

ارزش بررسی آنتی بادی های مادری علیه آنتی ژن های موجود بر سطح گویچه های سفید پدري در تشخیص علل آلوایمونیتی در بیماران با سقط پی در پی

چکیده

مقدمه: سقط عاداتی، به سه سقط خود به خود یا بیشتر، پیش از هفته ی بیستم بارداری گفته می شود. عللی گوناگون باعث سقط جنین می شود، با این حال، در حدود ۵۰ درصد موارد، هیچ علتی خاص برای توجیه سقط پیدا نمی شود. شواهدی زیاد در دست است که، از نظریه ی فرایند آلوایمونیتی، به عنوان علت سقط پی در پی در این گروه حمایت می کند. به این معنا که، در این افراد، به علت پاسخ ایمنی نامناسب مادر، آنتی بادی های مادری علیه آنتی ژن های موجود بر سطح گویچه های سفید پدري، که به وسیله ی جنین عرضه می گردد، ساخته نمی شود و این امر باعث شکست روند بارداری خواهد شد. هدف از اجرای این بررسی، تعیین ارزش اندازه گیری آنتی بادی علیه لنفوسیت پدري (APLA) برای شناخت بیماران با سقط پی در پی بدون علت است. **روش کار:** بر روی یکصد و سی بیمار با سقط عاداتی اولیه، که به بخش زنان درمانگاه مطهری شیراز، مراجعه کرده بودند، برای یافتن علت سقط آزمایش و بررسی های لازم انجام گرفت. بر روی افرادی که، علتی خاص برای سقط آنها پیدا نشد، آزمایش WBC Cross Match برای تعیین آنتی بادی علیه لنفوسیت پدري انجام گردید. در گروه شاهد، که ۵۰ زن با داشتن دست کم یک فرزند بودند و برای پیوند کلیه مراجعه کرده بودند نیز، APLA اندازه گیری شد. در مرحله ی بعد، افراد مبتلا به سقط پی در پی با آنتی بادی علیه لنفوسیت پدري منفی، طی چند مرحله، با استفاده از گویچه های سفید همسری، ایمونیزه شدند. **یافته ها:** از ۱۳۰ بیمار مراجعه کننده، ۵۰ نفر دارای علتی خاص برای سقط پی در پی نبودند (۳۸/۵ درصد). در این بیماران، APLA اندازه گیری شد، که در هشت

دکتر ژاله ذوالقدری*،
دکتر زهره توانا**،
دکتر عباس قادری***،
*استادیار گروه زنان و زایمان،
**استادیار گروه زنان و زایمان،
***استاد گروه ایمنی شناسی،
دانشگاه علوم پزشکی شیراز

نویسنده مسوول:
دکتر ژاله ذوالقدری
شیراز، بیمارستان شهید فقیهی،
دفتر بخش زنان
تلفن: ۰۷۱۱-۲۳۳۲۳۶۵
E-mail:
jzolghad@yahoo.com

آنتی بادی های مادری علیه آنتی ژن های موجود بر سطح کویچه های سفید پدري در بيماران با سقط پي در پي

درصد افراد، APLA مثبت گزارش شد و در گروه شاهد، این میزان، ۲۰ درصد بود، که این اختلاف، از نظر آماری قابل توجه نبود. پس از طی چهار مرحله ایمنی زایی در گروه APLA-منفی، سرانجام، ۸۸ درصد بیماران ایمنیزه شدند. **نتیجه:** آزمایش WBC Cross Match منفی و نبود APLA در خون مادر نمی تواند به عنوان یک آزمون ایمنی شناختی دقیق برای شناسایی زنان با سقط پی در پی به دلایل ایمن شناختی مطرح باشد. **کلید واژه ها:** سقط عادی، آنتی بادی علیه لئوسیت پدري، آلوایمونیه

مقدمه

می شود و باور بر این است که، کاهش تولید این آنتی بادی ها در طی بارداری به علت پاسخ ایمنی غیر طبیعی در بارداری است و به وجود آمدن این آنتی بادی های سیتوتوکسیک، پس از ایمن شدن با سلول های پدري و حتی از یک راه غیر رحمی، می تواند باعث موفقیت نتیجه ی بارداری شود [۴،۳].

بر پایه ی این دیده گاه ها و با در نظر گرفتن تجربه ی موفق تزریق خون در پیوند کلیه ی آلونژیک، به نظر می رسد روش ایمنی زایی با گویچه های سفید، به عنوان یک روش ایمنی درمانی، از سقط جنین پیشگیری کند. البته، هنوز روشن نیست که، آیا اندازه گیری آنتی بادی های سیتوتوکسیک مادری علیه آنتی ژن های لئوسیت های پدري می تواند به عنوان یک راه تشخیص آشکار برای شناخت علل ایمنی بیماران با سقط پی در پی باشد [۵].

هدف از اجرای این طرح مشخص کردن این است که، نخست، در چند درصد زنان با سقط پی در پی، این آنتی بادی ها علیه لئوسیت های پدري (APLA) وجود ندارد و مقایسه ی آن با گروه شاهد و دوم این که، آیا آزمایش

سقط، به معنای از دست رفتن بارداری پیش از ۲۰ هفته از آغاز آخرین قاعدگی یا دفع جنین با وزن کمتر از ۵۰۰ گرم است [۱]. سقط عادی، به طور کلی، به سه سقط خود به خود یا بیشتر گفته می شود و در سه درصد از زنان باردار رخ می دهد [۲]. عللی گوناگون باعث سقط جنین پیش از هفته ی بیستم بارداری می شوند، که عبارت هستند از عوامل ارثی، آندوکراین، آناتومیک، عفونی، محیطی و علل ایمنی شناختی. علل ایمنی شناختی، خود در بردارنده ی دو بحث اتوایمونیه (آنتی بادی های ضد فسفولیپید) و آلوایمونیه (آنتی ژن های بیگانه) است. آلوایمونیه، به آن دسته از علل سقط جنین گفته می شود، که به پاسخ غیر طبیعی ساز و کار ایمنی مادر به آنتی ژن های روی جفت یا بافت های جنینی ارتباط دارد [۱]. چندین فرایند ایمنی برای جلوگیری از سقط خود به خود مطرح شده است، که یکی از آنها، ساخته شدن آنتی بادی های مادری علیه آنتی ژن های موجود بر سطح گویچه های سفید پدري است، که به وسیله ی جنین عرضه

زنان نیز، آزمایش تجزیه ی اسپرم و کاربوتایپ انجام شد [۵].

از ۱۳۰ بیمار مبتلا به سقط پی در پی، در ۸۰ بیمار، بر پایه ی تاریخچه، معاینه ی بالینی و آزمایش های پاراکلینیکی، علت مشخصی برای سقط آنها پیدا شد، بنابراین، از بررسی کنار گذاشته شدند و ۵۰ بیمار دیگر، که علت مشخصی برای سقط های پی در پی نداشتند، پس از گرفتن رضایت نامه، در بررسی شرکت داده شدند. سپس، در این افراد میزان آنتی بادی مادری علیه لنفوسیت های پدري (APLA) با آزمایش WBC Cross Match با روش Microlymphocytotoxicity اندازه گیری شد. در این آزمایش، سرم تازه و رقیق نشده ی مادر با لنفوسیت های خون محیطی پدر مخلوط می شود و اندازه ی از میان رفتن لنفوسیت های پدري به وسیله ی سرم مادر، بررسی می گردد.

بیمارانی که دارای آزمایش WBC Cross Match مثبت بودند (هنگامی که سرم مادر بیشتر از ۴۰ درصد لنفوسیت های پدري را از میان ببرد) [۵] از بررسی حذف شدند و دیگر بیماران، که WBC Cross Match منفی داشتند، به مرحله ی بعد، یعنی ایمنی زایی علیه لنفوسیت های شوهری وارد شدند. در این مرحله، زن و شوهر از نظر HCV، VDRL، HIV و HBV بررسی شدند و برای انجام ایمنی زایی، ۱۰۰ میلی لیتر خون از همسر بیمار گرفته شد و با استفاده از Ficoll Hypaque Gradient

WBC Cross Match و تعیین این آنتی بادی ها (APLA) ارزش تشخیصی در این بیماران دارد و آیا می تواند به عنوان یکی از ویژگی های آشکار بیماران مبتلا به سقط پی در پی باشد و در پایان، چند درصد و طی چند مرحله، بیماران با آزمایش WBC Cross Match منفی به ایمنی زایی و تزریق گویچه های سفید پاسخ داده و ایمنیزه می شوند.

مواد و روش

این بررسی آینده نگر بر روی ۱۳۰ زوج مبتلا به سقط های پی در پی با دامنه ی سنی ۲۰ تا ۳۵ سال و میانگین سنی ۲۷/۴ سال انجام گرفت، که به بخش زنان و زایمان درمانگاه مطهری شیراز، مراجعه کرده بودند. این بیماران، دست کم سه مورد از دست دادن محصول بارداری در سن کمتر از هفته ی بیستم بارداری داشتند و تا آن زمان، به تولد نوزاد رسیده موفق نشده بودند. همه ی این افراد، از نظر پیشینه ی بیماری و معاینه ی بالینی بررسی دقیق شدند و سپس، برای رد کردن علل ارثی، عفونی، آناتومیکی، آندوکرینی و اتوایمنیتی، منجر به سقط، آزمایش های پاراکلینیکی، چون کاربوتایپ خون محیطی، عفونت های TORCH، هیستروسالپینگوگرافی یا هیستروسکوپی و آزمایش های هورمونی، مانند پرولاکتین خون، هورمون محرکه ی تیروئید (TSH)، قند خون ناشتا، زمان پروترومبین و ترومبین و ضد کاردیولپین انجام گرفت. در همسران این

شدند، آزمایش WBC Cross Match انجام گرفت، که تنها در چهار نفر آنتی بادی علیه لنفوسیت پدري مثبت بود (۸ درصد)، که از بررسی کنار گذاشته شدند و ۴۶ نفر دیگر، که آزمایش یاد شده ی آنها منفی بود (۹۲ درصد) به مرحله بعد وارد و بررسی شدند.

در گروه شاهد، ۴۰ نفر آنتی بادی علیه لنفوسیت پدري منفی (۸۰ درصد) و ۱۰ نفر (۲۰ درصد) مثبت گزارش شدند، که تفاوت آماری معنی داری میان گروه بيمار و شاهد از نظر میزان آنتی بادی منفی وجود نداشت. در مرحله ی بعد، برای بيماران فاقد آنتی بادی علیه لنفوسیت پدري، ایمنی زایی با گویچه های سفید پدري انجام گرفت. از ۴۶ بيمار، که به مرحله ی نخست ایمنی زایی وارد شدند، پنج نفر، به همکاری حاضر نشدند، که از بررسی کنار گذاشته شدند. در ۴۱ بيمار دیگر، گویچه های سفید پدري تزریق شد، که در این مرحله، سه نفر (۷/۳ درصد) مثبت شده و ۳۸ نفر به مرحله ی دوم درمان نیاز پیدا کردند. در مرحله ی دوم نیز، شش نفر مثبت شدند، که درصد فراوانی تجمعی تا این مرحله ۲۱/۹ درصد می شد.

در مرحله ی سوم، ۱۳ نفر از ادامه ی درمان انصراف دادند و از ۱۹ نفر دیگر، ۱۲ نفر مثبت شدند (درصد فراوانی تجمعی ۷۵ درصد) و در مرحله ی چهارم نیز، از هفت نفر، ۴ بيمار به انجام ایمنی زایی حاضر شدند، که یک نفر مثبت

لایه ی مونونوکلئاز سرم، که عمدتاً لنفوسیت ها و نیز مونوسیت ها است، در شرایط کاملاً سترون جدا شده و در غلظت دست کم 10×100 سلول، به صورت سه میلی لیتر محلول در سرم فیزیولوژی، به صورت دو میلی لیتر تزریق آهسته سیاهرگی، ۰/۵ میلی لیتر درون پوستی و ۰/۵ میلی لیتر در زیر پوست تزریق شد. چهار هفته پس از آزمایش، WBC Cross Match در این بيماران تکرار شد و در صورت منفی بودن، ایمنی درمانی، طی مراحل دیگر، در این بيماران انجام گرفت. شمار ۵۰ زن سالم، که دارای دست کم یک فرزند بودند و از نظر دامنه ی سنی و میانگین سنی، کاملاً با گروه مورد همخوانی داشتند و دست کم شش ماه از زمان آخرین زایمانشان می گذشت و برای پیوند کلیه، آزمایش WBC Cross Match انجام داده بودند، به عنوان گروه شاهد برگزیده شدند. یافته ها بر پایه ی روش آماری مربع کای، Paired t Test, Fisher's Exact و 2 Sample t Test بررسی شدند و $p < 0/05$ ، معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

از ۱۳۰ بيمار مبتلا به سقط عادتی، در ۵۰ بيمار (۳۸/۴۶ درصد)، هیچ علت خاصی برای سقط های پی در پی آنها شناخته نشد. از این ۵۰ نفر، که به عنوان سقط با علل ایمنی شناختی در نظر گرفته

جدول ۱: یافته های ایمنی زایی و درصد افراد ایمن شده در هر مرحله و شمار افرادی که از بررسی کنار گذاشته شده اند

مرحله	شمار موارد آنتی بادی علیه لنفوسیت پدري منفی، که به هر مرحله وارد شده اند	شمار مواردی که به ادامه درمان در هر مرحله حاضر نشده اند	شمار موارد مثبت در هر مرحله	فراوانی تجمعی موارد مثبت	درصد موارد مثبت تجمعی در پایان هر مرحله
نخست	۴۶	۵	۳	۳	۷/۳
دوم	۳۸	-	۶	۹	۲۱/۹
سوم	۳۲	۱۳	۱۲	۲۱	۷۵
چهارم	۷	۳	۱	۲۲	۸۸

شد و در پایان، ۸۸ درصد بیماران پس از چهار مرحله ای ایمنی درمانی، دارای آنتی بادی علیه لنفوسیت پدري (مثبت) شدند (جدول ۱).

بحث

روش های موجود بررسی علل سقط پی در پی، هم اکنون از تشخیص حدود ۳۰ تا ۵۰ درصد از موارد سقط ناتوان هستند [۶]. در بررسی کنونی نیز، تقریباً در ۳۸/۵ درصد از موارد، علت خاصی برای سقط مشخص نشد. این شمار از بیماران، در دسته ای سقط با علل ناشناخته جا می گیرند، که پژوهشگران گوناگون بر این باور هستند که، علت سقط این افراد، عوامل ایمنی شناختی است [۷].

در باره ای انجام آزمونی، که بتوان سقط های با علل ایمنی شناختی را تشخیص داد، هیچ اتفاق نظری وجود ندارد و هنوز به درستی شناخته نیست، که آیا نبودن آنتی بادی های سیتوتوکسیک مادری علیه آنتی ژن های لنفوسیت های پدري (APLA منفی) می تواند به عنوان یک آزمون

ایمنی شناختی دقیق برای شناسایی زنان با سقط پی در پی به دلایل ایمنی شناختی مطرح باشد.

در پژوهش های که Beard و همکاران، در سال ۱۹۹۰، انجام دادند، میزان اندازه ای آنتی بادی علیه لنفوسیت مثبت در افراد طبیعی، که چندین فرزند سالم به دنیا آورده اند، در حدود ۳۵ تا ۴۶ درصد است. اما این درصد در زنان مبتلا به سقط پی در پی، ۱۲ تا ۲۳ درصد گزارش شده است [۸].

در متاآنالیزی که کارپ و همکاران، در سال ۱۹۹۰، درباره ای اثر ایمنی درمانی در سقط پی در پی انجام دادند، چندین عامل را در پیش آگهی بارداری پس از ایمنی درمانی مؤثر دانسته اند. یکی از این عوامل، منفی بودن آنتی بادی علیه لنفوسیت پدري پیش از ایمنی درمانی است [۷]. در بررسی کنونی، ۹۲ درصد از بیماران با سقط بدون علت، فاقد این آنتی بادی بودند، اگر چه در گروه شاهد نیز، این رقم ۸۰ درصد بود، که از نظر آماری، اختلاف معنی داری

از سقط آنها می گذرد، بنابراین، نمی توان از آنتی بادی علیه لنفوسیت پدري، به عنوان یک شاخص برای تشخیص علل آلوایمیونیت، بهره جست. این یافته، به وسیله ی Shlomit و همکاران نیز، تأیید شده است [۵]. گر چه نبود آنتی بادی های سیتوتوکسیک مادری علیه آنتی ژن های لنفوسیت پدري نمی تواند یک راه تشخیصی آشکار برای شناخت علل آلوایمون در بيماران با سقط پي در پي باشد، اما منفی بودن آن در افراد، با توجه به دیدگاه های یاد شده و یافته های ایمنی زایی در بررسی های گوناگون، نیاز به انجام لوکوسیت درمانی را در این افراد مشخص می کند [۵، ۱۰]. در بررسی کنونی، پس از ایمنی درمانی، در مرحله ی نخست، ۷/۳ درصد از بيماران دارای آنتی بادی علیه لنفوسیت پدري مثبت شده اند، اما در پژوهشی، که به وسیله ی دایا و همکاران، در ۱۹۹۴، انجام شد، ۱۸/۶ درصد افراد، پس از یکبار ایمنی زایی، مثبت شدند. گفتنی است که، میزان بالاتر مثبت شدن، به روش ایمنی زایی و شمار گویچه های سفید تزریق شده بستگی دارد. در بررسی کنونی، گویچه های سفید تزریقی، نصف اندازه ی استفاده شده در پژوهش دایا و همکاران بود [۷].

در بیشتر بررسی ها، مراحل گوناگون ایمنی زایی برای افزایش موارد آنتی بادی علیه لنفوسیت پدري مثبت، لازم بوده است که در بررسی کنونی نیز، در طی چهار مرحله ی ایمنی درمانی، روی هم رفته، ۸۸ درصد از بيماران مثبت شدند و هر چه موارد

میان دو گروه مشاهده نشد ($p=0/84$). در توجیه این مورد، می توان گفت که، آنتی بادی های سیتوتوکسیک از سه ماهه ی نخست آغاز به بالا رفتن می کند و سپس، با نزدیک شدن به زمان زایمان، پایین می آید و دوباره، بی درنگ پس از زایمان، به بالاترین اندازه ی خود در خون می رسد، اما با گذشت زمان، آغاز به پایین آمدن می کند [۹]. پس، منفی بودن این آنتی بادی در افراد طبیعی، نشان دهنده ی بی اثری این آنتی بادی در زمان بارداری برای پیشگیری از سقط نیست.

برد و همکاران، WBC Cross Match را در گروه شاهد، درست پس از زایمان (یعنی در زمانی که آنتی بادی بالا است)، بررسی کردند، در حالی که در گروه مورد آزمایش، بدون توجه به زمان سقط، انجام شده بود. با توجه به این مسأله، که این آنتی بادی در سه ماهه ی نخست بارداری افزایش می یابد و سپس، در طول بارداری آغاز به کاهش می کند، اما بی درنگ پس از زایمان، اندازه ی آن افزایش می یابد، اندازه ی آنتی بادی در گروه شاهد، به گونه ای چشمگیر بالاتر از گروه مورد بود. در بررسی کنونی، برای از میان بردن این عامل مخدوش کننده، زمان انجام آزمایش WBC Cross Match با فاصله ی دست کم شش ماه از آخرین زایمان آنها، تعیین شده بود. روی هم رفته، چون بيمارانی که، برای انجام آزمایش های مربوط به تشخیص علل سقط پي در پي مراجعه می کنند، اغلب مدت زمانی زیاد

مثبت شدن آن بالاتر باشد، نتیجه بارداری نیز، بهتر خواهد بود [۱۰،۷].
آزمایش WBC Cross Match منفی و نبود آنتی بادی علیه لئوسیت پدری در خون مادر، نمی تواند به عنوان یک آزمون ایمنی شناختی دقیق برای شناسایی زنان با سقط پی در پی به دلایل آلوایمیون مطرح باشد.

نتیجه گیری

The Value of Determining Antipaternal Leukocyte Antibodies in the Diagnosis of Alloimmune Factors in Recurrent Abortion

Background: Habitual abortion is defined as the occurrence of three or more consecutive pregnancy losses before the twentieth week of gestation. This is a challengeable clinical issue, as no cause can be found for abortion in over 50% of patients. There is increasing evidence to support an alloimmune mechanism in the unexplained group. It has been stated that the absence of maternal antibodies against the paternal leukocyte antigen (APLA) presented by the fetus causes abortion in this group. The objective of this study was to determine the value of APLA in the diagnosis of immunological causes of unexplained habitual abortion. **Patients and Methods:** One-hundred-thirty women with primary habitual abortion who had referred to Motahari Clinic, Shiraz, were enrolled in the study. In patients with nonspecific causes for abortion (unexplained abortion) white blood cell cross match was done for determination of APLA. Also, in the control group (women with at least one term pregnancy who had referred for kidney donation), APLA was determined. Immunization with paternal leukocytes was done for patients with negative APLA in several steps. **Results:** In fifty (38.5%) women out of 130 cases with habitual abortion, no recognized cause was found. APLA was positive in 8% and 20% in the case and control groups, respectively. There was no statistical difference between the two groups. Overall, 88% of the patients with negative APLA were immunized with paternal leukocytes. **Conclusion:** A negative APLA test does not correlate with the immunological basis of unexplained habitual abortion.

J. Zolghadri, M.D. *,
Z. Tavana, M.D. **,
A. Ghaderi, Ph.D. ***,
*Assistant Professor of
Obstetrics and
Gynecology,
**Assistant Professor of
Obstetrics and
Gynecology,
***Professor of
Immunology,
Shiraz University of
Medical Sciences,
Shiraz, Iran

Correspondence:
J. Zolghadri
Department of
Obstetrics and
Gynecology,
Shahid Faghihi
Hospital, Shiraz, Iran
Tel: +98-711-2332365
E-mail:
jzolghad@yahoo.com

Keywords: Antipaternal leukocyte antibody, Recurrent abortion, Alloimmunity

- [1]Cunningham GF, Gant NF, Leveno KJ, et al.: Abortion. In: *Williams obstetrics*, 21th ed. New York, USA: McGraw-Hill Co, 2001:855-83. منابع
- [2]Hill JA: Recurrent pregnancy loss. In: Ryankj F, Berowitz RS, Barbieri RL, eds. *Kistner's gynecology and women's health*. 7th ed. Boston, USA: Mosby, 1999:396-423.
- [3]Mowbray JF, Underwood JL, Michel M, et al.: Immunization with paternal lymphocyte in women with recurrent miscarriage. *Lancet* 1987;2(8560):679-80.
- [4]Mowbray JF, Gibbing C, Liddell H, et al.: Controlled trial of treatment of recurrent spontaneous abortion by immunization with paternal cell. *Lancet* 1985;1(8435):941-3.
- [5]Shlomit O, Ron L, Ephraim G, et al.: The prognostic value of anti-paternal antibodies and leukocyte immunization on the proportion of live births in couples with consecutive recurrent miscarriage. *J Human Reproduction* 1999;14(12):24-49.
- [6]Ho HN, Gill TJ, Nsieh RP, et al.: Sharing of human leukocyte antigen in primary and secondary recurrent spontaneous abortion. *Am J Obst Gynecol* 1990;163: 178-88.
- [7]Daya S, Gunby J: The effectiveness of allogenic leukocyte immunization in unexplained primary recurrent spontaneous abortion. *Am J Reprod Immunol* 1994;32: 294-302.
- [8]Beard RW, Brade P, Mowbray JF, et al.: Protective antibodies and spontaneous abortion. *Lancet* 1983;2(8358): 1090.
- [9]Schust DJ, Hill JA: Early pregnancy loss. In: Berek JS, Rinehart RD. eds. *Novak's gynecology*. 13th ed. Philadelphia, USA: Lippincott, Williams and Wilkins, 2002;1067-109.
- [10]Ramhors R, Agriell OE, Zilterman S, et al.: Is the paternal mononuclear cell's immunization a successful treatment for recurrent spontaneous abortion. *Am J Reprod Immunol* 2000;44(3):129-35.