

Leukocyte Cross-Match Results after Lymphocyte Immunization in Women with Recurrent Spontaneous Abortion

ARTICLE INFO

Article Type

Original research

Authors

Saremi AT.¹ MD,
Sanaye Naderi M.² BSc,
Pooladi A.¹ MD, PhD,
Younesi B.³ BSc,
Lashgari P.³ BSc,
Zare A.* PhD

How to cite this article

Saremi A T, Sanaye Naderi M, Pooladi A, Younesi B, Lashgari P, Zare A. Leukocyte Cross-Match Results after Lymphocyte Immunization in Women with Recurrent Spontaneous Abortion. Sarem Journal of Reproductive Medicine. 2018;2(1):19-23.

*Sarem Fertility & Infertility Research Center (SAFIR) and Sarem Cell Research Center (SCRC), Sarem Women's Hospital, Tehran, Iran

¹Sarem Fertility & Infertility Research Center (SAFIR) and Sarem Cell Research Center (SCRC), Sarem Women's Hospital, Tehran, Iran

²Sarem Fertility & Infertility Research Center (SAFIR), Sarem Women's Hospital, Tehran, Iran

³Sarem Fertility & Infertility Research Center (SAFIR), Sarem Women's Hospital, Tehran, Iran

Correspondence

Address: Sarem Women's Hospital, Basij Square, Phase 3, Ekbatan Town, Tehran, Iran. Postal Code: 1396956111

Phone: +98 (21) 44670888

Fax: +98 (21) 44670432

azare@razi.tums.ac.ir

Article History

Received: August 21, 2016

Accepted: December 24, 2016

ePublished: February 15, 2018

ABSTRACT

Aims The normal architecture of bone marrow apparently is simple; however, there is an important feature that immature elements of bone marrow are never seen in peripheral blood of normal subjects and we can find these elements only in special conditions such as metastasis or leukemia. The aim of this study was to investigate the physical structure of bone marrow regarding fractal model and diffusion limited growth phenomenon.

Materials & Methods This descriptive and cross-sectional study was conducted on 704 volunteer subjects with RSA history referred to Sarem women's hospital (Tehran, Iran) from 2009 to 2013. The peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were isolated from their husband or a third donor and were injected into the patients, two or three times. Two weeks after the last immunization, the patients' sera were tested for anti-paternal cytotoxic antibodies (APCAs) by leukocyte cross-match test. The leukocyte cross-match percentages were considered as positive if its values were more than 35% and vice versa.

Findings A positive result of leukocyte cross-match test was found in 319 (45.31%) patients with RSA that received paternal PBMCs two times. Immunization was repeated for the patients with negative tests using paternal or third donor PBMCs and positive result were observed in 219 (31.11%) patients. Totally, positive results were found in 538 (76.42%) patients.

Conclusion Lymphocyte therapy can enhance the production of APCAs in patients with RSA. It can increase the possibility of positive cross match test in these patients when it is repeated for three times.

Keywords Recurrent Spontaneous Abortion; Lymphocyte Transfusion; Histocompatibility Testing

CITATION LINKS

[1] An update in recurrent spontaneous ... [2] Recurrent miscarriage: Current concepts in diagnosis and ... [3] The causes and treatment of recurrent pregnancy ... [4] Induction of MLR-Bf and protection of fetal loss: A current double blind randomized trial of paternal lymphocyte immunization for women with recurrent ... [5] Characterization of bifurcating structure of blood vessels using fractal ... [6] Lymphocyte immunotherapy and its probable mechanism in the maintenance of pregnancy in women with recurrent spontaneous ... [7] Diagnosis and treatment of recurrent miscarriage associated with immunologic disorders: Is paternal lymphocyte immunization ... [8] Mixed lymphocyte reaction blocking factors (MLR-Bf) as potential biomarker for indication and efficacy of paternal lymphocyte immunization in recurrent ... [9] Detailed analysis of peripheral blood natural killer (NK) cells in women with recurrent ... [10] Uterine natural killer cells, implantation failure ... [11] Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in ... [12] Natural killer cells and pregnancy outcomes in women with recurrent miscarriage and infertility: A systematic ... [13] An imbalance in interleukin-17-producing T and Foxp3(+) regulatory T cells in women with idiopathic recurrent ... [14] Th17 and regulatory T cells in women with recurrent pregnancy ... [15] The role of T-helper cytokines in human ... [16] Questioning the Th1/Th2 paradigm in reproduction: Peripheral levels of IL-12 are down-regulated in miscarriage ... [17] Comprehensive analysis of peripheral blood lymphocytes in 76 women with recurrent miscarriage before and after ... [18] Adverse effects of intradermal allogeneic lymphocyte immunotherapy: Acute reactions and role ... [19] Immunization by paternal leukocytes for prevention of primary habitual abortion: Results of a ... [20] trial Factors influencing success rate of leukocyte immunization and anti-paternal antibodies in spontaneous ... [21] Role of anti-human lymphocyte culture cytotoxic antibodies in recurrent spontaneous pregnancy ... [22] Serotyping for homotransplantation. 18. Refinement of ... [23] Microdroplet assay of human ... [24] Intralipid therapy for recurrent implantation failure: New hope or ... [25] Intravenous immunoglobulin treatment increased live birth rate in a Spanish cohort of women with ... [26] Correlation between serum zinc levels and ...

بررسی و تحلیل نتایج کراس- مچ لکوسیتی حاصل از لنفوسیت‌تراپی زنان مبتلا به سقط مکرر خودبه‌خودی جنین در بیمارستان صارم بین سال‌های ۱۳۸۷ تا ۱۳۹۱

ابوطالب صارمی MD

مرکز تحقیقات باروری و ناباروری صارم و پژوهشکده سلولی-مولکولی و سلول‌های بنیادی صارم، بیمارستان فوق تخصصی صارم، تهران، ایران

مریم صنایع نادری BSc

مرکز تحقیقات باروری و ناباروری صارم، بیمارستان فوق تخصصی صارم، تهران، ایران

آرش پولادی MD, PhD

مرکز تحقیقات باروری و ناباروری صارم و پژوهشکده سلولی-مولکولی و سلول‌های بنیادی صارم، بیمارستان فوق تخصصی صارم، تهران، ایران

بهنام یونسی BSc

مرکز تحقیقات باروری و ناباروری صارم، بیمارستان فوق تخصصی صارم، تهران، ایران

پیمان لشگری BSc

مرکز تحقیقات باروری و ناباروری صارم، بیمارستان فوق تخصصی صارم، تهران، ایران

احد زارع PhD

مرکز تحقیقات باروری و ناباروری صارم و پژوهشکده سلولی-مولکولی و سلول‌های بنیادی صارم، بیمارستان فوق تخصصی صارم، تهران، ایران

چکیده

اهداف: سقط مکرر خودبه‌خودی (RSA) از جمله مشکلاتی است که منجر به عدم حفظ جنین در مادر می‌شود. لنفوسیت‌تراپی یکی از روش‌های درمانی RSA است. یکی از روش‌های ارزیابی این روش درمانی ایمونولوژیک، آزمایش کراس- مچ لکوسیتی است. این مطالعه با هدف بررسی نتایج کراس- مچ لکوسیتی حاصل از لنفوسیت‌تراپی زنان مبتلا به سقط مکرر خودبه‌خودی انجام شد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه توصیفی- مقطعی بین سال‌های ۱۳۸۷ تا ۱۳۹۱ روی ۷۰۴ زن داوطلب با سابقه سقط مکرر خودبه‌خودی که به بیمارستان صارم شهر تهران مراجعه کرده بودند، انجام شد. سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی (PBMC) همسر و یا اهداکننده سوم شخص جداسازی شد و به بیماران تزریق شد. دو هفته بعد از آخرین تزریق، برای بررسی ایجاد آنتی‌بادی‌های سیتوتوکسیک مادر علیه لکوسیت‌های پدری (APCA)، آزمایش کراس- مچ لکوسیتی انجام شد. درصد کراس- مچ لکوسیتی بیشتر از ۳۵٪ به‌عنوان نتیجه مثبت و مقادیر کمتر از آن به‌صورت جواب منفی گزارش شد.

یافته‌ها: آزمایش کراس- مچ لکوسیتی پس از دو نوبت ایمونوتراپی با PBMC‌های همسرشان در ۳۱۹ بیمار (۴۵/۳۱٪) مثبت شد. ادامه درمان با استفاده از سلول‌های همسر و یا اهداکننده سوم شخص مناسب در بیمارانی که در نوبت قبلی درمان آنها موفق نبود، منجر به مثبت شدن آزمایش کراس مچ لکوسیتی ۲۱۹ (۳۱/۱۱٪) بیمار از افراد باقیمانده شد. در مجموع، نتیجه این آزمایش در ۵۳۸ (۷۶/۴۲٪) بیمار داوطلب مثبت شد.

نتیجه‌گیری: لنفوسیت‌تراپی بر افزایش میزان APCA موثر است. استمرار و ادامه لنفوسیت‌تراپی می‌تواند شانس مثبت شدن آزمایش کراس- مچ لکوسیتی را در زنان مبتلا به سقط مکرر خودبه‌خودی افزایش دهد.

کلیدواژه‌ها: سقط مکرر خودبه‌خودی، لنفوسیت‌تراپی، آزمون کراس مچ لکوسیتی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۶/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۰۵

*نویسنده مسئول: azare@razi.tums.ac.ir

مقدمه

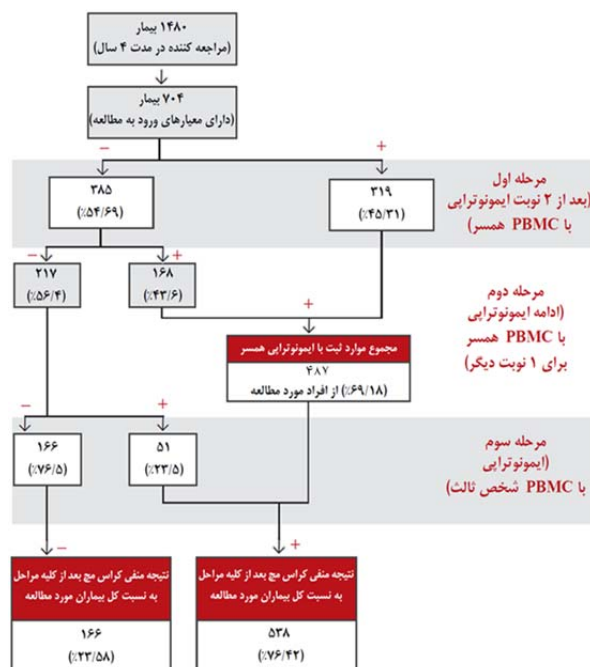
سقط جنین از جمله مشکلاتی است که منجر به عدم حفظ جنین در مادر می‌شود. سقط مکرر خودبه‌خودی (RSA) به‌صورت سه یا بیش از سه سقط مکرر که قبل از هفته بیستم بارداری اتفاق می‌افتد،

تعریف می‌شود. این عارضه تقریباً به‌میزان یک در هر ۳۰۰ زن باردار رخ می‌دهد^[1]. علل سقط می‌تواند نارسایی کروموزومی، عوامل عفونی، عوامل محیطی، اختلالات ترومبوفیلیک، مشکلات آناتومیک رحم، مشکلات هورمونی و عوامل ایمونولوژیک باشد^[2, 3]. در ایمونولوژی بارداری، ارتباط ایمونولوژیک بین مادر و جنین، ارتباطی دوسویه است که از یک سو به‌وسیله حضور آنتی‌ژن جنینی و از سوی دیگر به‌وسیله شناسایی و واکنش با این آنتی‌ژن‌ها توسط سیستم ایمنی مادر تعیین می‌شود. مطالعات پیشین نشان داده‌اند که در هنگام بارداری، سیستم ایمنی مادر معمولاً آنتی‌ژن لکوسیت انسانی (HLA) پدری را به‌عنوان عامل بیگانه شناسایی کرده و با القای آلوآنتی‌بادی‌هایی که نقش آنتی‌بادی‌های بلوکان را ایفا می‌کنند، سطح جنین را می‌پوشانند و آن را از پاسخ ایمنی مادری محافظت می‌کنند^[4, 1]. برخی مطالعات به این موضوع اشاره کرده‌اند که اکثر زنانی که به‌علت‌های آلوایمونی مبتلا به سقط مکرر خودبه‌خودی می‌شوند، HLA مشترک با HLA پدری دارند که این تشابه ممکن است مانع از شکل‌گیری پاسخ ایمنی مناسب در هنگام بارداری و ایجاد آنتی‌بادی‌های بلوکان نظیر آنتی‌بادی‌های سیتوتوکسیک مادر علیه لکوسیت‌های پدری (APCA)، آنتی‌بادی‌های آنتی‌ایدیوتایپی (Ab2) و آنتی‌بادی‌های بلوک‌کننده واکنش لنفوسیتی مخلوط (MLR-Bf) در آنها شود و عدم تشکیل این آنتی‌بادی‌ها را علت اصلی سقط می‌دانند^[4-7, 1]. لنفوسیت‌تراپی که بر همین اساس انجام می‌شود، یکی از درمان‌های مورد استفاده برای این بیماران است. در این روش درمانی انتظار می‌رود که با تحریک سیستم ایمنی زن به‌وسیله سلول‌های شوهر به این آنتی‌بادی‌های بلوکان دست یافت^[4, 5, 8]. مطالعات نشان داده است که در سقط‌های مکرر خودبه‌خودی که در آن اتیولوژی مشخصی وجود ندارد، یک عدم تعادل کلی در مکانیزم‌های تنظیمی سلول‌های ایمنی این افراد وجود دارد و حتی الگوی سلول‌های ایمونولوژیک در این افراد دچار تغییر می‌شود. این مطالعات، عدم انطباق الگوی سایتوکاینی و سلولی سلول‌های NK، لنفوسیت‌های T کمکی ۱ (Th1) و لنفوسیت‌های T کمکی ۲ (Th2) این بیماران را با زنانی که حاملگی‌های آنها با موفقیت همراه بوده است و سابقه سقط نداشته‌اند نشان داده‌اند^[9-13]. لی و همکاران افزایش پاسخ‌های پیش‌التهابی و سلول‌های Th17 و کاهش پاسخ‌های مهاري سلول‌های T تنظیمی (Treg) را در این بیماران نشان داده‌اند^[13]. بنابراین طی بارداری فقط آنتی‌بادی‌های بلوکان نیستند که منجر به حفظ بارداری و عدم سقط جنین می‌شوند و به‌طور کلی کاهش سطح بیان آنتی‌بادی‌های بلوکان (APCA، Ab2 و MLR-Bf)، تغییر در بیان مولکول‌های HLA، تغییر در الگوی سایتوکاینی سلول‌های T کمکی (Th1 و Th2) و سلول Th17، تغییر در میزان سایتوتوکسیسیته سلول NK و تغییر الگوی سلولی و سایتوکاینی Treg نیز می‌توانند در القای سقط مکرر خودبه‌خودی جنین نقش موثری داشته باشند^[14-16, 1]. یکی از روش‌های درمانی که برای بیماران سقط مکرر خودبه‌خودی در برخی مراکز درمانی اروپا و آسیا از جمله در ایران مورد توجه قرار گرفته است، لنفوسیت‌تراپی یا ایمونوتراپی با استفاده از لنفوسیت‌های پدری است که به‌منظور تحریک پاسخ ایمنی اختصاصی مادر به آلوآنتی‌ژن‌های پدری به‌کار رفته است، به‌طوری که برخی از گروه‌های تحقیقاتی، افزایش باروری را به‌دنبال این درمان گزارش داده‌اند^[6-8]. اثربخشی این شیوه درمانی به‌وسیله برخی محققان تایید شده است، در حالی که از سوی برخی دیگر مورد تردید است^[4-6, 17, 18]. در این روش درمانی، لنفوسیت‌های همسر یا یک اهداکننده سوم شخص را طی یک پروتکل ایمن‌سازی

اتفاق قرار داده شد. در مرحله بعد به همه چاهک‌ها ۲۵۰ میکرولیتر کمپلمان خرگوش اضافه شد و پلیت به مدت یک ساعت و نیم در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و پس از طی این مدت ۱۰۰ میکرولیتر ایوزین به تمام چاهک‌ها اضافه شد. بعد از ۵ دقیقه سلول‌ها به وسیله محلول ۱۲٪ فرمالین فیکس شدند و پلیت به وسیله میکروسکوپ اینورت بررسی شد. درصد سلول‌های مرده (سلول‌هایی که رنگ ایوزین به داخل آنها نفوذ کرده بود) به عنوان درصد کراس- مچ لکوسیتی گزارش شد [20-23]. در تفسیر نتایج چنانچه درصد کراس- مچ لکوسیتی بیشتر از ۳۵٪ بود، نتیجه آزمایش مثبت و مقادیر کمتر از آن به صورت جواب منفی گزارش شد.

یافته‌ها

آزمایش کراس- مچ لکوسیتی در ۳۱۹ بیمار (۴۵/۳۱٪)، بعد از انجام دو نوبت ایمونوتراپی با PBMC‌های همسرشان مثبت شد. ۳۸۵ بیمار باقیمانده (۵۴/۶۹٪) که آزمایش کراس- مچ آنها در ایمونوتراپی قبلی منفی شده بود، درمان را ادامه دادند و از بین آنها آزمایش ۱۶۸ بیمار دیگر (۲۳/۸۶٪) بعد از ایمونوتراپی مجدد با PBMC‌های همسرشان مثبت شد. در مجموع از ۷۰۴ بیماری که درمان لنفوسیتی را به طور کامل با PBMC‌های همسرشان انجام دادند، در ۴۸۷ بیمار (۶۹/۱۸٪) آزمایش کراس- مچ لکوسیتی مثبت شد. بیماران باقیمانده که پس از چندین نوبت ایمونوتراپی با PBMC‌های همسرشان، آزمایش آنان هنوز منفی بود، داوطلب درمان لنفوسیتی با استفاده از PBMC‌های اهداکننده‌های سوم شخص شدند که پس از ایمونوتراپی نتیجه آزمایش کراس- مچ لکوسیتی در ۵۱ بیمار (۷/۲۴٪) مثبت شد. از کل بیماران، در ۵۳۸ بیمار (۷۶/۴۲٪) پس از این نوع درمان، میزان APCA مثبت شد (شکل ۱).



شکل ۱) فراوانی نتایج مثبت و منفی آزمایش‌ها در مراحل مختلف مطالعه

بحث

مطالعه حاضر به منظور بررسی نتایج حاصل از تزریق لنفوسیت‌های شوهری و اهداکننده‌های سوم شخص انجام شد تا میزان اثربخشی

به زن تزریق کرده و سیستم ایمنی وی را برای پاسخ به آنتی‌ژن‌های پدری تحریک می‌کنند و نتیجه این ایمن‌سازی را با آزمون کراس- مچ لکوسیتی بررسی می‌کنند. این مطالعه با هدف بررسی نتایج کراس- مچ لکوسیتی حاصل از لنفوسیت‌تراپی زنان مبتلا به سقط مکرر خودبه‌خودی جنین انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه توصیفی- مقطعی در جمعیت زنان دارای سابقه سقط مکرر که دو یا بیشتر از دو سقط خودبه‌خودی داشتند و بین سال‌های ۱۳۸۷ تا ۱۳۹۱ به بیمارستان فوق تخصصی صرم شهر تهران مراجعه کرده بودند، انجام شد. از تعداد کل ۱۴۸۰ زن مراجعه‌کننده، ۷۰۴ بیمار، پس از اینکه مشخص شد علت سقط آنها اختلالات کاریوتاییپی، اختلالات آناتومیک رحم، چسبندگی رحم، اختلالات هورمون‌های جنسی و تیروئیدی، عوامل عفونی و عوامل اتوایمیونیتی شایع نبوده است، داوطلب درمان لنفوسیتی شدند و درمان لنفوسیتی، طبق پروتکل مشخص برای آنها انجام شد. سایر بیماران یا داوطلب درمان نشدند یا اینکه درمان را تا انتها ادامه ندادند، در نتیجه از مطالعه خارج شدند.

قبل از شروع درمان لنفوسیتی، آزمایش کراس- مچ لکوسیتی با استفاده از سرم بیماران و لکوسیت‌های همسر انجام شد و فقط به بیمارانی که نتیجه آزمایش آنها منفی بود (۵٪ <) کراس- مچ لکوسیتی)، درمان لنفوسیتی پیشنهاد شد. این درمان با توضیح عوارض جانبی آن به بیمار و بعد از امضای فرم رضایت‌نامه مورد تایید کمیته اخلاق بیمارستان صرم، برای بیماران داوطلب انجام شد.

درمان لنفوسیتی: پس از غربال‌گری همسر و یا اهداکننده‌های سوم شخص بیمار از لحاظ عوامل عفونی قابل سرایت از طریق خون شامل CMV، HBV، HCV، HIV، HTLV1 و *Treponema pallidum* و بعد از تعیین گروه خونی و Rh بیماران، همسر و یا اهداکننده‌های آنان، از همسر یا اهداکننده در دو نوبت متوالی و به فاصله ۳ هفته، ۲۵ میلی‌لیتر خون هپارینه گرفته شد و با حفظ شرایط استریل سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی (PBMC) آنان با استفاده از فایکول جدا سازی شد. بعد از ۳ بار شست‌وشوی سلول‌ها به وسیله سرم رینگر و شمارش آنها با استفاده از لام نتوبار در هر نوبت تعداد 100×10^6 - ۸۰ سلول در ۱ میلی‌لیتر سرم رینگر به صورت داخل جلدی در چند نقطه از بازوی بیمار تزریق شد. دو هفته پس از آخرین ایمونوتراپی، سرم بیماران و PBMC اهداکننده‌ها جدا شد و به منظور بررسی APCA آزمایش کراس- مچ لکوسیتی انجام شد [19-21]. این بیماران به طور معمول، ایمونوتراپی را در دو نوبت انجام دادند و افرادی که آزمایش کراس- مچ لکوسیتی آنها بعد از این دو نوبت مثبت نشد، درمان را در ۲ الی ۳ نوبت دیگر و یا با استفاده از PBMC‌های اهداکننده سوم شخص ادامه دادند.

تعیین درصد APCA با آزمایش کراس- مچ لکوسیتی: PBMC‌های شوهر یا اهداکننده با استفاده از فایکول و تحت شرایط استریل از خون آنها جدا شد و پس از شست‌وشو با بافر هنسکس، تا زمان انجام آزمایش روی یخ و درون یخچال نگهداری شد. از طرف دیگر سرم بیماران جدا شد و ۵۰ میکرولیتر از رقت‌های ۱:۲، ۱:۴ و ۱:۸ آن در چاهک‌های میکروپلیت ۷۲ خانه‌ای ریخته شد. در چاهک‌های مجزا نیز سرم‌های کنترل مثبت و منفی ریخته شد. در چاهک‌های مربوط به هر بیمار تعداد ۵۰۰ سلول از PBMC‌های شوهر یا اهداکننده (در حجم ۵۰ میکرولیتر) اضافه شد و سپس پلیت نیم ساعت در دمای

سهم نویسندگان: ابوطالب صارمی (نویسنده اول)، نگارنده مقاله/پژوهشگر اصلی/ نگارنده بحث (۳۰٪)؛ مریم صنایع نادری (نویسنده دوم)، نگارنده مقاله/پژوهشگر کمکی (۱۵٪)؛ آرش پولادی (نویسنده سوم)، نگارنده مقاله/روش‌شناس/پژوهشگر کمکی/ تحلیل‌گر آماری (۱۰٪)؛ بهنام یونسی (نویسنده چهارم)، نگارنده مقاله/ پژوهشگر کمکی (۱۰٪)؛ پیمان لشگری (نویسنده پنجم)، نگارنده مقاله/ پژوهشگر کمکی (۱۰٪)؛ احد زارع (نویسنده ششم)، نگارنده مقاله/پژوهشگر کمکی/ تحلیل‌گر آماری/ نگارنده بحث (۲۵٪)

منابع

- 1- Pandey MK, Rani R, Agrawal S. An update in recurrent spontaneous abortion. Arch Gynecol Obstet. 2005;272(2):95-108.
- 2- Toth B, Jeschke U, Rogenhofer N, Scholz C, Wurfel W, Thaler CJ, et al. Recurrent miscarriage: Current concepts in diagnosis and treatment. J Reprod Immunol. 2010;85(1):25-32.
- 3- Saito S. The causes and treatment of recurrent pregnancy loss. J Jpn Med Assoc. 2009;52(2):97-102.
- 4- Ito K, Tanaka T, Tsutsumi N, Obata F, Kashiwagi N. Possible mechanisms of immunotherapy for maintaining pregnancy in recurrent spontaneous aborters: Analysis of anti-idiotypic antibodies directed against autologous T-cell receptors. Hum Reprod. 1999;14(3):650-5.
- 5- Pandey MK, Agrawal S. Induction of MLR-Bf and protection of fetal loss: A current double blind randomized trial of paternal lymphocyte immunization for women with recurrent spontaneous abortion. Int Immunopharmacol. 2004;4(2):289-98.
- 6- Pandey MK, Thakur S, Agrawal S. Lymphocyte immunotherapy and its probable mechanism in the maintenance of pregnancy in women with recurrent spontaneous abortion. Arch Gynecol Obstet. 2004;269(3):161-72.
- 7- Takeshita T. Diagnosis and treatment of recurrent miscarriage associated with immunologic disorders: Is paternal lymphocyte immunization a relic of the past? J Nippon Med Sch. 2004;71(5):308-13.
- 8- Khonina NA, Broitman EV, Shevela EY, Pasman NM, Chernykh ER. Mixed lymphocyte reaction blocking factors (MLR-Bf) as potential biomarker for indication and efficacy of paternal lymphocyte immunization in recurrent spontaneous abortion. Arch Gynecol Obstet. 2013;288(4):933-7.
- 9- King K, Smith S, Chapman M, Sacks G. Detailed analysis of peripheral blood natural killer (NK) cells in women with recurrent miscarriage. Hum Reprod. 2010;25(1):52-8.
- 10- Quenby S, Farquharson R. Uterine natural killer cells, implantation failure and recurrent miscarriage. Reprod Biomed Online. 2006;13(1):24-8.
- 11- Saito S, Nakashima A, Shima T, Ito M. Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy. Am J Reprod Immunol. 2010;63(6):601-10.
- 12- Tang AW, Alfrevic Z, Quenby S. Natural killer cells and pregnancy outcomes in women with recurrent miscarriage and infertility: A systematic review. Hum Reprod. 2011;26(8):1971-80.
- 13- Lee SK, Kim JY, Hur SE, Kim CJ, Na BJ, Lee M, et al. An imbalance in interleukin-17-producing T and Foxp3(+) regulatory T cells in women with idiopathic recurrent

لنفوسیت‌تراپی را در ایجاد پاسخ‌های ایمنی مطلوب بر مبنای آزمایش کراس- مچ لکوسیتی ارزیابی کند. اهمیت سیستم ایمنی در حفظ و نگهداری جنین از یک سو و نقش آن در سقط مکرر از سوی دیگر، موجب شده است تا عوامل ایمونولوژیک به عنوان یکی از دلایل سقط مکرر خودبه‌خودی معرفی شوند [6, 24, 25]. با توجه به اینکه جنین در سطح خود دارای مولکول و آنتی‌ژن‌هایی است که مربوط به پدر است و برای بدن مادر بیگانه به حساب می‌آیند، بنابراین نقش تنظیمی سیستم ایمنی مادر در برخورد با این آنتی‌ژن‌ها و حفظ و نگهداری جنین بسیار مهم است [11, 17]. مطالعات نشان داده است در بیماران دارای سقط مکرر این مکانیزم‌های تنظیمی ایمونولوژیک دچار اختلال می‌شود که علی‌رغم اشاره بعضی از مطالعات به تشابه بین آنتی‌ژن‌های HLA پدر و مادر به عنوان علت این عارضه، هنوز دلیل اصلی این اختلال کاملاً شناخته نشده است و همچنان توسط دانشمندان در حال بررسی است [1, 5, 6].

تجربیات و مطالعات دانشمندان و پژوهشگران حوزه ناباروری و سقط‌های مکرر، نشان داده است که چنانچه زنان دارای سابقه سقط مکرر را قبل از اقدام به بارداری با گلبول‌های سفید همسرشان و یا یک شخص ثالث ایمن‌سازی کنند، برآیند اتفاقات ایمونولوژیکی که پس از این درمان رخ می‌دهد منجر به افزایش شانس حفظ جنین می‌شود. مطالعات جدید، دلیل آن را تغییر در مکانیزم‌های تنظیمی سیستم ایمنی بیان می‌کنند [17, 20, 26]. یکی از روش‌های ارزیابی موفقیت آمیز بودن این درمان در ایجاد APCA، سنجش این آنتی‌بادی‌ها با استفاده از آزمایش کراس- مچ لکوسیتی است (با ۶۴/۵٪ اختصاصی بودن) که پزشکان موافق با این درمان، آن را ملاکی برای افزایش شانس موفقیت بارداری می‌دانند [1, 20, 21]. در این آزمایش در صورت ایجاد APCA در بدن بیمار، این آنتی‌بادی‌ها که در سرم بیمار موجود است با آنتی‌ژن‌های سطحی لکوسیت‌های همسر واکنش داده و با اضافه کردن کمپلمان به محیط آزمایش منجر به مرگ لکوسیت‌ها می‌شود که درصد سلول‌های مرده‌ای که رنگ ایوزین را جذب کرده‌اند، به عنوان نتیجه آزمایش در نظر گرفته می‌شود. میزان اثربخشی و موفقیت این روش درمانی در بارداری و حفاظت در مقابل سقط جنین، مستلزم پیگیری تک تک بیماران مورد مطالعه است.

نتیجه‌گیری

لنفوسیت‌تراپی بر افزایش میزان APCA موثر است. استمرار و ادامه لنفوسیت‌تراپی می‌تواند شانس مثبت شدن آزمایش کراس- مچ لکوسیتی را در زنان مبتلا به سقط مکرر خودبه‌خودی افزایش دهد.

تشکر و قدردانی: از همکاران گرامی دپارتمان سقط مکرر و آزمایشگاه جنرال بیمارستان فوق تخصصی صارم کمال تشکر را داریم.

تأییدیه اخلاقی: این روش درمانی با توضیح عوارض جانبی آن به بیمار و بعد از امضای فرم رضایت‌نامه مورد تأیید کمیته اخلاق بیمارستان فوق تخصصی صارم، برای بیماران داوطلب انجام شد.

تعارض منافع: موردی از سوی نویسندگان گزارش نشده است.

منابع مالی: مرکز تحقیقات باروری و ناباروری صارم و پژوهشکده سلولی- مولکولی و سلول‌های بنیادی صارم منابع مالی این تحقیق را فراهم کرده است.

Factors influencing success rate of leukocyte immunization and anti-paternal antibodies in spontaneous recurrent miscarriage. *Am J Reprod Immunol.* 2007;57(3):169-76.

21- Umapathy S, Shankarkumar A, Ramrakhiyani V, Ghosh K. Role of anti-human lymphocyte culture cytotoxic antibodies in recurrent spontaneous pregnancy loss women. *J Hum Reprod Sci.* 2011; 4(1): 17-19.

22- Mittal KK, Mickey MR, Singal DP, Terasaki PI. Serotyping for homotransplantation. 18. Refinement of microdroplet lymphocyte cytotoxicity test. *Transplantation.* 1968;6(8):913-27.

23- Terasaki PI, McClelland JD. Microdroplet assay of human serum cytotoxins. *Nature.* 1964;204:998-1000.

24- Shreeve N, Sadek K. Intralipid therapy for recurrent implantation failure: New hope or false dawn?. *J Reprod Immunol.* 2012;93(1):38-40.

25- Moraru M, Carbone J, Alecsandru D, Castillo-Rama M, Garcia-Segovia A, Gil J, et al. Intravenous immunoglobulin treatment increased live birth rate in a Spanish cohort of women with recurrent reproductive failure and expanded CD56(+) cells. *Am J Reprod Immunol.* 2012;68(1):75-84.

26- Zare A, Saremi A, Hajhashemi M, Kardar GA, Moazzeni SM, Pourpak Z, et al. Correlation between serum zinc levels and successful immunotherapy in recurrent spontaneous abortion patients. *J Hum Reprod Sci.* 2013;6(2):147-51.

pregnancy loss. *Hum Reprod.* 2011;26(11):2964-71.

14- Lee SK, Kim JY, Lee M, Gilman-Sachs A, Kwak-Kim J. Th17 and regulatory T cells in women with recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol.* 2012;67(4):311-8.

15- Lim KJ, Odukoya OA, Ajjan RA, Li TC, Weetman AP, Cooke ID. The role of T-helper cytokines in human reproduction. *Fertil Steril.* 2000;73(1):136-42.

16- Zenclussen AC, Fest S, Busse P, Joachim R, Klapp BF, Arck PC. Questioning the Th1/Th2 paradigm in reproduction: Peripheral levels of IL-12 are down-regulated in miscarriage patients. *Am J Reprod Immunol.* 2002;48(4):245-51.

17- Liang P, Mo M, Li GG, Yin B, Cai J, Wu T, et al. Comprehensive analysis of peripheral blood lymphocytes in 76 women with recurrent miscarriage before and after lymphocyte immunotherapy. *Am J Reprod Immunol.* 2012;68(2):164-74.

18- Kling C, Steinmann J, Westphal E, Magez J, Kabelitz D. Adverse effects of intradermal allogeneic lymphocyte immunotherapy: Acute reactions and role of autoimmunity. *Hum Reprod.* 2006;21(2):429-35.

19- Carp HJ, Toder V, Gazit E, Orgad S, Mashiach S, Nebel L, et al. Immunization by paternal leukocytes for prevention of primary habitual abortion: Results of a matched controlled trial. *Gynecol Obstet Invest.* 1990;29(1):16-21.

20- Chaichian S, Shoaee S, Saremi A, Pedar S, Firouzi F.