مقاله پژوهشی

بررسی رابطهٔ HLA-G سرمی با موفقیت روش کمک باروری ICSI

زهرا علی‌نژاد[1]*، رضا جعفری شکیب[1]، فاطمه یاری[2]، زیبا ظهیری[3]، کامبیز فرقان‌پرست[1]، زهرا عطرکار روشن[4]، فرنگیس نجفی[1]

۱- گروه میکروب شناسی و ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی گیلان، رشت، ایران

۲- مرکز تحقیقات، سازمان انتقال خون ایران، تهران، ایران

۳- گروه زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی گیلان، رشت، ایران

٤- گروه پزشکی اجتماعی و آمار، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی گیلان، رشت، ایران

چکیده

زمینه و هدف: بارداری، در واقع مانند پیوند عضوی موفق است. عواملی که در عدم دفع جنین مؤثرند هنوز به خوبی شناخته نشده‌اند. درصد موفقیت و لانه‌گزینی جنین حاصل از روش‌های کمک باروری نیز ممکن است به همین عوامل وابسته باشد. ملکول HLA-G یکی ازانواع ملکول‌های MHC کلاس یک غیر کلاسیک است که اخیراً در ارتباط با بارداری مورد توجه زیادی قرار گرفته است. در این مطالعه مقدار HLA-G محلول در سرم زنان تحت درمان با روش ICSI قبل و بعد از انتقال جنین اندازه‌گیری و همچنین با مقادیر HLA-G محلول در سرم زنان باردار طبیعی مقایسه شد تا رابطه حضور و غلظت سرمی آن با بارداری موفق تعیین گردد. هدف این مطالعه تعیین نقش HLA-G سرمی و تغییرات غلظت آن در موفقیت یا شکست روش‌های کمک باروری است تا در تشخیص، پیشگویی و درمان ناباروری مورد استفاده قرار گیرد.

روش بررسی: نمونه سرمی از ۱۰۷ نفر زن تحت عمل ICSI در گروه آزمایشی قبل و ١٤ روز بعد از انتقال جنین و ٢٤ نمونه سرمی از زنان باردار طبیعی در گروه کنترل در سه ماهه اول بارداری جمع‌آوری شد. ایزوفرم‌های HLA-G1,-G5 محلول وHLA-G محلول توتال با روش الایزای ساندویچ بررسی شدند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون تی و آزمون‌های غیر پارامتریک K-S، من ویتنی و ویلکاکسون در سطح معنی‌داری α=۰/۰۵ استفاده گردید.

نتایج: ویژگی‌های دموگرافیک (سن، مدت ناباروری، رژیم درمانی) در گروه آزمایشی با بارداری موفق و ناموفق تفاوت آماری معنی‌داری نداشت. مقدار HLA-G1,-G5 محلول و HLA-G محلول توتال در سرم زنان قبل و بعد از ICSI در گروه با بارداری موفق به ترتیب ٤٧/٤±٦٢/٨*U/ml*، OD: ١/٤٧±٠/٥٨ قبل و ٥٩/٦±٦٩/٥*U/ml*، OD: ١/٣٨±٠/٥٧ بعد از ICSI و در گروه بارداری ناموفق به ترتیب ٣٥/٧±٥٥/٢*U/ml*، OD:١/٣٧±٠/٤٥ قبل و ٣٩/٧±٥٧/٢*U/ml*، OD: ١/٣١±٠/٤٦ بعد از ICSI بود. به همین ترتیب در گروه کنترل با بارداری طبیعی مقادیر به ترتیب ٥٣/١٦±٤٧/٩٢*U/ml* و OD: ١/٢٩±٠/٤٩ بود. در هیچکدام از موارد فوق تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد. پس از بررسی و مقایسه ۲۹ مورد بارداری موفق و ۷۸ مورد بارداری ناموفق، میزان موفقیت بارداری با تغییر غلظت ایزوفرم‌های HLA-G1,-G5 محلول وHLA-G توتال محلول بعد از درمان با روش ICSI در دو گروه ارتباطی نشان نداد.

نتیجه‌گیری: در زنان تحت درمان با روش‌های کمک باروری رابطه معنی‌داری بین موفقیت بارداری و HLA-G محلول سرمی مشاهده نگردید. بنابراین به نظر می‌رسد HLA-G سرمی اهمیت تشخیصی چندانی در موفقیت یا شکست این روشها نداشته باشد.

کلید واژگان: HLA-G محلول، بارداری، تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم، روش‌های کمک باروری، سرم، لانه گزینی جنین، لقاح خارج رحمی.

نحوه استناد به این مقاله: علی‌نژاد زهرا، جعفری شکیب رضا، یاری فاطمه، ظهیری زیبا، فرقان‌پرست کامبیز، عطرکار روشن زهرا، نجفی فرنگیس. بررسی رابطهٔ HLA-G سرمی با موفقیت روش کمک باروری ICSI. فصلنامه باروری و ناباروری: سال ۱۲ (۱۳۹۰)، شماره ۲، صفحات: ۹۹-۹۳.

* **مسئول مکاتبه:** زهرا علی‌نژاد، گروه میکروب شناسی و ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی گیلان، کیلومتر ٥ جادهٔ رشت قزوین، صندوق پستی: ٣٣٦٣، رشت، ایران

رایا نامه:
zahra_alinejad_p@yahoo.com

دریافت: ١٣٨٩/٤/١٣

پذیرش: ١٣٨٩/٧/٢٥

Downloaded from http://www.jri.ir

زمینه و هدف

HLA-G از آنتی ژن‌های نسجی است که توسط هر دو منبع مادری و جنینی تولید می‌شود و به طور عمده در سطح سیتوتروفوبلاست‌های جنینی دارای تماس مستقیم با مادر یافت می‌شود و به همین دلیل به نظر می‌رسد یکی از عوامل ایجاد تولرانس در مادر باشد (۳-۱). این ملکولها در جریان لانه‌گزینی جنین، تکامل تروفوبلاستها و اتصال بلاستوسیتها به آندومتریوم رحم، تمایز و تهاجم آنها به سلول‌های اپی تلیالی شریانی مادر و شرکت در تشکیل عروق خونی[1] برای تامین خون کافی برای اکسیژن رسانی به جنین نقش دارند (۴،۵). HLA-G حتی به عنوان فاکتور مهارکننده سیستم ایمنی در برخی بیماریها مانند عفونت‌های ویروسی، التهاب جلدی مزمن و در بقا پیوند اعضاء و گسترش برخی تومورها مطرح شده است (۱،۶). سلول‌های تروفوبلاست جنینی فاقد مولکول‌های MHC کلاس یک می‌باشند؛ بنابراین لنفوسیت‌های T سایتوتوکسیک مادری قادر به دفع آنها نمی‌باشند؛ ولی سلول‌های NK در غیاب مولکول‌های MHC کلاس یک می‌توانند فعال شوند. ملکول‌های HLA-G ممکن است از طریق مهار سلول‌های NK یکی از عوامل مهم عدم دفع جنین باشند. تفاوت‌های ژنتیکی HLA-G در ارتباط با تغییر در بیان آن در سطح سلولها و یا تغییرات غلظت سرمی آن، در بعضی مشکلات بارداری مانند اکلامپسی و پره‌اکلامپسی و سقط‌های مکرر خود به خودی مورد توجه قرار گرفته است (۷). انواع محلول HLA-G در مایعات مختلف نظیر سرم، پلاسما، مایع آمنیوتیک، مایع روئی محیط کشت جنین، مایع رویی بافت جفتی و مایع فولیکولی نیز نشان داده شده است (۲،۸).

ژن HLA-G پلی‌مورفیسم کمی دارد؛ ولی تا به حال هفت نوع ایزوفرم برای این ملکول شناخته شده است (۱،۲) که چهار نوع آن در سطح سلولها و سه نوع دیگر به صورت محلول است. تشخیص انواع ایزوفرم‌های HLA-G توسط آنتی بادی‌های مونوکلونال اختصاصی صورت می‌گیرد.

ایزوفرم‌های HLA-G1 سطح سلولی و HLA-G5 محلول دارای ساختمان کامل دو زنجیره‌ای است (آلفا و بتا دو مایکروگلوبولین) و با یک آنتی بادی ضد زنجیره بتا دو مایکروگلوبولین تشخیص داده می‌شوند. در حالی که انواع HLA-G5 و HLA-G6 بیست و یک اسید آمینه اختصاصی در انتهای دومن آلفا سه[2] خود دارند و با آنتی‌بادی‌های مونوکلونال علیه بخش انتهایی (کد شده توسط قطعه intron 4) قابل تشخیص می‌باشند. HLA-G توتال نیز با یک آنتی‌بادی مونوکلونال ضد دومن آلفا[3] یک که مشترک در همه ایزوفرم‌هاست، تعیین و اندازه‌گیری می‌شود (۳،۸). در اندازه گیری انواع محلول به علت ریزش[4]، و حضور در مایعات، HLA-G1 سطح سلولی نیز تعیین می‌گردد. تعیین و اندازه‌گیری انواع محلول به علت در دسترس بودن آسان‌تر است؛ هر چند منبع تولید آنها کاملاً مشخص نشده است.

ملکول‌های HLA-G در سرم زنان باردار، غیر باردار و حتی در سرم مردان نیز یافت شده است که نشان می‌دهد غیر از سلول‌های سیتوتروفوبلاست منابع دیگری نیز برای تولید آن وجود دارد (۹).

در مطالعه‌ای HLA-G محلول در مایع آمنیوتیک را مسئول ایجاد تولرانس در مادر دانسته شده است و مطالعه دیگری حتی زایمان را یک واقعه ایمونولوژیکی محسوب کرده و وابسته به کاهش HLA-G در مایع آمنیوتیک می‌داند (۱۰). بنابر یافته‌های فوق، مطالعاتی براساس جستجوی HLA-G محلول در مایعات مختلف از جمله سرم زنان و محیط کشت جنین آزمایشگاهی صورت گرفته تا نقش آن در بارداری و کاشت جنین آزمایشگاهی تعیین گردد. تشخیص HLA-G محلول در سرم و محیط کشت اغلب همراه با موفقیت در باروری گزارش شده است؛ ولی در بسیاری از موارد نیز با وجود HLA-G عدم موفقیت در بارداری نیز وجود داشته است و یا هیچ HLA-G محلولی در محیط کشت جنین در لقاح خارج رحمی یافت نشده است (۱۱).

اگر HLA-G برای موفقیت بارداری در روش‌های کمک باروری (ART)[5] لازم باشد تعیین حضور و غلظت آن در مایعات بیولوژیکی زنان تحت درمان ناباروری، اهمیت

1- Angiogenesis

2- α3 Domain
3- Anti α1 Domain
4- Shedding
5- Assisted Reproductive Techniques

Downloaded from http://www.jri.ir

کاربردی پیدا می‌کند و در هر دو زمینه تشخیص و درمان نظریات جدیدی قابل ارائه خواهد بود. لذا هدف از این بررسی تشخیص اهمیت حضور و غلظت HLA-G محلول سرمی در موفقیت روش‌های کمک باروری (ART) است.

روش بررسی

بیماران و انجام لقاح خارج رحمی: تعداد یکصد و هفت نفر زن نابارور مراجعه کننده به بیمارستان فامیلی رشت (۸۸-۱۳۸٦)، با دلایل مختلف و در ۹۵٪ موارد با علت مردانه[1] که تحت درمان با روش کمک باروری تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم (ICSI) بودند پس از تکمیل پرسشنامه، فقط یک بار در گروه مورد آزمایش قرار گرفتند. همه بیماران از یک رژیم درمانی یکسان استفاده کردند. سرم زنان تحت درمان قبل و چهارده روز بعد از انتقال جنین، تهیه شد. تعداد ۱۵ نمونه به طور عمده به علت کم بودن حجم نمونه خون از دست رفتند. تعداد ۲٤ نمونه خون زنان باردار سالم در سه ماهه اول بارداری از مرکز بهداشت خیابان پاستور رشت به عنوان گروه کنترل تهیه شد. این زنان جهت تشکیل پرونده به مرکز بهداشت مراجعه کرده بودند و پس از انجام آزمایش های مربوطه باقیمانده سرم آنها بدون ذکر نام و مشخصات جمع‌آوری شد. نمونه‌های سرم پس از جدا شدن تا زمان آزمایش در دمای ۲۰ ℃- نگهداری شد. چهارده روز پس از انتقال جنین، آزمایش اندازه‌گیری سطح β-HCG سرم برای گروه آزمایشی انجام شد تا دو گروه باردار وغیر باردار مشخص شوند.

اندازه‌گیری HLA-G در سرم: HLA-G محلول در سرم زنان تحت درمان به روش ICSI قبل و حدود چهارده روز بعد از انتقال جنین تعیین گردید تا ارتباط حضور و سطح سرمی HLA-G با بارداری تعیین شده و علاوه بر آن تغییر سطح سرمی HLA-G پس از ICSI در دو گروه مشخص گردد. با استفاده از روش الایزای ساندویچ ایزوفرم‌های HLA-G1,-G5 در سرم (EXBIO/BioVendor Czech Republic) تعیین گردید. حساسیت تست براساس دستورالعمل شرکت سازنده ۱*U/ml* برابر با ۰/٤*ng/ml*-۰/۵ می‌باشد. در این کیت از آنتی‌بادی مونوکلونال ضد HLA-G به نام MEM-G9 برای پوشاندن پلیت در لایه اول استفاده شده و آنتی‌بادی مونوکلونال ضد زنجیره بتا دو مایکروگلوبولین متصل به زنجیره سنگین به نام W6/32 و کونژوگه شده با آنزیم به عنوان آنتی‌بادی تعیین کننده مورد استفاده قرار می‌گیرد. برای تعیین سایر ایزوفرمها از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال (5E6H7) که توسط خانم دکتر یاری بر علیه زنجیرهٔ آلفا یک (مشترک در همه ایزوفرم‌های HLA-G) تولید شده و آنتی بادی پلی‌کلونال تخلیص شده ضد HLA-G که در خرگوش توسط آقای دکتر احمد رضایی (سازمان انتقال خون ایران، تهران) تهیه شده استفاده گردید. طبق روش قبلا شرح داده شده (۱۲) ابتدا پلیت الیزا با آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال ضد HLA-G پوشانده شد. پس از اضافه کردن نمونه‌های سرمی آنتی‌بادی‌های مونوکلونال (5E6H7) در لایه بعدی قرار گرفت تا با یک آنتی‌بادی ضد ایمونوگلوبولین موش، تهیه شده در بز و کونژوگه شده به آنزیم (شرکت Abcam: ab7068) تشخیص کمپلکس نهایی صورت گیرد و ایزوفرم‌های مختلف به‌صورت توتال اندازه‌گیری شود. برای کنترل صحت آزمایش، از کنترل مثبت (موجود در کیت HLA-G1, -G5) و کنترل منفی (یک بار حذف لایهٔ اول و بار دیگر حذف لایهٔ سوم) استفاده شد و نمونه ها به صورت دو تایی (duplicate) گذاشته شد. در تعیین HLA-G1,-G5 که از کیت‌های تجاری استفاده شد به علت وجود سرم‌های استاندارد تجاری مقادیر به‌صورت کمی محاسبه شدند و برای تعیین HLA-G توتال به‌علت عدم وجود سرم‌های استاندارد OD خوانده شده مأخذ قرار گرفت و مقادیر به‌صورت نسبی تعیین گردید.

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها ابتدا از آزمون K-S استفاده گردید و با توجه به نرمال نبودن توزیع داده‌ها پس از اعمال تبدیل، از آزمون تی و آزمون‌های غیرپارامتری، من ویتنی و ویلکاکسون با نرم افزار SPSS ویرایش ۱٦ استفاده گردید و سطح معنی‌داری α=۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

1- Male factor

Downloaded from http://www.jri.ir

نتایج

مشخصات دموگرافیک و بالینی در زنان تحت ICSI در دو گروه موفق و ناموفق در بارداری در جدول یک آمده است. بیماران در دو گروه از نظر میانگین سنی، مدت ناباروری و رژیم درمانی (تعداد آمپول‌های FSH و مدت زمان تحریک) تفاوت آماری معنی‌داری نداشتند. مقدار HLA-G1,-G5 (جدول ۲) در سرم زنان تحت ICSI با بارداری موفق و در سرم گروه باردار طبیعی (گروه کنترل) تفاوت آماری معنی‌داری نشان نداد. در آنالیز آماری (جدول ۳) با استفاده از آزمون یو من ویتنی مقدار HLA-G1,-G5 بین زنان گروه آزمایشی با بارداری موفق و ناموفق قبل و بعد از انتقال جنین تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد. علاوه بر آن مقایسه مقدار HLA-G1,-G5 قبل و ۱۴ روز بعد از انتقال جنین در هر گروه به تنهایی (جدول ۳) با استفاده از آزمون آماری ویلکسون تفاوت آماری معنی‌داری را نشان نداد. یعنی بین میزان موفقیت بارداری با تغییر سطح سرمی HLA-G1,-G5 ارتباطی مشاهده نشد. به همین ترتیب در آنالیز آماری (جدول ٤) با استفاده از آزمون یو من ویتنی غلظت (OD) HLA-G در دو گروه آزمایشی با بارداری موفق و ناموفق

جدول ۱. مشخصات کلینیکی زنان نابارور تحت درمان با ICSI

متغیر	باردار	غیر باردار	P-value
سن	۳۰/۲±٦/۰	۳۱/٦±٦/۷	NS
مدت ناباروری (*سال*)	۷/۱±٤/٥	٦/٦±٤/٥	NS
تعداد آمپول‌های FSH	۲٦/۹±٥/۲	۲۷/٥±٦/۸	NS
مدت زمان تحریک(*روز*)	۱۲/۰۲±۲/٤	۱۱/۷±۱/۹	NS

مقادیر با میانگین و انحراف معیار بیان می‌شود

تفاوت آماری معنی‌داری را نشان نداد. علاوه بر آن مقایسه مقدار HLA-G توتال قبل و ۱٤ روز بعد از انتقال جنین در هر گروه به تنهایی (جدول ٤) با استفاده از آزمون آماری ویلکسون تفاوت آماری معنی‌داری را نشان نداد. یعنی میزان موفقیت بارداری با تغییر سطح سرمی HLA-G توتال ارتباطی نشان نداد.

بحث

در مورد حضور HLA-G در سرم زنان و مردان اختلاف نظر وجود دارد (۱۳). بعضی از گزارشها در همه نمونه‌های خود HLA-G محلول را یافته‌اند (۱٦-۱٤). در مطالعه حاضر

جدول ۲. مقایسه غلظت HLA-G1,-G5 و توتال در سرم زنان تحت IVF با بارداری موفق (T14) و زنان باردار طبیعی

بارداری	sHLA-G1,-G5			Total sHLA-G		
	تعداد	غلظت (*U/ml*) (X±SD)	میانه (صدک ۹۵- صدک۵)	تعداد	غلظت (OD) (X±SD)	میانه (صدک ۹۵- صدک۵)
بارداری (T14)	۲۹	٥۹/٦±٦۹/٥	٤۲/۹ (٤/۹ -۲۲۱/٤)	۲۳	۱/۳۸±۰/٥۷	۱/۲٤ (۰/۷٥-۲/۳)
بارداری طبیعی	۲٤	٥۳/۱٦±٤۷/۹۲	۳٤/٥ (٤-۱۸۳/۳)	۱٤	۱/۲۹±۰/٤۹	۱/۱۸ (۰/۸ -۲/۲۲)
نتیجه آزمون	NS			NS		

جدول ۴. مقایسه میزان موفقیت بارداری با sHLA-G (OD) توتال قبل و ۱٤ روز بعد از انتقال جنین با روش ICSI

بارداری (تعداد)	غلظت sHLA-G(OD) (قبل) T0		غلظت (OD) sHLA-G (بعد) T14		نتیجه آزمون
	میانگین (M±SD)	میانه (صدک۹۵- صدک۵)	میانگین (M±SD)	میانه (صدک۹۵- صدک۵)	
موفق (۲۳)	۱/٤۷±۰/٥۸	۱/۳٥ (۰/۷٦-۲/٦۸)	۱/۳۸±۰/٥۷	۱/۲٤ (۰/۷٥ -۲/۳۰)	NS
ناموفق (۶۹)	۱/۳۷±۰/٤٥	۱/۲٤ (۰/٦٤ -۲/٦٥)	۱/۳۱±۰/٤٦	۱/۱۸ (۰/۷۹ -۲/۲۲)	NS
نتیجه آزمون	NS		NS		

Downloaded from http://www.jri.ir

جدول ۳. مقایسه میزان موفقیت بارداری با غلظت sHLA-G1,-G5 قبل و ۱۴روز بعد از انتقال جنین با روش ICSI

بارداری (تعداد)	غلظت sHLA-G (*U/ml*) (قبل) T0		غلظت sHLA-G (*U/ml*) (بعد) T14		نتیجه آزمون
	میانگین (M±SD)	میانه (صدک۹۵- صدک۵)	میانگین (M±SD)	میانه (صدک۹۵- صدک۵)	
موفق (۲۹)	۴۷/۴±۶۲/۸	۱۷/۴ (۴/۳-۲۲۰)	۵۹/۶±۶۹/۵	۴۲/۹ (۴/۶-۲۲۱/۹)	NS
ناموفق (۷۸)	۳۵/۷±۵۵/۲	۱۴/۵ (۳/۷-۲۲۴)	۳۹/۷±۵۷/۲	۱۵/۶ (۴/۲-۲۲۰)	NS
نتیجه آزمون	NS		NS		

در سرم همه زنان باردار طبیعی و باردار با روش کمک باروری ICSI و غیر باردار، HLA-G1,-G5 محلول و HLA-G توتال با دامنه تغییرات وسیع وجود داشت؛ ولی اختلاف معنی‌داری از نظر غلظت آنها در گروه‌ها مشاهده نمی‌شود. عوامل تنظیم کننده سطح سرمی HLA-G کاملاً مشخص نیست. تفاوت در منابع تولید می‌تواند یکی از عوامل شدت دامنه تغییرات باشد. منابع تولید در افراد غیر باردار، فاگوسیتها، لنفوسیت‌های گردشی و سلول‌های چشم و پوست ذکر شده است (۱،۲). در زنان باردار، تروفوبلاستها و سلول‌های اپیتلیالی آمنیوتیک به عنوان منابع تولید اضافه می‌شوند؛ ولی ممکنست مقدار آن را در گردش خون تغییری ندهد و افزایش به صورت موضعی فقط در محل جنین باشد و ممکنست HLA-G محلول در سرم زنان باردار نیز منبع غیر تروفوبلاستیک داشته باشد. وضعیت سیستم ایمنی افراد، تاثیر سایتوکاینها و آلل‌های ژنی متفاوت HLA-G نیز می‌تواند دلیل دیگر تفاوت‌های شدید غلظت در افراد مختلف باشد (۱۴،۱۷). تفاوت‌های آللی در نوع ایزوفرم‌های تولید شده نیز می‌تواند نقش داشته باشد (۱۸).

نقش HLA-G در موفقیت روش بارداری آزمایشگاهی تا کنون به خوبی روشن نشده است. در مورد کاهش، افزایش و یا عدم تغییر غلظت HLA-G پس از بارداری گزارش‌های متفاوتی وجود دارد. در یک بررسی نشان داده شده که مقدار HLA-G در سرم زنان باردار نسبت به زنان غیر باردار افزایش معنی‌داری پیدا می‌کند (۱۹). ایزوفرم افزایش یافته در این تحقیق، HLA-G6 محلول معرفی شده که در تحقیق کنونی اندازه‌گیری نشد. چند مطالعه روی بارداری آزمایشگاهی نشان می‌دهد زنانی که دارای مقادیر HLA-G سرمی بالاتری هستند شانس موفقیت بیشتری دارند و غلظت کم آن به طور اولیه (قبل از بارداری) یک فاکتور خطر برای سقط پس از کاشت جنین آزمایشگاهی می‌باشد و همچنین افزایش غلظت آن در سرم (پس از بارداری) در نگهداری بارداری موثر بوده است (۱۵،۱۹،۲۰). در مطالعه حاضر نیز هیچگونه تغییر غلظت سرمی در زنان با بارداری موفق پس از ICSI مشاهده نشد. عدم تغییر غلظت سرمی در سه ماهه اول و دوم و کاهش آن در سه ماهه آخر در طول بارداری طبیعی (۱۰) و کاهش آن در زنان با سقط جنین (۱۶) و در زنان مبتلا به پره اکلامپسی (۲۱) و در زنان تحت باروری آزمایشگاهی ناموفق (۲۲)، زایمان و مشکلات بارداری را در رابطه با این کاهش مطرح می‌کنند. در مطالعه کنونی هیچگونه کاهش غلظت HLA-G در سرم زنان ناموفق در بارداری مشاهده نمی‌شود. از طرف دیگر، در مطالعه‌ای نشان داده شده است که زنانی با بارداری طبیعی و نوزادان سالم فاقد توان تولید HLA-G1,-G5 بوده‌اند. به این ترتیب ضرورت حضور این ایزوفرمها برای بقا جنین مورد تردید قرار می‌گیرد (۲۳). هرچند نقش سایر ایزوفرمها را که می‌توانند به طور جبرانی عمل کنند برجسته می‌کند (۲۴). بعضی گزارشها دیگر نیز نشان داده‌اند که بارداری موجب افزایش مقدار HLA-G سرمی نمی‌شود و ارتباطی بین بارداری وHLA-G محلول نیافته‌اند (۲۶و۲۵،۱۶،۹). نتایج حاصل از مطالعه کنونی با گزارش‌های گروه‌های اخیر مطابقت دارد. تفاوت در گزارشها ممکن است به مرحله بارداری بستگی داشته باشد و تفاوت در نوع آنتی‌بادی مونوکلونال مورد استفاده و

Downloaded from http://www.jri.ir

حساسیت تست نیز ممکن است از دلایل دیگر باشد. بر این اساس پیشنهاد شده است که از روشی استاندارد استفاده شود تا نتایج قابل مقایسه گردند (۸،۲۷).

نتایج مطالعه کنونی نقش سیستمیک HLA-G در جلوگیری از دفع جنین را رد می‌کند. ممکن است تنها HLA-G تولید شده از منبع جنینی مسئول ایجاد تولرانس در مادر باشد و یا HLA-G با منبع آمنیوتیک که موضعی عمل می‌کند نقش اصلی را در ارتباط مادر و جنین داشته باشند. اخیراً ملکول های HLA-E نیز به عنوان عوامل مهار کننده سیستم ایمنی مطرح شده‌اند. ملکول‌های HLA-G در تولید HLA-E نقش دارند. به نظر می‌رسد مطالعه نقش HLA-E در محافظت جنین در مقابل سلول‌های NK مادری نیز ضروری باشد.

نتیجه گیری

تحقیق در مورد نقش HLA-G در بارداری طبیعی و روش های کمک باروری ادامه دارد تا در تشخیص، پیشگویی و درمان ناباروری مورد استفاده قرار گیرد. روش درمانی پیشنهادی براساس استفاده از HLA-G نوترکیب (۲۸) نیاز به تایید نقش قطعی آن در باروری دارد. در مطالعه کنونی، حضور و مقدار HLA-G1,-G5 و توتال در سرم زنان تحت باروری آزمایشگاهی (ICSI) با موفقیت در بارداری ارتباطی نداشته است هرچند اندازه‌گیری همه ایزوفرمها از جمله HLA-G6 برای نتیجه‌گیری کامل ضروری است. در صورتی که آنتی‌بادی‌های مونوکلونال اختصاصی بر علیه ایزوفرم های مختلف تهیه شده و در دسترس قرار گیرد تعیین نقش آنها در ارتباط با بارداری مورد بررسی دقیق‌تری قرار خواهد گرفت. بررسی ملکول‌های HLA-E نیز وابسته به تولید آنتی‌بادی‌های مونوکلونال مربوطه خواهد بود.

برای در نظر گرفتن اثر HLA-G با هر دو منبع مادری و جنینی در زنان تحت درمان با روش‌های کمک باروری (۱۷)، بهتر است فراوانی آلل‌های HLA-G در زنان ایرانی تحت درمان و همسرانشان تعیین گردد. بررسی فراوانی آلل‌های HLA-G پدری و مادری ژنوتیپ احتمالی جنین را می‌تواند تعیین کند و علاوه بر آن شباهت و یا عدم شباهت آلل‌های مادری و پدری نیز در موفقیت روش بارداری آزمایشگاهی قابل ارزیابی خواهد بود. به طور خلاصه مطالعه با استفاده از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال جدید بر علیه انواع ایزوفرم‌های HLA-G و HLA-E با روشی استاندارد و همچنین مطالعه در سطح آلل‌های ژنی جهت تکمیل یافته‌های ملکولی پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با استفاده از منابع مالی دانشگاه علوم پزشکی گیلان- معاونت پژوهشی اجرا شده است. از ریاست و همکاران سازمان انتقال خون رشت به خصوص آقای محمد رضا حیدر زاده کارشناس محترم آزمایشگاه که با علاقه در کنار ما بودند تشکر می‌گردد. همچنین از همکاران بیمارستان فامیلی رشت به خصوص سرکار خانم اسکندری که با دقت و نظمی بی‌نظیر شرایط کار را فراهم می‌نمودند تشکر می‌نماید. در ضمن از ریاست و همکاران آزمایشگاه مرکز بهداشت خیابان پاستور رشت برای جمع‌آوری نمونه‌های زنان باردار سالم سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Carosella ED, Moreau P, Lemaoult J, Rouas-Freiss N. HLA-G: from biology to clinical benefits. Trends Immunol. 2008;29(3):125-32.
2. LeMaoult J, Le Discorde M, Rouas-Freiss N, Moreau P, Menier C, McCluskey J, et al. Biology and functions of human leukocyte antigen-G in health and sickness. Tissue Antigens. 2003;62(4):273-84.
3. Hunt JS, Petroff MG, Morales P, Sedlmayr P, Geraghty DE, Ober C. HLA-G in reproduction: studies on the maternal-fetal interface. Hum Immunol. 2000;61(11):1113-7.
4. Huddleston H, Schust DJ. Immune interactions at the maternal-fetal interface: a focus on antigen presentation. Am J Reprod Immunol. 2004;51(4):283-9.
5. Le Bouteiller P. Commentary. Major breakthrough in the HLA-G debate: occurrence of pregnancy in human depends on the HLA-G status of preimplantation embryos. Eur J Immunol. 2002;32(2):309-10.
6. Carosella ED, Moreau P, Aractingi S, Rouas-Freiss N. HLA-G: a shield against inflammatory aggression. Trends Immunol. 2001;22(10):553-5.

Downloaded from http://www.jri.ir

7. Hviid TV. HLA-G in human reproduction: aspects of genetics, function and pregnancy complications. Hum Reprod Update. 2006;12(3):209-32.

8. Rebmann V, Lemaoult J, Rouas-Freiss N, Carosella ED, Grosse-Wilde H. Report of the Wet Workshop for Quantification of Soluble HLA-G in Essen, 2004. Hum Immunol. 2005;66(8):853-63.

9. Rebmann V, Pfeiffer K, Pässler M, Ferrone S, Maier S, Weiss E, et al. Detection of soluble HLA-G molecules in plasma and amniotic fluid. Tissue Antigens. 1999;53(1):14-22.

10. Hackmon R, Hallak M, Krup M, Weitzman D, Sheiner E, Kaplan B, et al. HLA-G antigen and parturition: maternal serum, fetal serum and amniotic fluid levels during pregnancy. Fetal Diagn Ther. 2004;19(5):404-9.

11. Alinejad Z, Jafari Shakib R, Forghan-Parast K, Zahiri Z, Sadri H, Nagafi F, et al. In vitro fertilized embryos do not secrete detectable HLA-G on day two. Iran J Immunol. 2009;6(4):195-201.

12. Yari F, Hosseini AZ, Nemat-Gorgani M, Sareh S, Khorramizadeh MR, Mansouri P, et al. Production and characterization of monoclonal antibodies with specificity for human HLA-G isoforms. Hybrid Hybridomics. 2003;22(5):301-6.

13. Hviid TV, Rizzo R, Christiansen OB, Melchiorri L, Lindhard A, Baricordi OR. HLA-G and IL-10 in serum in relation to HLA-G genotype and polymorphisms. Immunogenetics. 2004;56(3):135-41.

14. Rebmann V, van der Ven K, Pässler M, Pfeiffer K, Krebs D, Grosse-Wilde H. Association of soluble HLA-G plasma levels with HLA-G alleles. Tissue Antigens. 2001;57(1):15-21.

15. Pfeiffer KA, Rebmann V, Pässler M, van der Ven K, van der Ven H, Krebs D, et al. Soluble HLA levels in early pregnancy after in vitro fertilization. Hum Immunol. 2000;61(6):559-64.

16. Steinborn A, Rebmann V, Scharf A, Sohn C, Grosse-Wilde H. Placental abruption is associated with decreased maternal plasma levels of soluble HLA-G. J Clin Immunol. 2003;23(4):307-14.

17. Hviid TV, Hylenius S, Lindhard A, Christiansen OB. Association between human leukocyte antigen G genotype and success of in vitro fertilization and pregnancy outcome. Tissue Antigens. 2004;64(1):66-9.

18. Moreau P, Dausset J, Carosella ED, Rouas-Freiss N. Viewpoint on the functionality of the human leukocyte antigen-G null allele at the fetal-maternal interface. Biol Reprod. 2002;67(5):1375-8.

19. Hunt JS, Jadhav L, Chu W, Geraghty DE, Ober C. Soluble HLA-G circulates in maternal blood during pregnancy. Am J Obstet Gynecol. 2000;183(3):682-8.

20. Favier B, LeMaoult J, Rouas-Freiss N, Moreau P, Menier C, Carosella ED. Research on HLA-G: an update. Tissue Antigens. 2007;69(3):207-11.

21. Yie SM, Taylor RN, Librach C. Low plasma HLA-G protein concentrations in early gestation indicate the development of preeclampsia later in pregnancy. Am J Obstet Gynecol. 2005;193(1):204-8.

22. Sipak-Szmigiel O, Ronin-Walknowska E, Cybulski C, Plonka T, Lubiński J. Antigens HLA-G, sHLA-G and sHLA- class I in reproductive failure. Folia Histochem Cytobiol. 2007;45 Suppl 1:S137-41.

23. Ober C, Aldrich C, Rosinsky B, Robertson A, Walker MA, Willadsen S, et al. HLA-G1 protein expression is not essential for fetal survival. Placenta. 1998;19(2-3):127-32.

24. Menier C, Riteau B, Dausset J, Carosella ED, Rouas-Freiss N. HLA-G truncated isoforms can substitute for HLA-G1 in fetal survival. Hum Immunol. 2000;61(11):1118-25.

25. Puppo F, Costa M, Contini P, Brenci S, Cevasco E, Ghio M, et al. Determination of soluble HLA-G and HLA-A, -B, and -C molecules in pregnancy. Transplant Proc. 1999;31(4):1841-3.

26. Rizzo R, Andersen AS, Lassen MR, Sørensen HC, Bergholt T, Larsen MH, et al. Soluble human leukocyte antigen-G isoforms in maternal plasma in early and late pregnancy. Am J Reprod Immunol 2009;62(5):320-38.

27. Rebmann V, LeMaoult J, Rouas-Freiss N, Carosella ED, Grosse-Wilde H. Quantification and identification of soluble HLA-G isoforms. Tissue Antigens. 2007;69 Suppl 1:143-9.

28. Hunt JS, Langat DL. HLA-G: a human pregnancy-related immunomodulator. Curr Opin Pharmacol. 2009;9(4):462-9.

Downloaded from http://www.jri.ir