneous abortion*. Gynecol obstet Invest. 2001, 52 (3) : 163-67.
- 12- Emmr PM , et al . *Peripheral nataral killer cytotoxicity and CD56 cells increase during early pregnancy in women with a history of recurrent spontaneous abortion*. Human Reproduction. 2000 , 15: 1163-69.
- 13- Yamada H , et al . *Pre-conceptional Natural killer cell activity*. Am J Reprod Immunol. 2003; 50 : 351-54.
- 14- Souza SS , Ferriani RA , Santos CM , Voltarelli JC. *Immunological evaluation of patients with recurrent abortion*. J Reprod Immunol. 2002 , 56(1-2) : 111-21.
- 15- Matsubayashi H , et al . *Increased natural killer cell activity is associated with inferlik women*. Am J Reprod Immunol. 2001, 46 (5) : 318-22.
- 16- Solana R , Alonso MC , Pena J . *Natural killer cells in healty aging Experimental Eerontology*. 1999, 34 (3): 435-43.









## چگیده مقالات به انگلیسی