مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۱۹ ، شماره ۲، خرداد و تیر ۱۳۹۰
صفحه: ۲۰۰-۱۹۲

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 19, No. 2, May-Jun 2011
Pages: 192-200

مقایسه تعداد مطلق جمعیت لنفوسیت های CD4+CD25+ T خون محیطی در زنان با سقط جنین مکرر و حاملگی های طبیعی

رویا مزینی[۱]، جواد بهار آراء[۲]، نزهت موسوی فر[۳]، محمد امین اسلامی[۴]، علی اسلامی[۵]، مریم راستین[۶]، اکرم شیخ[۷]، نفیسه طبسی[۸]، محمود محمودی*[۹]

۱،۷- کارشناس ارشد سلولی تکوینی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد
۲- استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، ایران
۳- استادیار گروه زنان و زایمان، مرکزتحقیقات زنان، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
۴- دانشجوی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان شعبه بین الملل چابهار
۵- دانشجوی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران
۶- دکترای تخصصی ایمونولوژی، مرکز تحقیقات ایمونولوژی پژوهشکده بوعلی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
۸-کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، مرکز تحقیقات ایمونولوژی پژوهشکده بوعلی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
۹- استاد گروه ایمونولوژی، مرکز تحقیقات ایمونولوژی پژوهشکده بوعلی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۴/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۱۰/۳۰

چکیده

مقدمه: تولید مثل به عنوان اصل بقای بشر از اهمیت ویژه ای برخوردار است و حاملگی موفق یک پارادوکس ایمنی است. این پژوهش به منظور بررسی فاکتورهای ایمونولوژیکی در سقط مکرر صورت گرفته است، به این ترتیب که تغییرات تعداد سلول های CD4+CD25dimT،CD4+CD25bright T خون محیطی زنان مبتلا به سقط مکرر با جمعیت سلولی در زنان با حاملگی طبیعی با استفاده از آنتی بادی مونوکلونال مورد مقایسه قرار گرفت.

روش بررسی: گروه بیمار از میان خانم هایی با علل سقط مکرر نامشخص که "un explained"بوده، انتخاب شدند. این افراد همچنین از نظر آزمایشات کاریوتایپ، آنتی کاردیولیپین، پرولاکتین و اسپرموگرام همسران طبیعی بوده و جزء موارد سندروم پلی کیستیک نبوده و تا زمان انجام آزمایش دارویی مصرف نکرده اند. لنفوسیت های جداسازی شده ازخون محیطی با آنتی بادی ضدCD4 CD25 نشاندار شده با ماده فلورسنس مجاور شدند، سپس داده های گروه بیمار و شاهد(زنان با حاملگی طبیعی) مورد مقایسه و آنالیز آماری قرار گرفتند.

نتایج: یافته ها بیانگر این بود که میانگین تعداد مطلق CD4+CD25brightTcells/CD4+ در بیماران سقط مکرر نسبت به شاهد کاهش معنی داری داشته است(Pvalue=۰/۰۰۰)، در حالیکه تعدادCD4+CD25dimT cells در گروه بیمار نسبت به شاهد بطور معناداری افزایش پیدا کرده است(Pvalue=۰/۰۰۰).

نتیجه گیری: با توجه به نتایج بدست آمده کاهش تعداد سلولهای T تنظیمی CD25bright می تواند با سقط مکرر جنین ارتباط داشته باشد. جزییات عملکرد این سلول ها در فرایند حاملگی به مطالعات بیشتر نیازمند است.

واژه های کلیدی: لنفوسیت های T- سقط مکرر- حاملگی طبیعی

* (نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۵۱۱-۷۱۱۲۶۱۴، پست الکترونیکی: mahmoudim@mums.ac.ir

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-28]

مقدمه

تولید مثل به عنوان اصل بقای بشر و تداوم خانواده از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می باشد و عوامل مختلفی در آن موثرند. بارداری تغییرمنحصر به فرد ایمونولوژیکی در آنتی ژن های جنینی و تکوین جفت در رحم مادر است، که با لانه گزینی تخم و یا چسبیدن بلاستوسیت به یک اندومتر پذیرا در مادر پیشرفت می کند. جنین یک پیوند نیمه آلوگرافت است، که توسط سیستم ایمنی مادر تحمل می گردد. مکانیسم های ایمونولوژیکی که جنین را از خطر دفع شدن حفاظت می کنند هنوز کاملاً شناخته نشده اند، ولی به نظر می رسد که تحمل ایمونولوژیک مادر به آمیزه‌ی منحصر به فردی از مواد سرکوبگرایمنی، سایتوکاین ها و هورمون ها که قبل و بعد از لانه‌گزینی بلاستوسیست تولید می شوند، بستگی دارد. یک مکانیسم احتمالی برای حفظ جنین این است که تروفوبلاست که لایه بین جنین و بافت مادر می باشد پروتئین های کلاسیک MHC کلاس I و II را بیان نمی کند(تروفوبلاست به میزان اندکی HLA-c را که کلاسیک می باشد بیان می کند) و آن را نسبت به شناسایی و حمله سلول های مادری مقاوم می‌سازد. مکانیسم دیگر که ممکن است به تحمل مادری جنین کمک کند، ترشح سایتوکاین ها در لایه بین اپیتلیوم مادر و تروفوبلاست جنین است که شامل: فاکتور تغییر دهنده رشد TGF-β، اینترلوکین ۴ و ۱۰، می باشد. این الگوی ترشح سایتوکاین ها به سرکوب پاسخ های Th1 تمایل دارد و بر روی جنبه های مختلف سیستم ایمنی اثر مهاری دارند، که از آن جمله می توان به مهار تولید لنفوسیت هایTسایتوتوکسیک، مهار تحریک لنفوسیت ها با میتوژن ها، مهار تولید لنفوسیت‌های کشنده اشاره کرد. القای یا تزریق سایتوکاین هایی نظیر اینترلوکین ۲، اینترفرون گاما که پاسخ های Th1 را در حیوانات آزمایشگاهی پدید می آورد به بازجذب جنین منجر می شود که معادل سقط در انسان است(۱). سقط جنین قبل از هفته بیستم اگر بیش از۲ یا ۳ بار متوالی تکرار گردد جنبه پاتولوژیک پیدا نموده و تحت عنوان سقط مکرر نیازمند درمان مناسب خواهد بود. اتیولوژی سقط مکرر ناشناخته است، اگرچه ناهنجارهای آناتومیکی، ژنتیکی، عفونی، ایمونولوژیکی، اندوکرینولوژی و محیطی را درایجاد آن موثر می دانند و در ۱ تا ۵ درصد از زنان باردار ایجاد می شود(۲). سقط مکرر مرتبط با تحمل ایمونولوژی مادر و جنین می باشد و با ناسازگاری سیستم ایمنی بدن همراه است(۳).

حداقل سه زیر جمعیت سلول‌های T CD4+ با مکانیزم سرکوبگری به وسیله فنوتیپ، سایتوکاین ترشحی و منشاء بافتی‌شان متمایز می‌شوند(۴). اصطلاح cells CD4+ CD25+ T به گروهی از لنفوسیت های T باخواص تنظیمی- سرکوبی اطلاق می شود. این سلول‌ها یک جمعیت کوچک از سلول های T CD4+ در خون محیطی هستند و از تیموس طی فرایند انتخابی بر اساس ساختار فردی TCR و یا در بافت های محیطی بوجود می آیند، که توان پلاستیسیتی و انطباق با محیط زیست را دارند(۵). این سلول ها نقش پاتولوژی و فیزیولوژی در بیماری های اتوایمیون(۶)، بیماری التهابی(۷) و تحمل پیوند(۸) دارند. این سلول ها از خون محیطی، تیموس، گره لنفی و بند ناف نیز جدا شدند(۹). جمعیت موثر تنظیمی در انسان CD4+CD25bright T cells می باشند، که بیش از ۹۵ درصد هموژنیسیتی(نسبت به موش) هستند و CD45RO CD122(IL-2Rβ)، GITR، وCD621 را بیان می کنند(۱۰). این سلول ها به مقدار زیادی IL10 ترشح می کنند. CD4+CD25dim T cells هم که سلول‌های T فعال کننده می باشند نیز مخلوط هتروژنی از سلول ها می باشند که CTLA-4 را بیان نمی کنند و HLA-DR و CD45RA بیشتر از CD45RO دارند و اینترفرون گاما و اینترلوکین ۱ را به مقدار زیاد ترشح کرده و شبیه به سایتوکاین ها یTh1 می باشد که عملکرد توکسیک برای جنین دارد(۹).

Aluvihare و همکارانش برای اولین بار مطرح کردند که CD4+CD25+T cells برای تحمل جنین آلوگرافت در موش لازم هستند، زیرا تعداد این سلول‌ها در خون و غدد لنفی اطراف رحم موش باردار افزایش پیدا می‌کند و پیشنهاد کردند که سلول‌های فوق واسطه تحمل مادری می باشند(۱۱). اولین

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-28]

مشاهده این سلول ها در حاملگی انسان با افزایش این سلول ها در بافت دسیدوا تشریح شد(۱۲). لذا این مطالعه با هدف بررسی مقایسه‌ای جمعیت این سلول‌ها در خون محیطی زنان با حاملگی طبیعی با زنان با سقط مکرر طراحی گردید.

روش بررسی

۱- جمعیت مورد مطالعه:

جمعیت مورد مطالعه شامل ۲۴ خانم با سابقه سقط مکرر که علت خاصی برای سقط آنان(عفونت، اشکالات آناتومیکی، ابنورمالیتی‌های کروموزومی، کمبود پروژسترون و غیره) مشخص نشده بود. این بیماران تا زمان انجام تست مورد نظر دارو دریافت نکرده و از نظر کاریوتایپ، آنتی فسفولیپید آنتی بادی‌ها، آنتی کاردیولیپین آنتی‌بادی‌ها، هورمون‌های تیروئیدی و پرولاکتین طبیعی بودند. همچنین این خانم‌ها مبتلا به بیماری تخمدان پلی‌کیستیک(PCOD) نبوده و اسپرموگرام همسران آنها نیز طبیعی بود. این خانم‌ها به عنوان گروه آزمون انتخاب شدند، که به طور متوسط ۲۸/۷۹ سال (۳۶-۲۰ سال) سن داشتند. گروه شاهد شامل ۲۱ خانم حامله بدون سابقه سقط و حداقل دارای یک فرزند بود که از نظر سنی با گروه آزمون یکسان شد. از افراد مورد مطالعه ۵ سی‌سی خون گرفته شد و در تیوب های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA جمع‌آوری گردید. پژوهش حاضر پس از کسب مجوزهای لازم با روش مورد- شاهدی، برروی بیماران مراجعه کننده به بخش زنان و زایمان بیمارستان اما رضا وابسته به دانشکده علوم پزشکی مشهد و مرکز تحقیقات ناباروری منتصریه و مرکز درمانی ام البنین مشهد از تیر ماه سال ۱۳۸۷ تا خرداد ۱۳۸۸ صورت پذیرفت. این مطالعه با در نظرگرفتن ملاحظات اخلاقی و تکمیل پرسشنامه ای که بدین منظور تهیه شده بود و در آن اطلاعاتیدر مورد سن، جنس، بیماری زمینه‌ای، میزان WBC، پلاکت، سابقه بستری رسیده شده بود، انجام گرفت.

۲- جداسازی لنفوسیت ها:

به منظور جداسازی لنفوسیت های خون محیطی از محلول فایکول(Ficol hypac, BioSera,UK) به نسبت ۱ به ۲ استفاده شد، به گونه ای که خون در بالای فایکول قرار گرفته و با آن مخلوط نشود. سپس در ۲۷۰۰G در دمای اتاق سانتریفوژ گردید و ابرلنفوسیتی بر اساس گرادیان دانسیته جدا شده، توسط سمپلر به لوله آزمایش دیگر منتقل و با نسبت مساوی با محلول PBS(Phosphate buffer saline) شستشو داده شد، تا کلیه مواد و پروتئین‌های اضافی از محیط خارج شوند. جهت شستشو، لنفوسیت های جدا شده، با PBS مخلوط و در دور ۱۱۰۰rpm در دمای اتاق سانتریفوژ شده، محلول رویی خارج و رسوب مجدداً با PBS سرد رقیق می‌شود و بقیه مراحل نیز بر روی یخ انجام می‌شود.

۳- بررسی فلوسایتومتری:

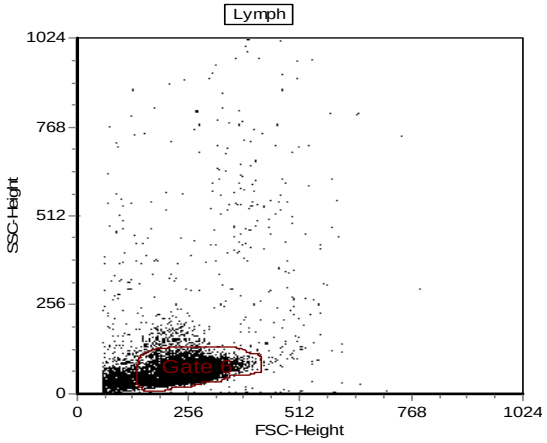
سلول های PBLs(Peripheral Blood Lymphocyte) داسازی شده پس از شستشو به دو لوله منتقل می‌شدند. بعد لنفوسیت های جدا شده با آنتی‌بادی‌های مونوکلونال با مشخصات زیر کونژوگه می شدند:

Phycoerythrin (PE) –conjugated anti-CD25

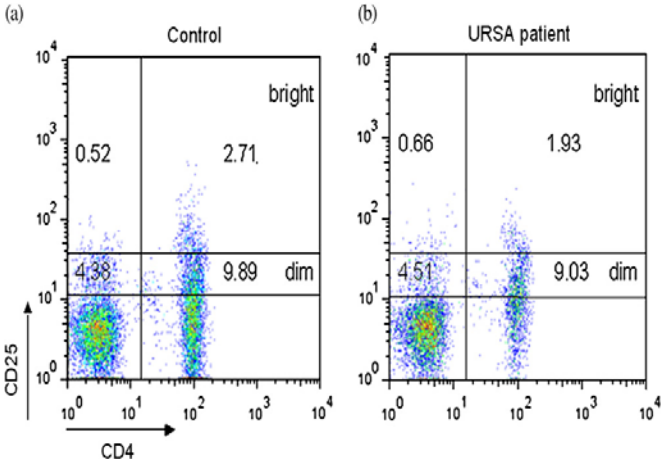
Fluoresce in isothiocyanate(FITC)– conjugated anti-CD4

لازم به ذکر است که این آنتی‌بادی‌ها همه از شرکت IQ Product, The Netherland تهیه شدند. بعد لنفوسیت ها با مارکرهای فوق به مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی و در دمای ۴ درجه، انکوبه می شدند، سپس دو بار با ۲cc بافر PBS شستشو داده و نمونه ها آماده خواندن توسط دستگاه فلوسایتومتری می‌شدند. سپس نمونه‌ها بر اساس جمعیت سلولی در دستگاه Becton Dickinson مدل FACS calibure انتخاب شده و توسط نرم افزار cell Quest آنالیز می‌شدند. به این صورت که ابتدا توسط نمودار Forward Scatter- side scatter مجموعه لنفوسیت های مورد نظر را انتخاب کرده(نمودار ۱) و سپس نمودار نقطه ای مربوط به آنتی بادی +CD4+CD25 ترسیم می‌شدند. در پلات نقطه‌ای مربوط به سلول های +CD4 و +CD25(نمودار ۲) جمعیت سلول هایی که از نظر هر دو مارکر + CD4 و +CD25 مثبت می‌باشند سلول های T تنظیمی بوده و در این نمودار می‌توان جمعیت سلول های+ CD4 و- CD25 را نیز تفکیک کرد.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-28]



نمودار ۱. بررسی جمعیت لنفوسیت های CD4+CD25+T در خون محیطی به روش فلوسایتومتری در یکی از سقط مکرر



نمودار ۲: جمعیت سلول‌های CD4+CD25dim, CD4+CD25 bright در لنفوسیت های خون محیطی در گروه شاهد(a) و گروه آزمون URSA(b)

نمودار شماره ۱یک پلات نقطه‌ای می باشد که محور x نماینده CD4-FITC و محور y، CD25-PE می باشد.

لنفوسیت های خون محیطی جداسازی شده برای فرکانس فنوتیپی به وسیله فلوسایتومتری آنالیز می شوند. سلول‌ها TCD4+CD25+ بر اساس مارکرهای Isotype Immunoglobulin G به دو زیر مجموعه‌ی سلول‌ها CD4+CD25dim, CD4+ CD25bright طبقه بندی می شوند.

لنفوسیت ها به سلول های +CD4(چهارگوش سمت راست)، سلول های -CD4(چهارگوش سمت چپ)، سلول‌های CD25bright(چهارگوش قسمت بالاتر)، سلول‌های CD25dim (چهارگوش قسمت وسط)، سلول‌های-CD25(چهارگوش قسمت پایین‌تر) طبقه بندی می شوند. در صد سلول‌های CD4+CD25brig T، در ربع سمت راست بالا و درصد سلول‌های CD4+CD25dim در چهارگوش سمت راست وسط شناسایی می شوند.

درصد سلول های CD4-CD25bright T در ربع سمت چپ بالا و سلول های CD4-CD25dim در چهارگوش سمت چپ وسط شناسایی می شوند.

آنالیز آماری:

در این مطالعه تعداد کل لنفوسیت ها از طریق محاسبه شمارش کامل خون(WBC) انجام می شود، سپس اطلاعات به دست آمده توسط نرم افزار(SPSS (ver 16 Chicago, IL مورد بررسی آماری قرار گرفته، بدین منظور نتایج نمونه‌های بیماران و گروه شاهد با آزمون های پارامتریک (Student t- test) و غیرپارامتریک Mann-whitny بررسی شدند. سطح معنی‌دار بودن نیز در P<۰/۰۵ تعریف می‌شود.

نتایج

در این مطالعه، ۲۴ خانم با سابقه سقط مکرر به عنوان گروه آزمون و ۲۱خانم با حاملگی طبیعی و داشتن حداقل یک فرزند سالم به عنوان گروه شاهد مورد بررسی قرارگرفتند. نمونه‌ها همه دارای کاریوتایپ نرمال بوده و از نظر آماری تغییر قابل ملاحظه ای در سن بارداری بین افراد با سقط مکرر و افراد با حاملگی طبیعی مشاهده نشد(جدول ۱). همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده میانگین تعداد مطلق سلول‌های لنفوسیت در گروه آزمون(۱۲۹/۹۰۹ cells/ µl±۲۳۰۷/۷۵) با توجه به مقدار احتمال محاسبه شده(Pvalue =۰/۰۰۹) افزایش معنی داری نسبت به گروه شاهد(۱۳۳/۷۱۲ cells/ µl±۱۷۷۵/۶۳) داشت. همچنین میانگین تعداد مطلق سلول های+CD3 T نیز در گروه آزمون(۱۱۵/۷۱۱ cells/µl±۱۶۵۶/۶) نسبت به گروه شاهد(۱۰۲/۰۱۶cells/µl±۱۲۵۱/۵) افزایش یافت. میانگین تعداد مطلق سلول های +TCD4 در گروه آزمون (cells/ ۹۰/۵۰۷µl±۹۷۷/۴۲) با توجه به مقدار احتمال محاسبه

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-28]

شده(Pvalue=۰/۰۳۴) افزایش معنی داری نسبت به گروه شاهد(۷۲۳/۲۷±۵۹/۳۸۸ cells/ µl) داشت، همچنین میانگین تعداد مطلق سلول های T CD4+ CD25bright /CD4 نیز در گروه آزمون (۴/۹۰۴±۰/۶۲۵ cells/ µl) نسبت به گروه شاهد(۷/۱۸۵±۰/۵۵۴ cells/ µl) کاهش نشان داد. میانگین تعداد مطلق سلول های CD4+ CD25dim T نیز در گروه آزمون(۲۲۶/۱۲±۱۵/۲۸۶ cells/ µl) با توجه به مقدار احتمال محاسبه شده(Pvalue =۰/000) افزایش معنی داری را نسبت به گروه شاهد(۱۴۵/۶۰±۱۸/۴۸۶ cells/ µl) نشان داد. همچنین میانگین تعداد مطلق سلول های T CD4-CD25dim درگروه آزمون(۸۳/۵۶۸±۸/۷۷۹ cells/ µl) نسبت به گروه شاهد (۵۷/۳۵۴±۶/۵۰۴ cells/ µl) افزایش نشان داد. میانگین تعداد مطلق سلول های T CD25 در بیماران (۳۶۴/۲۰۰±۲۴/۹۶۶cells/µl) باتوجه به احتمال محاسبه شده (Pvalue=۰/۰۰۳) از نظر آماری به صورت قابل ملاحظه ای بیشتر از گروه شاهد (۲۶۰/۶۴±۲۹/۶۰۱ cells/ µl) بود.

جدول (۱): مشخصات نمونه های آزمون و شاهد

گروه	سن (سال)	تعداد حاملگی	تعداد سقط
آزمون	۲۸/۷۹ ± ۰/۸۸۷	۳ ± ۰/۲۳۳	۲/۸۸ ± ۰/۲۲۸
شاهد	۲۵/۹۵ ± ۱/۲۰۴	۲/۴۸ ± ۰/۱۹	۰ ± ۰
P-value	۰/۰۶	۰/۰۸۱	۰/۰۰۰

در هر جدول Mean±SEM نشان داده شده است.

آزمون انجام شده برای تعداد حاملگی و تعداد سقط آزمون ناپارامتری من-ویتنی می باشد.

آزمون انجام شده برای سن آزمون t-test می باشد.

جدول(۲): میانگین تعداد مطلق لنفوسیت های بیماران سقط مکرر(گروه آزمون) و مقایسه آن در افراد با حاملگی طبیعی (گروه شاهد)

	گروه آزمون(۲۴نمونه)	گروه شاهد (۲۱نمونه)	P-value
تعداد لنفوسیت ها cell/µl	۲۳۰۷/۷۵±۱۲۹/۹۰۹	۱۷۷۵/۶۳±۱۳۳/۷۱۲	*۰/۰۰۹
تعداد سلول های +CD3در میکرولیتر	۱۶۵۶/۶±۱۱۵/۷۱۱	۱۲۵۱/۵±۱۰۲/۰۱۶	۰/۰۲۴*
تعداد سلول های +CD4در میکرولیتر	۹۷۷/۴۲±۹۰/۵۰۷	۷۲۳/۲۷±۵۹/۳۸۸	*۰/۰۳۴
تعداد سلول های+CD4+CD25در میکرولیتر	۲۶۸/۵۵±۱۸/۱۱۲	۱۹۷/۸۳±۲۳/	*۰/۰۰۲
تعداد سلول های -CD4+CD25در میکرولیتر	۷۵۳/۱۹±۷۱/۳۶	۵۴۰/۱۵±۴۸/۹۰۷	۰/۰۳۲*
تعداد سلول هایCD25در میکرولیتر	۳۶۴/۲۰۰±۲۴/۹۶۶	۲۶۰/۶۴±۲۹/۶۰۱	*۰/۰۰۳
تعداد سلول هایCD4+CD25brightدر میکرولیتر	۴۲/۴۲۵±۳/۶۹۳	۵۲/۲۳۲±۵/۵۸۴	*۰/۰۵۵
تعداد سلول هایCD4+CD25dimدر میکرولیتر	۲۲۶/۱۲±۱۵/۲۸۶	۱۴۵/۶۰±۱۸/۴۸۶	**۰/۰۰۰
تعداد سلول هایCD4-CD25 brightدر میکرولیتر	۱۲/۹۸۰±۱/۶۵۰	۱۵/۲۴۱±۲/۳۵	۰/۲۷۵
تعداد سلول هایCD4- CD25dimدر میکرولیتر	۸۳/۵۶۸±۸/۷۷۹	۵۷/۳۵۴±۶/۵۰۴	*۰/۰۳۴

مقادیری احتمالی که با * و ** نشان داده شده اند به ترتیب در سطح معنی دار ۰/۰۵ و ۰/۰۱ معنادار می باشند.

در هر جدول Mean ± SEM نشان داده شده است.

بحث

در این مطالعه تغییرات تعداد جمعیت Tcells CD4+CD25+ درخون محیطی زنان مبتلا به سقط مکرر با مقایسه این جمعیت سلولی در زنان با حاملگی طبیعی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آماری نشان داد که تعداد لنفوسیت های CD4+CD25bright T cells کاهش و cells CD4+CD25dim T افزایش داشته است. آزمایش ها در

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-28]

شرایط invitro نشان داده است که زیرگروه های سلول های T از جمله Th1, Th2, Tregمی توانند یکدیگر را تنظیم کنند و در ایجاد هموستاز نقش موثر دارند. سلول های Treg در برابر بیماری های خودایمنی با سرکوب سلول های T خودواکنشگر از میزبان محافظت می کنند. به همین ترتیب می توانند پاسخ های علیه آلوگرافت ها را مهار کنند. در این خصوص تعداد و عملکرد سلول هایTreg مهم می باشد چرا که افزایش تعداد این سلول ها می تواند به توسعه و رشد جنین کمک کند و در روند حاملگی اعمال اثر کند. بیشتر تحقیقاتی که بر روی پاتوفیزیولوژی سقط مکرر با علل ناشناخته انجام شده بر روی سلول های Treg متمرکز بوده اند که از این مطالعات و مطالعه حاضر شواهدی به دست آمده که این سلول ها در پاتوژنز سقط مکرر نقش دارند که در ادامه به بحث در این مورد می پردازیم.

Sasakiو همکاران(۱۲) مطرح کردند که افزایش این سلول ها در موش حامله نرمال قادر به جلوگیری از سقط جنین است و افزایش سقط مکرر را در موش‌هایی که حاوی این سلول ها بودند گزارش کردند، آنها افزایش سقط را به کاهش بیان مولکول‌های حفاظتی از جمله

LIF(Leukemia Inhibitory Factor),

TGF-β(Transformation Growth Factor), heme-oxygenase-1

القاء شده بوسیله این سلول‌ها نسبت می‌دهند. سلول‌های +TCD4(Treg) تحریک شده در حضور اینترفرون گاما، تکثیر سلول های Th2 را مهار می کند و رده‌ی سلول های Th1 را افزایش داده، ایمنی سلولی را فعال می کند. در صورت کاهش فعالیت Th2 سایتوکاین های تولید شده نیز کاهش پیدا می‌کنند که اثر مهاری بر روی سلول های Th1 دارد، لذا سلول های Th1 فعال می شوند که افزایش فعالیت سلول های Th1 می تواند باعث سقط جنین شود. از طرفی کاهش فعالیت سلول های Th1، به دلیل فعال کردن مکانیسم تحمل ایمنی، موجب بقاء حاملگی می شود(۱۴،۱۳). Yang و همکاران بیان کردند که گسترش سلول‌های CD4+CD25+ T، بر اثر گسترش سلول‌های T اجرایی خود واکنشگر است که در پاسخ به آنتی ژن های والدینی گسترش می یابند و یا مستقل از آلوآنتی ژن های جنینی در اثر هورمون ها گسترش می‌یابند(۱۵). آنتی ژن های والدینی، به وسیله جنین و یا در اثر گسترش سلول های CD4+CD25+ T سرکوبگر در پاسخ‌های ایجاد شده بر علیه جنین، بیان می شود. کاهش پاسخ به حاملگی، با تعداد کمتر و نقص عملکردی سلول های CD4+CD25+ T مرتبط می‌باشد که ممکن است با کاهش توانایی ایمونوساپرس و پشتیبانی سیستم ایمنی سبب القاء سقط جنین شود. همچنین سلول های CD4-CD25+ T واکنش اینترفرون را علیه آلوآنتی ژن‌های مادری مهار می‌کنند و در تنظیم دقیق واکنش‌های ایمنی ضد جنینی در Th2/Th1 سهیم می باشند و به لنفوسیت های فعال تبدیل می شوند. Leigh و همکاران مطرح کردند که سلول های CD4+CD25- T و سلول های CD4-CD25+ T نیز می توانند با توجه به سیتوکین ها به سلول های تنظیمی القایی تبدیل شوند. در مجموع این نتایج نشان می دهد که در بارداری گسترش سلول های CD4+CD25+ T به وسیله سرکوب بالقوه پاسخ سلول های T بر علیه آنتی ژن های آلوژنی وا لدینی القاء می شود، اما کاهش سلول های TCD4+CD25bright در سه ماهه ی اول بارداری باعث القای سقط در زنان باردار می شود. نتیجه بررسی اخیر در واقع نشان دادن مسائل ایمونولوژیک به عنوان عامل احتمالی برای سقط و نازایی می باشد(۱۶). در یک مطالعه‌ی جامع دیگرتوسطYang و همکارانش مشخص شد زنانی که سقط جنین های مکرر را تجربه می کنند کاهش تعداد این سلول ها را در خون محیطی و کاهش توانایی سرکوب را در مقایسه با زنان نرمال نشان می دهند(۱۵). نتیجه گیری ما نیز با مطالعات قبلی که نشان می دهد نسبت سلول های CD4+ CD25bright T و سلول های CD4+ CD25dim T+ در بیماران سقط مکرر نسبت به افراد با حاملگی طبیعی تغییر می‌یابد مطابقت دارد(۱۷). در مطالعه حاضر نیز سلول‌های CD4+CD25bright T در گروه آزمون نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشت، به نظر می‌رسد مشکلات ایمونولوژیکی حاملگی ناشی از تحمل ناقص آلوگرافت‌ها می باشد و تشخیص نامناسب و نابجای آلوآنتی ژن های جنینی به وسیله‌ی سیستم ایمنی مادر با حاملگی ناموفق مرتبط است

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-28]

و لنفوسیت های آلوژن نقش مهمی در تحمل حاملگی دارند. در اینجا افزایش سلول های dim (نوع خاص سلول تیره)که می توانند به سلول های T فعال شده تبدیل شود موید این امر است. کاهش پاسخ به حاملگی مرتبط با تعداد کمتر و یا نقص عملکردی سلول های T می باشد که ممکن است با کاهش توانایی ایمونوساپرس و پشتیبانی سیستم ایمنی سبب القای سقط جنین شود(۱۸). گزارش دیگری افزایش سلول های CD4+CD25bright Tدر طی اولین و دومین دوره سه ماهه بارداری بیان کرده، همچنین Saito و همکاران بیان کردند که زنانی که سقط جنین های مکرر را تجربه می کنند، کاهش این سلول ها در خون محیطی و کاهش توانایی سرکوب را در مقایسه با زنان نرمال نشان می‌دهند(۱۹). افزایش سلول های CD4+CD25bright Treg درالقاء تحمل ایمنی برای بقای حاملگی لازم است(۲۰). با توجه به کاهش معنی دار سلول های CD4+CD25bright Tاختلال در ایجاد این سلول ها و یا تمایز ناکافی سلول های T به سلول های CD4+CD25+ T در رحم ممکن است ادامه بارداری را تحت تاثیر قرار دهد، از طرفی پتانسیل و توان سلول های CD4+CD25+ T در هموستاز ایمنی، زمینه های جدیدی را در پاتولوژی تولید مثل مطرح می نماید.

در مجموع این نتایج نشان می دهد که در بارداری گسترش سلول هایCD4+CD25+T به وسیله سرکوب بالقوه پاسخ سلول های T برعلیه آنتی ژن های آلوژنی والدینی القاء می شود، اما کاهش سلول های TCD4+CD25bright در سه ماهه‌ی اول بارداری باعث القای سقط در زنان باردار می‌شود. نتیجه بررسی اخیر در واقع نشان دادن مسائل ایمونولوژیک به عنوان عامل احتمالی برای سقط و نازایی می باشد و با شناخت بیشتر مکانیسم عمل این سلول ها و استفاده درمانی از آنها در زنان با سقط های مکرر نیز امکان پذیر می گردد.

نتیجه نهایی نشان داده که بررسی فاکتور های ایمنی می تواند سرآغازی برای پیدا کردن عاملی برای سقط مکرر باشد.

نتیجه گیری

با توجه به کاهش معنی دار سلول های CD4+CD25bright Treg اختلال در ایجاد سلول های CD4+CD25+Treg و یا تمایز ناکافی سلول های T به سلول های Treg در رحم ممکن است توان بارداری را تحت تاثیر قرار دهد. از طرفی پتانسیل و توان سلول‌های Treg در هموستاز ایمنی، احتمال درمان سودمند جدیدی را برای پاتولوژی تولید مثل با دستکاری این سلول ها به منظور استفاده دارویی و سلول درمانی در تولید مثل فراهم می کند.

منابع:

1- Ejin Way CH, Valport M, Terwers P, Shelomichik M. ***Immunology system in health &disease.*** Trans by Ghaffary S. H; 1 ed th. Theran: Tayebb; 2004.

2- Patriarca A, Piccioni V, Gigante V, Benedetto C. ***The use of intravenous immunoglobulin in sine causa or alloimmune recurrent spontaneous abortion (RSA).*** Panminerva Med 2000;42(3):193–5.

3- Christiansen OB, Nybo Andersen AM, Bosch E, Daya S, Delves PJ, Hviid TV, et al. ***Evidence-based investigations and treatments of recurrent pregnancy loss.*** Fertil Steril 2005;83(4):821-39.

4- Zhu J, Paul WE. ***CD4 T cells: fates, functions, and faults.*** Blood 2008;112(5):1557-69.

5- Jonuleit H, Schmitt E. ***The regulatory T cell family: distinct subsets and their interrelations***. J Immunol 2003;171(12):6323-7.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-28]

6- Sakaguchi S. ***Naturally arising Foxp3-expressing CD25CD4 regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self.*** Nat Immunol 2005;6(4):345-52.

7- Wahl SM, Vazquez N, Chen W. ***Regulatory T cells and transcription factors: gatekeepers in allergic inflammation.*** Curr Opin Immunol 2004;16(6):768-74.

8- Waldmann H, Graca L, Cobbold S, Adams E, Tone M, Tone Y. ***Regulatory T cells and organ transplantation.*** Semin Immunol 2004;16(2):119-26.

9- Beacher-Allan C, Viglietta V, Hafler DA. ***Human CD4+CD25+ regulatory T cells.*** Semin Immunol 2004; 16(2);89-98.

10- Guerin LR, Prins JR, Robertson SA. ***Regulatory T-cells and immune tolerance in pregnancy: a new targetfor infertility treatment?*** Human Reproduction Update 2009;15(5) :517-35.

11- Aluvihare VR, Kallikourdis M, Betz AG. ***Regulatory T cells mediate maternal tolerance to the fetus***. Nat Immunol 2004;5(3):266-71.

12- Sasaki Y, Satomi M, Miyazaki J, Sakai M, Saito S. ***CD4CD25 regulatory T cells are increased in the human early pregnancy decidua and have immunosuppressive activity.*** Am J Reprod Immunol 2003;49:356.

13- Chaouat G. ***The Th1/Th2 paradigm :still important in pragnancy***? Semin Immunology 2007;29(2):95-113.

14- Piccinni M. ***T cells in normal pregnancy and recurrent pregnancy loss.*** Reproductive BioMedicine 2006; 13(6):840-4.

15- Yang H, Qiu L, Chen G, Ye Z, Lu C, Lin Q. ***Proportional change of CD4CD25 regulatory T cells in decidua and peripheral blood in unexplained recurrent spontaneous abortion patients.*** Fertil Steril 2008;89:656-61.

16- Leigh R, Jelmer R. ***Regulatory T-cell and immune tolerance i n pregnancy:a new target for infertility treatment?*** Humen Reproduction 2009:15(5):517-35

17- Arruvito L, Sanz M, Banham AH, Fainboim L. ***Expansion of CD4CD25and FoxP3 regulatory T cells during the follicular phase of the menstrual cycle: implications for human reproduction***. J Immunol 2007; 178:2572-8.

18- Tilburgs T, Roelen DL, van der Mast BJ, van Schip JJ, Kleijburg C, de Groot-Swings GM, et al. ***Differential distribution of CD4CD25(bright) and CD8CD28 T-cells indecidua and maternal blood during human pregnancy.*** Placenta 2006;27(Suppl A):S47–S53.

19- Saito S, Sasaki Y, Sakai M. ***CD+CD25 high regulatory T cells in human pregnancy***. J Reprod Immunol 2005;65(2):111-20.

20- Saito S, Shiozaki A, Sasaki Y, Nakashima A, Shima T, Ito M. ***Regulatory T cells and regulatory natural killer (NK) cells play important roles in feto-maternal tolerance.*** Semin Immunopathol 2007; 29(2):115-22.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-28]

Comparison of the Number of Peripheral Blood CD4+CD25+ T Cells in Unexplained Recurrent Spontaneous Abortion Patients with Normal Pregnant Women

Mozayyani R(Msc)[1], Bahar Ara J(PhD)[2], Mousavifar N(PhD)[3], Eslami M(PhD)[4], Eslami A(PhD)[5], Rastin N(PhD)[6], Sheikh A(Msc)[7], Tabasi N(Msc)[8], Mahmoudi M(PhD)[*9]

[1,2,7]Department of Biology, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

3Department of Obstetrics and Gynecology, Women's Health Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

4 International Branch of Zahedan University of Medical Science, Chabahar, Iran

5Shahid Beheshti University of Medical Science, Tehran, Iran

[6,8,9]Immunology Research Center/BuAli Research Institute, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

Received: 17 Jul 2010 ***Accepted:*** 20 Jan 2011

Abstract

Introduction: Undoubtedly, reproduction is a necessity for survival and successful pregnancy is an immunological paradox. In the present study, we investigated the proportional changes of CD4+CD25bright T cells, CD4+CD25dim T cells in peripheral blood in unexplained recurrent spontaneous abortions (URSA) and compared it with normal pregnant women by antibody monoclonal method.

Methods: The study group comprised of women with miscarriages of unexplained etiology who had normal karyotypes, anticardiolipin antibodies, prolactin levels and normal spousal spermograms. They did not have polycystic ovaries and also did not receive any drugs at the time of the study. PBLs lymphocytes were isolated, then FITC-conjugated and anti-CD4 and PE-conjugated anti-CD25 antibody levels were measured. Then results of the study and control group were analyzed and compared.

Results: The absolute number of CD25 bright cells in the CD4+T cells in peripheral blood was statistically significantly lower in the study group as compared to the control group(P=0.000). The absolute number of CD4+CD25dimT cells in peripheral blood was statistically significantly higher in the study group as compared to the control group (P=0.000).

Conclusion: As decrease in the number of CD4+CD25+Tcells or their functional deficiency may be linked with miscarriage, CD4+CD25+ Tells could serve as a novel biomarker for monitoring in URSA patients, but more studies are needed in this field.

Keywords: Abortion, Habitual; Abortion, spontaneous; T- Lymphocytopenia, Idiopathic CD4- Positive; Pregnancy

This paper should be cited as:

Mozayyani R, Eslami M, Eslami A, Bahar ara J, Mousavifar, Rastin N, Sheikh A, Tabasi N, Mahmoudi M. ***Comparison of the Number of Peripheral Blood CD4+CD25+ T Cells in Unexplained Recurrent Spontaneous Abortion Patients with Normal Pregnant Women***. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci; 19(2):192-200.

****Corresponding author: Tel:+98 511 7112614 , Email: mahmoudim@mums.ac.ir***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-11-28]