

تأثیر تحریک تخمک‌گذاری بر پراکندگی جمعیت سلول‌های T کشنده طبیعی رحم در روز هفتم بارداری موش

پروین درفشان^۱، مژده صالح‌نیا^{۲*}، سید محمد مؤذنی^۳

۱- کارشناس ارشد، گروه علوم تشریح، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۲- استاد، گروه علوم تشریح، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۳- استاد، گروه ایمونولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

پذیرش مقاله: ۹۰/۰۴/۲۱

دریافت مقاله: ۹۰/۰۱/۲۰

چکیده

هدف: هدف از این تحقیق، بررسی تعداد سلول‌های T کشنده طبیعی بافت رحم و طحال در روز هفتم بارداری موش‌های ماده باردار تحریک تخمک‌گذاری شده و کنترل و مقایسه آن دو با یکدیگر بود.

مواد و روش‌ها: موش‌های ماده گروه تجربی پس از تحریک تخمک‌گذاری و گروه شاهد به‌صورت تک به تک با موش نر در یک قفس قرار گرفته و صبح روز بعد، مشاهده پلاک واژن بررسی صورت گرفت. در روز ۷ بارداری از سه نقطه بافتی: رحم از محل کاشت جنین و فواصل لانه‌گزینی و طحال مقاطع بافتی انجمادی ۵ میکرومتری تهیه شد. برای بررسی نشانگرهای مربوط به سلول T کشنده طبیعی از واکنش ایمنوهِستوشیمی برای شاخص CD3 و CD161 استفاده شد و پراکندگی جمعیت سلول‌های T کشنده طبیعی در مقایسه با کل سلول‌های هسته‌دار در گروه‌های تحریک شده و کنترل بررسی و مقایسه شد.

نتایج: جمعیت سلول T کشنده طبیعی در بافت طحال در دسیدوا و میومتر فواصل لانه‌گزینی کنترل و تحریک تخمک‌گذاری تفاوت معنی‌داری نداشت. اما در دسیدوا محل لانه‌گزینی گروه تحریک تخمک‌گذاری ($2/26 \pm 1/43$) نسبت به گروه کنترل ($0/05 \leq P; 0/79 \pm 0/17$) افزایش داشت در حالی که در میومتر محل لانه‌گزینی تفاوتی بین دو گروه دیده نشد.

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد تحریک تخمک‌گذاری به شکل سیستماتیک بر جمعیت سلول‌های T کشنده طبیعی موش‌های باردار تأثیر نگذاشته اما به شکل موضعی در دسیدوا محل لانه‌گزینی باعث افزایش سلول‌های T کشنده طبیعی شده است.

کلیدواژگان: تحریک تخمک‌گذاری، سلول‌های T کشنده طبیعی، لانه‌گزینی، طحال

۱- مقدمه

جنین اولیه به‌عنوان یک نیمه بیگانه است که آنتی‌ژن‌هایی را از هر دو منشأ مادری و پدری دریافت می‌کند. چگونه جنین و جفت از حمله ایمنی مادری حفظ می‌شوند؟ تحقیقات پزشکی بر این باور هستند که این رابطه (رابطه مادر و جنین) مانند یک پیوند است. البته رابطه ایمنی بین مادر و جنین به سادگی یک الگوی آلوگراف (Allograft) نیست. در واقع آثار متقابل

*نشانی مکاتبه: تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه علوم تشریح، کدپستی: ۱۴۱۱۷۱۳۱۱۶

Email: salehnm@modares.ac.ir

ایمنی طبیعی بین بافت‌های مادری و جنینی باعث پیشرفت رشد و تکوین جنین می‌شود که این موضوع برخلاف یک واکنش ایمنی طبیعی است. پاسخ‌های ایمنی القا شده در رحم در مقایسه با دیگر بافت‌ها، به علت تأثیر زیاد هورمون‌های استروئیدی تخمدان در وقایع ایمونولوژیک می‌تواند متفاوت باشد [۱].

ماهیت فاکتورهای کشنده جنینی (Embryotoxic Factors) ناشناخته است، اما اینترفرون گاما ($\text{Interferon-gamma: IFN-}\gamma$)، فاکتور نکروز دهنده توموری آلفا (Tumor Necrosis Factor alpha: $\text{TNF-}\alpha$)، اینترلوکین ۱ ($\text{Interleukin 1: IL-1}$) و IL-2 باعث از بین رفتن بارداری در مدل‌های موشی می‌شود. البته این سایتوکین‌ها در طول بارداری طبیعی در سطح فیزیولوژیک حضور دارد و در موارد بیماری سطوح این سایتوکین‌ها تغییر می‌کند [۲].

یکی از سلول‌های سیستم ایمنی که در تولید $\text{IFN-}\gamma$ نقش دارد سلول‌های T کشنده طبیعی (Natural Killer T: NKT) است. این سلول‌ها تعادل پاسخ ایمنی سلول‌های T کمک کننده (T-helper) (Th1 و Th2) را تنظیم می‌کند. بنابراین نقش مهمی در فرایندهای ضد سرطان و ضد عفونت در سیستم ایمنی دارد [۳، ۴].

در بعضی از تحقیقات نشان داده شده که سلول NKT ۰/۱ تا ۱ درصد از جمعیت سلول‌های خون محیطی را تشکیل می‌دهند، با این حال جمعیت این سلول‌ها در بین زنان سالم متغیر است [۵].

جمعیت این سلول در اوایل بارداری در دسیدوای (Decidual Tissue) رحم افزایش می‌یابد [۶] و ممکن است با تولید IL-4 ، $\text{IFN-}\gamma$ در مکان تماس مادر و جنین عملکرد سلول‌های T کمک کننده را کنترل کند [۷].

در فرایند تحریک تخمک‌گذاری به منظور کسب تعداد بیشتری تخمک در یک دوره، هورمون‌های استروئیدی تخمدانی (استروژن و پروژسترون) بیش از حد فیزیولوژیک ترشح می‌شود و می‌تواند بر سلول‌های مختلف که دارای

گیرنده آن هستند تأثیرات متفاوتی بگذارد [۸، ۹]. از آنجایی که وقوع بارداری خود یکی از عوامل تغییر دهنده میزان سلول‌های دفاعی است، به نظر می‌رسد فرایند تحریک تخمک‌گذاری (باعث افزایش هورمون‌های استروژن و پروژسترون می‌شود) می‌تواند در پراکندگی و تعداد جمعیت سلول‌های دفاعی آندومتر (Endometrium) تأثیرگذار باشد. بنابراین با توجه به ناکافی بودن گزارش‌ها در این زمینه و به علت اهمیت این موضوع در درمان ناباروری، در این تحقیق سعی شده است پراکندگی جمعیت سلول‌های NKT رحم در محل تماس مادر و جنین و نیز بافت طحال به عنوان یکی از ارگان‌های سیستماتیک سیستم دفاعی بررسی شود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- نمونه‌گیری

در این تحقیق از موش‌های سوری ماده بالغ نژاد NMRI با سن ۶-۱۰ هفته و موش‌های نر بالغ ۸-۱۰ هفته از همین نژاد استفاده شد. موش‌ها از انستیتو رازی خریداری و در شرایط حیوان‌خانه دانشگاه تربیت مدرس نگهداری شدند. در طول مدت نگهداری دسترسی آزادانه به آب و غذا، دوره تاریکی و روشنایی ۱۲ ساعته و درجه حرارت ۱۸-۲۴ درجه سانتی‌گراد فراهم شد. پس از یک تا دو هفته سازش با محیط جدید، به دو گروه شاهد و تحریک تخمک‌گذاری شده تقسیم شدند.

به منظور تحریک تخمک‌گذاری ۱۰ واحد، PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotropin) و ۴۸ ساعت بعد ۱۰ واحد HCG (Human Chorionic Gonadotropin) به طریق داخل صفاقی تزریق شد.

پس از گذشت ۷ روز موش‌های باردار به تعداد حداقل ۵ موش در هر گروه به روش جابه‌جایی مهره‌های گردنی کشته شدند. شاخ‌های رحمی آن‌ها خارج شده و نقاط کاشت جنین در زیر استریومیکروسکوپ (Stereomicroscope) تعیین شده و نمونه‌برداری از سه ناحیهٔ بافتی ۱- رحم از محل کاشت جنین ۲-

رحم از فواصل بین محل لانه‌گزینی و ۳- طحال انجام شد. برش‌های بافتی انجمادی به ضخامت ۵ میکرومتر از بافت‌های مذکور تهیه شد و روی لام انتقال یافت. برای خشک شدن نمونه‌ها، برش‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. سپس برش‌ها در استون (Merck; Germany) سرد به مدت ۲ دقیقه در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تثبیت شد. در نهایت برش‌ها در شرایط انجمادی ۸۰- درجه سانتی‌گراد حفظ شد تا برای مطالعه ریخت‌شناسی و ایمونوهیستوشیمی (Immunohistochemistry) استفاده شود.

۲-۲- رنگ‌آمیزی ریخت‌شناسی

به‌منظور مطالعه ساختار بافت‌های مورد مطالعه از رنگ‌آمیزی روتین هماتوکسیلین و ائوزین (Hematoxylin and Eosin: H&E) استفاده شد.

۲-۳- رنگ‌آمیزی ایمنوهیستوشیمی دو رنگه

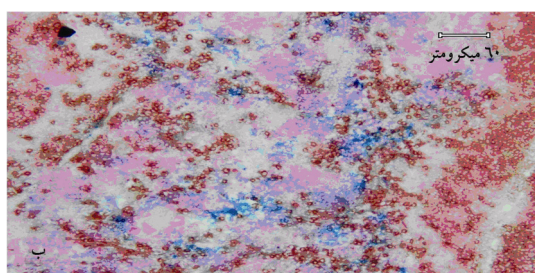
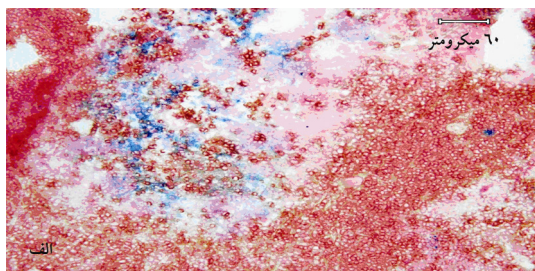
برش‌های بافتی طحال و رحم با آنتی‌بادی ضد

CD3 و CD161

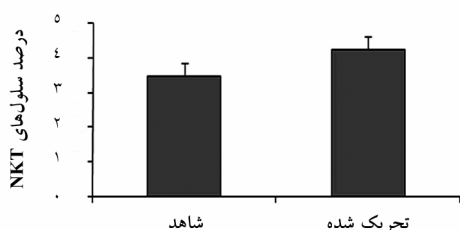
ابتدا برش‌ها از فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد خارج و به درجه حرارت آزمایشگاه رسید. پس از محدود نمودن ناحیه رنگ‌آمیزی با Dako pen (Dako, Denmark)، به‌ترتیب روی اسلایدها محلول‌های فاقد سرم بلوک‌کننده پروتئین (Protein Block Serum- Free) (Dako, Denmark) به مدت ۱۰ دقیقه، بافر بلوک‌کننده یا محلول ۲ درصد سرم خرگوش و بز به مدت ۳۰ دقیقه، محلول H_2O_2 ۳٪ در صد به مدت ۱۰ دقیقه (برای خنثی کردن پراکسید داخلی)، استرپتواویدین (Streptavidin) (Dako, Denmark) به میزان یک قطره و به مدت ۱۵ دقیقه و سپس بیوتین (Biotin) (Dako, Denmark) به میزان یک قطره و به مدت ۱۵ دقیقه (به‌منظور خنثی نمودن بیوتین داخلی)، آنتی‌بادی بزی ضد CD161 موشی (Goat anti Mouse CD161) (Santacruz Biotechnology, USA) به مدت یک شب در

دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، آنتی‌بادی خرگوشی متصل به بیوتین ضد بزی (Biotin-Conjugated Rabbit anti Goat) (Invitrogen)، اضافه شد. آن‌گاه آنزیم آلکالین فسفاتاز کونژوگه با استرپتواویدین (Streptavidin Conjugated Alkaline Phosphatase) (Roche, Germany) اضافه شد و سپس به‌منظور بلوک نمودن جایگاه‌های خالی بیوتین یا استرپتواویدین و عدم تداخل آن با رنگ‌آمیزی مرحله بعدی به‌ترتیب استرپتواویدین و بیوتین به میزان یک قطره (۱۵ دقیقه) روی اسلایدها اضافه شد. پس از شستشوی برش‌ها با بافر نمکی تریس (Tris Buffer Saline: TBS)، سوبسترای آبی آلکالین فسفاتاز (USA, Vector Laboratories) به همراه لوامیزول (Levamisole) به‌عنوان مهار کننده آنزیم آلکالین فسفاتاز بافتی در اختیار برش‌های بافت قرار گرفت. پس از ظهور رنگ در مرحله بعد به‌ترتیب آنتی‌بادی‌های رتی ضد CD3 موش (Pharmingen; USA) (Rat- anti Mouse CD3)، آنتی‌بادی ثانویه بزی متصل به بیوتین ضد رت (Biotin-Conjugated Goat anti Rat) (Pharmingen; USA)، استرپتواویدین کونژوگه با آنزیم پراکسیداز (Pharmingen; USA)، سوبسترای دی‌آمینوبنزیل‌دین یا DAB (Pharmingen; USA) (Diaminobenzidine) اضافه شد. آن‌گاه هسته سلول‌ها با نوکلئار فست رد (Nuclear Fast Red) (Sigma; USA) رنگ‌آمیزی شد. لازم به ذکر است در فواصل هرکدام از مراحل به‌جز مرحله استفاده از محلول فاقد سرم بلوک‌کننده پروتئین شستشو با TBS سه بار و هر بار به مدت دو دقیقه انجام شد. پس از انجام مراحل آب‌گیری با درجات فزاینده اتانول هرکدام به مدت ۳۰ ثانیه، برش‌ها توسط Histo Clear شفاف و توسط Vecta Mount چسبانده شد.

مکان‌هایی که آنتی‌بادی اولیه CD161 به آن‌جا اتصال یافته بود، به‌صورت آبی روشن و مکان‌هایی که آنتی‌بادی اولیه CD3 به آن‌جا اتصال یافته بود، به‌صورت قهوه‌ای روشن قابل مشاهده بود. مکان‌هایی که حاوی هر دو نشانگر بوده و دو رنگ بودند، به‌صورت آبی-قهوه‌ای دیده شد. برای رنگ‌آمیزی هسته از



شکل ۲ رنگ‌آمیزی دوگانه بافت طحال موش برای نشانگر CD3 و CD161؛ سلول‌هایی که هر دو نشانگر را بیان می‌کنند (هر دو رنگ آبی و قهوه‌ای را می‌پذیرند)، سلول‌های NKT هستند که به رنگ آبی-قهوه‌ای قابل مشاهده هستند. (الف) گروه شاهد با بزرگنمایی $\times 200$ ، (ب) گروه تحریک تخمک‌گذاری شده با بزرگنمایی $\times 200$



نمودار ۱ مقایسه درصد جمعیت سلول‌های NKT در بافت طحال موش مابین دو گروه شاهد و تحریک تخمک‌گذاری (مقایسه درصد سلول‌های فوق‌الذکر مابین دو گروه مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری نداشت).

۳-۲- پراکندگی سلول‌های NKT طحال در دو

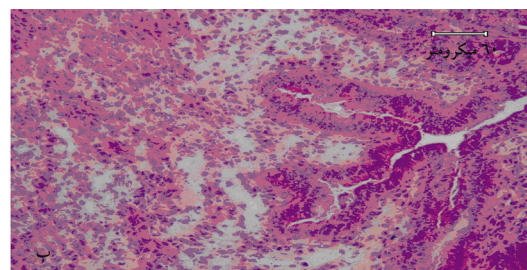
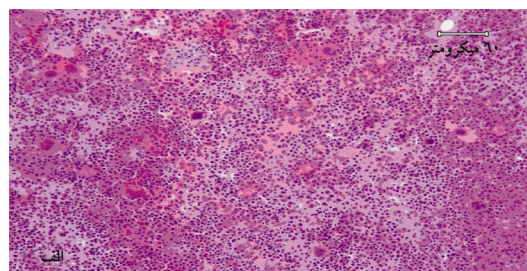
گروه شاهد و تحریک تخمک‌گذاری

نتایج رنگ‌آمیزی بافت طحال با آنتی‌بادی‌های ضد CD3 و CD161 نشان داد که سلول‌هایی که هر دو نشانگر را بیان می‌کنند (NKT) بیشتر در پولپ قرمز (Red Pulp) و تعداد کمی در داخل فولیکول‌ها حضور داشتند (شکل ۲) به‌علاوه

نوکلئار فست رد استفاده شد که هسته‌ها را به‌صورت صورتی تا قرمز نشان داد.

۲-۴- تجزیه و تحلیل آماری

برای بررسی و مقایسه پراکندگی جمعیت سلول‌های NKT رحم در هر گروه (کنترل و گروه تحریک تخمک‌گذاری) از Pair T test استفاده شد. همچنین برای مقایسه جمعیت این سلول‌ها در بین دو گروه آزمون T مستقل (Independent T Test) استفاده شد و $P \leq 0.05$ به‌عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.



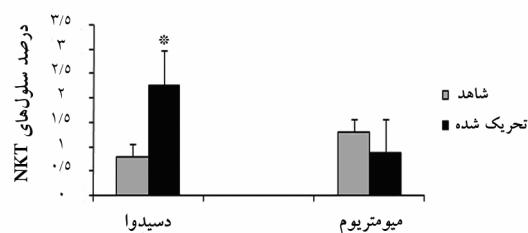
شکل ۱ رنگ‌آمیزی به روش H&E از بافت طحال و رحم موش؛ (الف) بافت طحال با بزرگنمایی $\times 200$ ، (ب) بافت رحم با بزرگنمایی $\times 200$

۳-نتایج

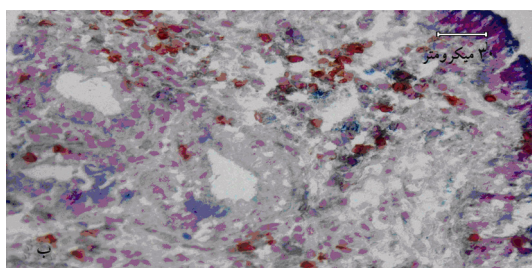
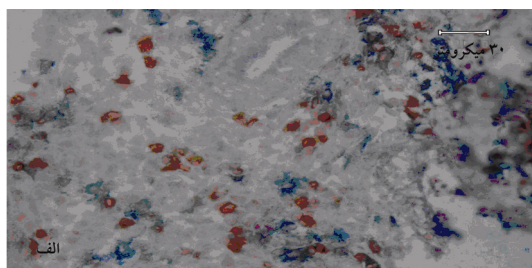
۳-۱- رنگ‌آمیزی ریخت‌شناسی

ریخت‌شناسی بافت طحال و آندومتر در دو گروه شاهد و تحریک شده ابتدا با رنگ‌آمیزی H&E ارزیابی شد که نمونه‌ای از آن در شکل ۱ آورده شده و تفاوت بافتی بین طحال دو گروه و یا آندومتر دو گروه دیده نشد.

شاهد و گروه تحریک تخمک‌گذاری به‌ترتیب 0.79 ± 0.17 و 2.26 ± 0.43 محاسبه شد که در گروه تحریک تخمک‌گذاری به‌طور معنی‌داری افزایش داشت ($P \leq 0.05$). همچنین درصد این سلول‌ها در میومتر (Myometrial Tissue) دو گروه شاهد و تحریک شده به‌ترتیب 1.29 ± 0.07 و 0.87 ± 0.44 محاسبه شد که ما بین دو گروه فوق‌الذکر تفاوت معنی‌داری نداشت ($P \geq 0.05$) (نمودار ۲).



نمودار ۲ مقایسه درصد جمعیت سلول‌های NKT در بافت دسیدوا و میومتر محل لانه‌گزینی دو گروه کنترل و تحریک تخمک‌گذاری (*: تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد $P \leq 0.05$)

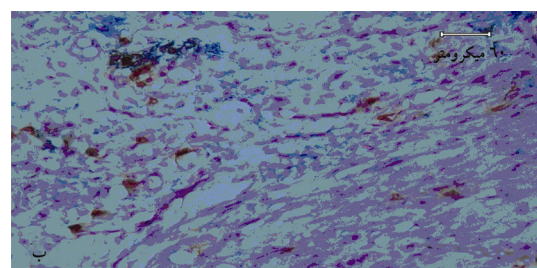
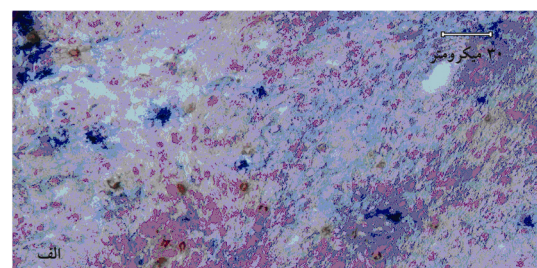


شکل ۴ رنگ‌آمیزی دوگانه بافت رحم موش باردار در روز هفت بارداری در فواصل لانه‌گزینی برای نشانگر CD161 و CD3 که نشان دهنده سلول‌های NKT به رنگ آبی - قهوه‌ای است. الف) گروه شاهد با بزرگنمایی $\times 400$ ب) گروه تحریک تخمک‌گذاری شده با بزرگنمایی $\times 400$

درصد سلول‌های NKT در بافت طحال دو گروه شاهد و گروه تحریک تخمک‌گذاری به‌ترتیب 3.46 ± 1.54 و 4.22 ± 1.04 بود و از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین دو گروه دیده نشد ($P \geq 0.05$) (نمودار ۱).

۳-۳- پراکندگی سلول‌های NKT در محل لانه‌گزینی دو گروه شاهد و تحریک تخمک‌گذاری

نتایج رنگ‌آمیزی بافت رحم با آنتی‌بادی‌های ضد CD3 و CD161 (NKT) نشان داد که سلول‌هایی که هر دو نشانگر را بیان می‌کنند (آبی - قهوه‌ای) بیشتر در اطراف غدد رحمی حضور دارند (شکل ۳).



شکل ۳ رنگ‌آمیزی دوگانه بافت رحم موش باردار در روز هفت بارداری در محل لانه‌گزینی برای نشانگر CD161 و CD3؛ سلول‌هایی که هر دو نشانگر را بیان می‌کنند (هر دو رنگ آبی و قهوه‌ای را می‌پذیرند)، سلول‌های NKT هستند که به رنگ آبی - قهوه‌ای قابل مشاهده هستند. الف) گروه شاهد با بزرگنمایی $\times 400$ ب) گروه تحریک تخمک‌گذاری شده با بزرگنمایی $\times 400$

سلول‌های NKT در دسیدوای محل لانه‌گزینی دو گروه

محل لانه‌گزینی نسبت به فواصل لانه‌گزینی در گروه تحریک تخمک‌گذاری کاهش نشان داد ($P \leq 0.05$).

۴- بحث

در این تحقیق با استفاده از رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی دوگانه، برای دو نشانگر غشایی NKT یعنی CD3 و CD161، پراکندگی جمعیت سلول‌های NKT در بافت‌های رحم و طحال دو گروه تحریک تخمک‌گذاری و شاهد موش‌های بارداری هفت روزه مقایسه و بررسی شد.

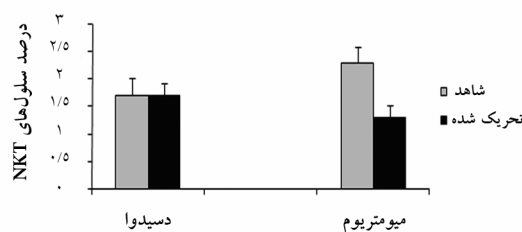
براساس نتایج تحقیق حاضر در هر دو گروه جمعیت سلول‌های NKT در محل‌های لانه‌گزینی در مقایسه با فواصل لانه‌گزینی کاهش معنی‌داری نشان داد ($P \leq 0.05$) به‌جز در دسیدوای گروه تحریک تخمک‌گذاری که افزایش در تعداد این سلول‌ها مشاهده شد. این امر می‌تواند نشانگر حفاظت بیشتر از پیوند سمی آلوگرافت (Semi Allograft) جنین باشد چرا که افزایش این سلول‌ها که فعالیت سیتوتوکسیستی دارند می‌تواند منجر به افزایش سقط جنین از مسیرهای مختلف از جمله افزایش تولید IFN- γ شود [۱۰]. همچنین باید توجه داشت که در محل‌های لانه‌گزینی علاوه بر فاکتورهای متعدد، وجود جنین یکی از عواملی است که آن را از فواصل لانه‌گزینی متمایز می‌سازد. وجود سیگنال جنینی و واکنش مابین جنین و سلول‌های دسیدوایی احتمالاً می‌تواند موجب کاهش مهاجرت سلول‌های NKT از منابع تولید به طرف بافت مذکور شود که نیاز به بررسی بیشتر دارد. در تأیید این نظریه افزایش وقوع سقط و شکست لانه‌گزینی در مواردی که جمعیت این سلول‌ها در آندومتر افزایش یافته بود، مشاهده شده است [۱۱، ۱۲].

از طرف دیگر هوول (Heuvel) و همکارانش در ۲۰۰۷ نشان دادند جمعیت این سلول‌ها در خون محیطی بیمارانی که با شکست لانه‌گزینی یا سقط همراه هستند نیز به‌طور معنی‌داری بالا رفته است [۱۳].

در تحقیق حاضر در مقایسه دو گروه تحریک تخمک‌گذاری و شاهد در محل لانه‌گزینی، تعداد این سلول‌ها در دسیدوای

۳-۴- پراکندگی سلول‌های NKT در فواصل لانه‌گزینی

تصاویر مربوط به رنگ‌آمیزی دوگانه بافت رحم در فواصل لانه‌گزینی در دو گروه در شکل ۴ آورده شده است. درصد سلول‌های NKT در دسیدوای گروه شاهد و گروه تحریک تخمک‌گذاری شده به‌ترتیب 1.09 ± 1.71 و 0.76 ± 1.71 محاسبه شد و همچنین این درصد در میومتر دو گروه مذکور به‌ترتیب 0.73 ± 2.29 و 0.33 ± 1.31 محاسبه شد. مقایسه درصد سلول NKT ما بین دو گروه فوق‌الذکر در دسیدوای میومتر تفاوت معنی‌داری نداشت (نمودار ۳).



نمودار ۳ مقایسه درصد جمعیت سلول‌های NKT در بافت دسیدوای و میومتر فواصل لانه‌گزینی دو گروه شاهد و تحریک تخمک‌گذاری (مقایسه درصد سلول‌های فوق‌الذکر مابین دو گروه مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری نداشت).

۳-۵- مقایسه پراکندگی سلول‌های NKT در فواصل لانه‌گزینی و محل لانه‌گزینی در گروه شاهد و تحریک تخمک‌گذاری

درصد سلول NKT در ناحیه دسیدوای محل لانه‌گزینی نسبت به فواصل لانه‌گزینی در گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشت ($P \leq 0.05$) ولی در ناحیه میومتر محل لانه‌گزینی نسبت به فواصل لانه‌گزینی در گروه شاهد تفاوتی دیده نشد.

مقایسه درصد سلول NKT در ناحیه دسیدوای محل لانه‌گزینی نسبت به فواصل لانه‌گزینی در گروه تحریک تخمک‌گذاری افزایش معنی‌داری داشت ولی در محل میومتر

گروه تحریک تخمک‌گذاری افزایش معنی‌داری نشان داد ($P \leq 0.05$). یکی از اصلی‌ترین دلایل افزایش تعداد سلول‌های دفاعی در دسیدوای گروه تحریک تخمک‌گذاری در محل لانه‌گزینی در مقایسه با گروه شاهد می‌تواند مربوط به افزایش سطح هورمون استروژن و پروژسترون در گروه تحریک تخمک‌گذاری باشد. چرا که نشان داده شد که استروژن می‌تواند باعث افزایش جمعیت تعداد NKT شود و به دنبال آن تولید $IFN-\gamma$ افزایش می‌یابد. یکی از مکان‌های موضعی تولید پروژسترون می‌تواند وجود جفت باشد به‌خصوص در گروه تحریک تخمک‌گذاری تعداد جفت‌های بیشتری نیز وجود دارد که خود باعث تولید بیشتر هورمون پروژسترون نیز می‌شود. از طرف دیگر ممکن است هورمون‌های استروئیدی وابسته به دوز عمل کنند؛ به‌طوری که در نقاط لانه‌گزینی گروه تحریک تخمک‌گذاری که میزان استروژن و پروژسترون بالاتری وجود دارد که می‌تواند بر تعداد این سلول‌ها تأثیرگذار باشد هر چند تحقیقات بیشتری در این زمینه ضرورت دارد.

کریزان (Krizan) و همکارانش در ۲۰۰۸ نشان دادند جمعیت این سلول‌ها در خون محیطی زنان با موفقیت IVF (In Vitro Fertilization) در مقایسه با عدم موفقیت IVF تغییری نداشت ولی در مایع فولیکولی گروهی که عدم موفقیت IVF داشتند به‌طور معنی‌داری افزایش داشت [۱۱]. بنابراین این احتمال وجود دارد که جمعیت سلول‌های NKT می‌تواند به‌صورت موضعی در ارتباط با تغییرات هورمون‌های استروژن و پروژسترون باشد.

به‌طور مشابه مطالعه ناکایا (Nakaya) در ۲۰۰۵ نشان داد که افزایش میزان استرادیول (Estradiol) باعث افزایش تعداد NKT می‌شود. در واقع استرادیول با اثر بر گیرنده‌اش باعث افزایش تعداد NKT می‌شود و در نتیجه $IFN-\gamma$ از این سلول‌ها بیشتر ترشح می‌شود [۱۴].

۶- منابع

environment of the uterus. Rev Reprod 2000;

براساس مشاهدات محققان حاضر در ارتباط با جمعیت سلول‌های NKT در بافت طحال، جمعیت این سلول‌ها در دو گروه تحریک تخمک‌گذاری و شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت. شاید یکی از دلایل عدم تأثیرگذاری تحریک تخمک‌گذاری بر پراکندگی سلول‌های NKT در طحال در مقایسه با اندومتر مربوط به پاسخ‌گویی متفاوت سلول‌های استرومایی این دو مکان به هورمون‌های استروئیدی باشد که این امر نیز تابعی از تعداد گیرنده‌های موجود بر سطح این سلول‌ها است. هریک از این سلول‌های استرومایی می‌تواند مستقیم یا غیرمستقیم بر ریزمحیط (Microenvironment) بافت تأثیر گذاشته که خود احتمالاً می‌تواند بر تعداد، پراکندگی، جذب و عملکرد سلول‌های NKT مؤثر باشد که نیاز به تحقیقات بیشتری در این زمینه است ولی با این حال به‌نظر می‌آید که تحریک تخمک‌گذاری بر سلول‌های ایمنی به شکل سیستماتیک تأثیری نداشته است.

بنابراین از نتایج تحقیق حاضر به‌نظر می‌رسد تحریک تخمک‌گذاری به شکل سیستماتیک بر جمعیت NKT موش‌های باردار تأثیر نگذاشته اما به شکل موضعی در دسیدوای محل لانه‌گزینی باعث افزایش سلول‌های NKT شده است این امر احتمالاً بر لانه‌گزینی جنین تأثیرگذار باشد که این نتیجه‌گیری نیاز به تحقیق بیشتری دارد.

۵- تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نویسندگان مراتب تشکر خود را از زحمات کارشناسان محترم بخش علوم تشریح دانشگاه تربیت مدرس سرکار خانم سعیده ابراهیمی و آقای شهرام پوربیرانوند اعلام می‌دارند. این تحقیق حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته علوم تشریح است و با حمایت مالی حوزه پژوهشی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس انجام شده است.

[1] Robertson SA. Control of the immunological

- 5(3): 164-74.
- [2] Aagaard-Tillery KM, Silver R, Dalton J. Immunology of normal pregnancy. *Semin Fetal Neonatal Med* 2006; 11(5): 279-95.
- [3] Mieza MA, Itoh T, Cui JQ, Makino Y, Kawano T, Tsuchida K, Koike T, Shirai T, Yagita H, Matsuzawa A, Koseki H, Taniguchi M. Selective reduction of V alpha 14+ NK T cells associated with disease development in autoimmune-prone mice. *J Immunol* 1996; 156(10): 4035-40.
- [4] Minami K, Yanagawa Y, Iwabuchi K, Shinohara N, Harabayashi T, Nonomura K, Onoé K. Negative feedback regulation of T helper type 1 (Th1)/Th2 cytokine balance via dendritic cell and natural killer T cell interactions. *Blood* 2005; 106(5): 1685-93.
- [5] Thum MY, Bhaskaran S, Bansal AS, Shehata H, Ford B, Sumar N, Abdalla HI. Simple enumerations of peripheral blood natural killer (CD56+ NK) cells, B cells and T cells have no predictive value in IVF treatment outcome. *Hum Reprod* 2005; 20(5): 1272-76.
- [6] Dang Y, Heyborne KD. Cutting edge: regulation of uterine NKT cells by a fetal class I molecule other than CD1. *J Immunol* 2001; 166(6): 3641-4.
- [7] Tsuda H, Sakai M, Michimata T, Tanebe K, Hayakawa S, Saito S. Characterization of NKT cells in human peripheral blood and decidual lymphocytes. *Am J Reprod Immunol* 2001; 45(5): 295-302.
- [8] Biegy M, Salehnia M, AI-Tiraihi T. Delayed decidualization and ultrastructural changes of mouse endometrium after mouse ovarian hyperstimulation at the implantation time. *J Middle East Fertil Stril Soci* 2003; 8(3): 229-34.
- [9] Kramer B, Magan A, de Wet G. Hyperstimulation affects vascular permeability at implantation sites in the rat endometrium. *J Assist Reprod Gene* 1993; 10(2): 163-8.
- [10] Walch KT, Huber JC. Progesterone for recurrent miscarriage: truth and deception. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2008; 22(2): 375-89.
- [11] Krizan J, Cuchalová L, Síma P, Králicková M, Madar J, Větvicka V. Altered distribution of NK and NKT cells in follicular fluid is associated with IVF outcome. *J Reprod Immunol* 2009; 82(1): 84-8.
- [12] Lukassen HG, van der Meer A, van Lierop MJ, Lindeman EJ, Joosten I, Braat DD. The proportion of follicular fluid CD16+CD56DIM NK cells is increased in IVF patients with idiopathic infertility. *J Reprod Immunol* 2003; 60(1): 71-84.
- [13] van den Heuvel MJ, Peralta CG, Hatta K, Han VK, Clark DA. Decline in number of elevated blood CD3(+) CD56(+) NKT cells in response to intravenous immunoglobulin treatment correlates with successful pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 2007; 58(5): 447-59.
- [14] Nakaya M, Tachibana H, Yamada K. Effect of estrogens on the interferon-gamma producing cell population of mouse splenocytes. *Biosci Biotechnol Biochem* 2006; 70(1): 47-53.