

## عوامل موثر بر میزان موفقیت ایمن سازی لکوسیتی در سقط راجعه

دکتر شهلا چایچیان<sup>۱</sup>، دکتر شروان شعاعی<sup>۲</sup>، دکتر ستاره پدر<sup>۱</sup>، دکتر ابوطالب صارمی<sup>۲</sup><sup>۱</sup> گروه زنان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران<sup>۲</sup> مرکز ناباروری صارم

## چکیده

**سابقه و هدف:** سقط خودبخودی شایعترین عارضه بارداری است. ایمن سازی با سلولهای تک هسته ای پدیری به عنوان یک درمان مطرح شده است. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی سودمندی این روش و تولید آنتی بادیهی anti-paternal به عنوان یکی از رویکردهای درمانی در سقط راجعه، طراحی شد.

**مواد و روشها:** در این مطالعه که به صورت historical cohort طراحی شده بود، پرونده ۵۴۹ بیمار که به دلیل سقط راجعه به مدت ۲سال، در مرکز ناباروری صارم تحت ایمن سازی لکوسیتی قرارگرفته بودند، بررسی شد. دو هفته پس از آخرین تزریق، آزمون WBC Crossmatch جهت یافتن آنتی بادی سیتوتوکسیک ضد پدیری (APCA) صورت گرفت. با استفاده از پرسشنامه های از پیش طراحی شده، اطلاعات دموگرافیک و سایر اطلاعات ضروری از طریق پرونده، یا تماس تلفنی جمع آوری شد.

**یافته ها:** نتایج حاصل از WBC Crossmatch در ۹۳ بیمار (۱۶/۹ درصد) مثبت و در ۴۵۶ بیمار (۸۳/۱ درصد) منفی بود. از ۹۳ بیماری که نتیجه WBC Crossmatch آنها مثبت بود، وقوع بارداری در ۶۰ بیمار (۶۴/۵ درصد) از طریق سنجش میزان  $\beta$ -HCG اثبات رسید. از این تعداد ۴۹ بیمار (۸۱/۷ درصد) به موفقیت بالینی (حاملگی حداقل ۲۸ هفته) نیز دست یافتند. تعداد فرزند دارای بیشترین تاثیر مثبت و نسبت فAMILIARY زوجین دارای بیشترین تاثیر منفی در مثبت شدن WBC Crossmatch می باشد. نتیجه گیری: نتایج نشان داد تولید APCA متعاقب ایمن سازی، با افزایش احتمال زایمان زنده همراه بوده است. پاسخ درمانی در این مطالعه در حد قابل قبول بود. انجام مطالعات وسیعتر با گروه کنترل توصیه می شود.

واژگان کلیدی: ایمن سازی لکوسیتی، سقط راجعه.

## مقدمه

پیش آگهی خوبی برخوردار هستند. به طوریکه زنده زایی به رقمی در حدود ۷۰-۶۰ درصد نزدیک می شود (۳). علل سقط راجعه خودبخودی مولتی فاکتوریال می باشد ولی می توان آنها را به دو دسته عمده جنینی (ناشی از کاربوتیپهای غیرطبیعی) یا مادری تقسیم کرد. درمورد علل مادری سقط راجعه می توان به اختلالات انعقادی، اختلالات غدد درون ریز و نقصهای اندومترال اشاره کرد. اخیراً به نقش عوامل ایمنولوژیک نیز در این خصوص اشاره شده است (۴)، (۵). در کل در حدود نیمی از موارد سقط راجعه، غیرقابل توجیه می باشند که نقش علل ایمنولوژیک در این بین بیش از سایر علل مطرح می باشد (۶). چنین به نظر می رسد که زوجهای دچار سقطهای راجعه غیرقابل توجیه، به نوعی اختلال آلوایمیون مبتلا باشند که از ایجاد واکنشهای ایمنی لازم در

سقط خودبخودی شایعترین عارضه بارداری است و استرس قابل توجهی را بر زوجهای طالب بچه دارشدن وارد می کند (۱).

طبق تعریف سقط خودبخودی اشاره به ۳ یا بیش از ۳ مورد ختم حاملگی خودبخودی قبل از هفته ۲۰ یا حتی ۲۸ حاملگی است (۲). البته در این تعریف گروه وسیعی از بیماران با طیف گسترده ای از علل سقط قرار می گیرند. چنانچه این بیماران را به عنوان یک گروه واحد در نظر بگیریم درکل از

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران، دفتر معاونت پژوهشی.

دکتر شهلا چایچیان (email: drchaichian@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۳/۸/۱۸

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۴/۱/۲۷

چنانچه میزان APCA بالای ۳۰ درصد باشد، ایمن سازی از نظر آزمایشگاهی موفق در نظر گرفته شده و اجازه بارداری به زن داده می شود. چنانچه وقوع بارداری از طریق سنجش  $\beta$ -HCG به اثبات می رسید، دوز یادآور (لنفوسیت) قبل از پایان ماه سوم بارداری تزریق می شد. بنابراین بیماران به دو گروه WBC Crossmatch مثبت و منفی تقسیم شدند و با استفاده از پرسشنامه های از پیش طراحی شده، اطلاعات دموگرافیک و سایر اطلاعات ضروری از طریق پرونده، یا تماس تلفنی جمع آوری شد. در گروه WBC Crossmatch مثبت، وقوع بارداری و موفقیت آن (ادامه بارداری تا هفته ۲۸ یا بیشتر) نیز پیگیری شد.

کلیه داده ها در نرم افزار آماری SPSS (Ver 11.5) وارد شد و برای آنالیزهای آماری از آزمونهای t-test و chi-square و برای بررسی اثر متغیرهای مداخله گر از logistic regression استفاده شد.  $p < 0.05$  به عنوان سطح معنی دار در آنالیزهای آماری در نظر گرفته شد. مراحل مختلف این تحقیق به تایید کمیته اخلاق دانشگاه رسیده بود.

### یافته ها

در مجموع اطلاعات مربوط به ۵۴۹ زن با شکایت سقط راجعه جمع آوری شد. میانگین سنی ( $\pm$  انحراف معیار) بیماران  $32/4 \pm 5/3$  سال (۴۵-۱۹ سال) بود، این درحالیست که میانگین سنی همسران آنها  $38/1 \pm 5/0$  سال (۵۳-۲۷ سال) بود. نتایج حاصل از WBC Crossmatch در ۹۳ بیمار (۱۶/۹ درصد) مثبت و در ۴۵۶ بیمار (۸۳/۱ درصد) منفی بود. ۴۷۹ بیمار (۸۷/۲ درصد) فاقد فرزند، ۶۷ بیمار یک فرزند (۱۲/۴ درصد) و دو بیمار (۰/۴ درصد) دارای ۲ فرزند بودند.

از ۵۴۹ بیمار مورد بررسی سابقه بیماریهای عفونی در ۱۶۲ نفر (۲۹/۵ درصد)، بیماریهای ایمنولوژیک در ۲۷۵ نفر (۵۰/۱ درصد)، بیماریهای غدد درون ریز در ۲۹۴ نفر (۵۳/۶ درصد)، سابقه اختلالات سرویکس و رحم در ۳۴۸ نفر (۶۳/۴ درصد) و سابقه جراحی در ۴۸۰ نفر (۸۷/۴ درصد) وجود داشت. لازم به ذکر است در بین بیماریهای عفونی توکسوپلازما (۳۷/۶ درصد)، در بین بیماریهای ایمنولوژیک مثبت شدن آنتی کاردیولیپین (۳۰/۹ درصد)، در بین بیماریهای غدد درون ریز PCOD (۵۰/۳ درصد) و در بین اختلالات سرویکس و رحم، نارسایی سرویکس (۳۹/۹ درصد) شایعترین بیماریهای گزارش شده بودند.

مادر برای بقای جنین جلوگیری می کند. درچنین شرایطی ایمن سازی با سلولهای تک هسته ای پدری به عنوان یک درمان مطرح شده است (۷). اولین گزارشها از ایمن سازی با سلولهای لکوسیتی پدری به سال ۱۹۸۱ برمی گردد. در آن سال Beer و همکاران از به اشتراک گذاشتن آنتی ژنهای HLA بین زوجین بعنوان معیاری برای ایمن سازی بهره جستند (۸). به نظر می رسد اشتراک (sharing) بیش از حد در زوجهایی که دچار سقط راجعه هستند، افزایش یافته و همین امر دلیلی برای پاسخ دهی کم به آنتی ژنهای پدری و در نتیجه سقط جنین باشد (۲). Mowbray و همکاران این پاسخ دهی کم را به صورت کاهش بروز آنتی بادی anti-paternal در زوجهای دچار سقط راجعه مطرح کردند (۹). این در حالیست که برخی از محققین هیچ اعتقادی به این نظریه نداشته و تا به امروز نیز بحث و جدل در این زمینه ادامه دارد (۲). به نظر می رسد عوامل مداخله گر مختلفی تجزیه و تحلیل داده های مطالعات پیشین را مخدوش کرده و نیاز به مطالعات وسیعتر و شناسایی افرادی که ممکن است از این رویکرد درمانی سود ببرند، بیش از پیش احساس می شود. متأسفانه تاکنون هیچ روش درمانی اثبات شده ای برای این گونه افراد ارائه نشده است. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی سودمندی روش ایمن سازی لکوسیتی و تولید آنتی بادیهای anti-paternal به عنوان یکی از رویکردهای درمانی در سقط راجعه، طراحی شد. در این بین نقش عوامل مختلف بر میزان موفقیت این روش مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

### مواد و روشها

در این مطالعه که به صورت historical cohort طراحی شده بود، پرونده ۵۴۹ بیمار که به دلیل سقط راجعه به مدت ۲ سال، شهریور ۱۳۸۰ تا مهر ۱۳۸۲، در مرکز ناباروری صارم تحت ایمن سازی لکوسیتی قرار گرفته بودند، بررسی شد. کلیه این بیماران مطابق پروتکل زیر تحت ایمن سازی لکوسیتی قرار گرفته بودند:

از خون شوهر هریک از بیماران، یک سی سی لئوسیت جدا شده و در ۲ نوبت به فاصله ۳ هفته و در هر نوبت به میزان ۰/۵ سی سی به صورت زیرپوستی در بازو یا ساعد بیمار تزریق می شد. دو هفته پس از آخرین تزریق، آزمون WBC Crossmatch جهت یافتن آنتی بادی سیتوتوکسیک ضد پدری (Anti-paternal cytotoxic antibody=APCA) صورت گرفت.

حدودی سابقه بیماریهای ایمونولوژیک بین دو گروه تفاوت آماری معنی داری را نشان می دهند.

در پایان برای حذف نقش مداخله گری متغیرهای مستقل پژوهش از مدل logistic regression استفاده شد. در این مدل متغیرهای مستقل سن بیمار، سن همسر بیمار، تعداد سقط پیشین، تعداد فرزندان، نسبت فامیلی زوجین، سابقه جراحی و سابقه بیماریهای عفونی، ایمونولوژیک، اندوکراین و نارسایی های سرویکس و رحم و متغیر وابسته نتیجه آزمون WBC Crossmatch در نظر گرفته شد. یافته های این آنالیز آماری در جدول ۳ خلاصه شده است.

جدول ۲- مقایسه خصوصیات مختلف بین دو گروه با و بدون موفقیت بالینی در بارداری

Pvalue	موفقیت بالینی بارداری		خصوصیات
	مثبت (n=۴۹)	منفی (n=۱۱)	
NS	۱۰(۲۰/۴)*	۱(۹/۱)	سابقه بیماریهای عفونی
P=۰/۰۵۹	۱۱(۲۲/۴)	۶(۵۴/۵)	سابقه بیمارهای ایمونولوژیک
p<۰/۰۲	۹(۱۸/۴)	۶(۵۴/۵)	سابقه بیماریهای غدد درون ریز
NS	۳۲(۶۵/۲)	۷(۶۳/۶)	سابقه عمل جراحی
NS	۲۲(۴۴/۹)	۵(۴۵/۵)	سابقه اختلالات سرویکس و رحم
NS	۶(۱۲/۲)	۲(۱۸/۲)	وجود نسبت فامیلی بین زوجین
NS	۲۹/۹±۴/۳	#۲۹/۰±۵/۵	سن بیمار (سال)
NS	۳۶/۲±۴/۳	۳۶/۶±۴/۳	سن همسر بیمار (سال)
NS	۲/۹±۱/۰	۳/۴±۱/۸	تعداد سقط
NS	۹(۱۸/۴)	۱(۹/۱)	وجود فرزند

\* اعداد داخل پرانتز معرف درصد است

# اعداد به صورت میانگین±انحراف معیار آورده شده است

جدول ۳- یافته های مربوط به آنالیز Logistic Regression در بیماران با سابقه سقط راجعه

P-Value	EXP(B)	ضریب B	متغیر
<۰/۰۰۱	۰/۹۱۴	-۰/۰۹	سن بیمار (سال)
<۰/۰۱۹	۲/۳۸۱	۰/۸۶۸	تعداد فرزند
<۰/۰۰۱	۰/۲۹۳	-۱/۲۲۹	نسبت فامیلی زوجین
<۰/۰۰۰۱	۰/۹۱۹	-۰/۰۸۴	سابقه بیماریهای عفونی
<۰/۰۰۰۱	۰/۹۳۲	-۰/۰۷۰	سابقه بیماریهای درون ریز
<۰/۰۰۰۱	۰/۸۹۸	-۰/۱۰۸	سابقه جراحی
<۰/۰۰۰۱	۰/۹۱۰	-۰/۰۹۵	بیماریهای ایمونولوژیک
<۰/۰۰۰۱	۰/۹۴۹	-۰/۰۵۲	اختلالات رحم و سرویکس

در این خصوص ابتدا کلیه متغیرها وارد مدل شد که از میان آنها سن همسر بیمار و تعداد سقط پیشین ارتباط معنی داری

از ۹۳ بیماری که نتیجه WBC Crossmatch آنها مثبت بود، وقوع بارداری در ۶۰ بیمار (۶۴/۵ درصد) از طریق سنجش میزان  $\beta$ -HCG به اثبات رسید. از این تعداد ۴۹ بیمار (۸۱/۷ درصد) به موفقیت بالینی (حاملگی حداقل ۲۸ هفته) نیز دست یافتند. بنابراین میزان موفقیت بالینی در افراد با وقوع بارداری ۸۱/۷ درصد و در کل بیماران با موفقیت آزمایشگاهی ۵۲/۷ درصد بود. در ۴۹ بیماری که موفقیت بالینی حاملگی داشتند، فراوانی نسبی بیماریهای عفونی ۲۰/۴ درصد، بیماریهای ایمونولوژیک ۲۲/۴ درصد، بیماریهای غدد درون ریز ۱۸/۴ درصد و اختلالات رحم و سرویکس ۵۵/۱ درصد بود. یافته های حاصل از مقایسه خصوصیات مختلف بین دو گروه WBC Crossmatch مثبت و منفی در جدول زیر آورده شده است.

جدول ۱- مقایسه خصوصیات مختلف بین گروهها براساس

### نتایج WBC Crossmatch

p-value	WBC Crossmatch(-)	WBC Crossmatch(+)	خصوصیات
	(n=۴۵۶)	(n=۹۳)	
<۰/۰۰۰۱	۱۴۹(۳۲/۷)	۱۳(۱۴)*	سابقه بیماری عفونی
<۰/۰۰۰۱	۴۱۶(۹۱/۲)	۶۴(۶۸/۸)	سابقه جراحی
<۰/۰۰۰۱	۲۵۱(۵۵/۰)	۲۳(۲۴/۷)	بیماریهای ایمونولوژیک
<۰/۰۰۰۱	۲۶۵(۵۸/۱)	۲۹(۳۱/۲)	بیماری غدد درون ریز
<۰/۰۰۰۱	۳۰۹(۶۷/۸)	۳۹(۴۱/۹)	اختلالات سرویکس و رحم
<۰/۰۰۰۷	۱۳۵(۲۹/۶)	۱۵(۱۶/۱)	وجود نسبت فامیلی بین زوجین
<۰/۰۰۰۱	۳۲/۸±۵/۳	#۳۰/۵±۴/۹	سن بیمار (سال)
<۰/۰۰۰۸	۳۸/۴±۵/۱	۳۶/۹±۴/۵	سن همسر بیمار (سال)
NS	۰/۱±۰/۴	۰/۲±۰/۴	تعداد فرزندان
<۰/۰۰۰۱	۳/۶±۱/۴	۳/۰±۱/۴	تعداد سقط

\* اعداد داخل پرانتز معرف درصد است

# اعداد به صورت میانگین±انحراف معیار آورده شده است

همانطور که جدول شماره یک نشان می دهد تفاوت بین دو گروه WBC Crossmatch مثبت و منفی از نظر سابقه بیماریهای عفونی، بیماریهای ایمونولوژیک، بیماریهای غدد درون ریز، جراحی قبلی، بیماریهای سرویکس و رحم، نسبت فامیلی بین زوجین، میانگین سنی بیمار و همسر او و همچنین تعداد سقطها معنی دار بود.

در جدول شماره ۲، خصوصیات مختلف بین دو گروه با و بدون موفقیت بالینی در بارداری مقایسه شده است. همانطور که ملاحظه می شود تنها سابقه بیماریهای غدد درون ریز و تا

ایمن سازی لکوسیتی در گروه درمان شده ۳۲٪ و در گروه کنترل (دریافت Placebo) ۴۲٪ بود. Illeri و همکارانش نیز تاثیر مثبتی از ایمن سازی با لکوسیت‌های پدری را در زنان مبتلا به سقط راجعه نیافتند (۱۳). در توجیه تناقض نتایج می توان گفت در مطالعات Ober و Illenr نتایج بارداری درکل بیماران ایمن شده، بدون در نظر گرفتن تولید APCA و وقوع موفقیت آزمایشگاهی، مورد بررسی قرار گرفته است در حالیکه در مطالعه ما وقوع بارداری و بدنبال آن موفقیت بالینی مد نظر بوده است.

درمدل logistic regression از بین متغیرهای مستقل مختلف تنها تاثیر سن همسر و تعداد سقط پیشین در مثبت شدن WBC Crossmatch از نظر آماری معنی دار نبوده است، این درحالی است که در مطالعه Orgad تعداد سقط پیشین در بروز موفقیت در درمان موثر شناخته شده است ولی سن مادر تاثیر معنی داری در این خصوص نشان نداده است (۲).

این مطالعه علی‌رغم برخورداری از حجم نمونه بالا، واجد محدودیتهایی نیز می باشد که می توان به نداشتن گروه کنترل (پلاسیبو)، تعداد کم بیماران با عدم موفقیت بالینی در گروه با موفقیت آزمایشگاهی (n=۱۱) و ماهیت historical cohort بودن و bias ایجاد شده در امر گردآوری اطلاعات اشاره کرد.

به نظر می رسد یک کارآزمایی بالینی placebo controlled قادر خواهد بود پاسخ بسیاری از سوالات در خصوص سودمندی روش درمانی ایمن سازی لکوسیتی در زنان مبتلا به سقط راجعه را نشان دهد.

را نشان نداد. بنابراین در جدول ۳ یافته های مربوط به این دو متغیر آورده نشده است.

همانطور که ملاحظه می شود تعداد فرزند دارای بیشترین تاثیر مثبت و نسبت فامیلی زوجین دارای بیشترین تاثیر منفی در مثبت شدن WBC Crossmatch می باشد، البته تاثیر مثبت تعداد فرزند به مراتب قویتر از تاثیر منفی نسبت فامیلی زوجین است.

## بحث

در این مطالعه اثر ایمن سازی لکوسیتی و حضور آنتی بادیهای anti-paternal در ثمره بارداریهای متعاقب، در زنان مبتلا به سقط راجعه تحت بررسی قرار گرفت. پس از انجام ایمن سازی لکوسیتی حضور APCA و یا عبارت دیگر بروز موفقیت آزمایشگاهی در ۹۳ بیمار مشاهده گردید. در این بین وقوع بارداری در ۶۰ مورد رخ داد که از آنها ۴۹ بیمار به موفقیت بالینی دست یافتند (۸۱/۷٪). بعبارت دیگر، تولید APCA متعاقب ایمن سازی، با افزایش احتمال زایمان زنده همراه بوده است. این یافته ها با نتایج مطالعات انجام شده توسط Tsunehisa Makiro در ژاپن (۱۰) و Orgad و همکارانش (۲) مطابقت دارد. این درحالی است که Adachi و همکاران در ژاپن به این نتیجه رسیدند که ایمن سازی با لکوسیت‌های همسر (درخانم‌های با سقط راجعه) تنها در صورت منفی بودن Mixed-lymphocyte reaction blocking anti bodies سودمند بوده و می توان از آن بعنوان یک روش درمانی بهره جست (۱۱). از طرف دیگر، نتایج حاصل از این بررسی، با نتایج بدست آمده از تحقیق Ober و همکاران در آمریکا متفاوت است (۱۲). در مطالعه Ober میزان موفقیت پس از

## REFERENCES

- Jonathan BS, et al, editors. Novak`s Gynecology. 13<sup>th</sup> ed. Philadelphia; WB Saunders: 2002. p.1067-95.
- Orgad S, Hoewenthal R, Gazit E, Sadetzki S, Novikov I, Carp H. The prognostic value of anti-paternal antibodies and leukocyte immunizations on the proportion of live birth in couples with consecutive recurrent miss carriages. Hum Reprod 1999; 14(12): 2974-79.
- Clifford K, Rai R, Regan L. Future Pregnancy outcomes in unexplained recurrent first trimester miscarriage. Hum Reprod 1997; 12: 387-89.
- Aplin J. Maternal influences on placental development. Semin Cell Biol 2000; 11: 115-25.
- Li TC, MaKris M, Tomsu M, Tuclerman EM, Laird M. Recurrent miscarriage, etiology, management and prognosis. Hum Reprod Update 2002; 8: 463-81.
- Laird SM, TucKerman EM, Cork BA, Linjawi S, Blakemore AIF, Lit C. A review of immune cell and molecular in women with recurrent miscarriage. Hum Reprod Update 2003; 9: 163-74.
- Heveno KJ, Cunningham FG, Gant NF, et al, editors. William`s Obstetrics. 21<sup>st</sup> ed. New York; Mc Graw-Hill. 2003.
- Beer AE, Quebbman JF, Ayres JWT. Major histocompatibility complex antigens, maternal and paternal immune response and chronic habitual miscarriages. Am J Obstet Gynecol 1981; 141: 987-99.

9. Mowbray JF, Gibbings CR, Sidgwick AS. Effect of transfusions in women with recurrent spontaneous abortion. *Transplant Proc* 1983; 15: 896-99.
10. Makino T. Recurrent reproductive wastage and immunologic factor. *Am J Reprod Immunol* 2002; 48: 266-68.
11. Adachi H, Takalowa K, Mitsui T, Ishi I. Results of immunotherapy for patient with unexplained secondary recurrent abortions. *Clin Immunol* 2003; 106: 175-80.
12. Ober C, Karrison T, Odem R. Mononuclear cell immunization in proportion of recurrent miscarriages. *Lancet* 1999; 354: 365-69.
13. Illeni MT, Morelli G, Farazzim F. Immunotherapy and recurrent abortion. *Hum Reprod* 1994; 9:1247-9.