Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 7:08 IRST on Tuesday October 17th 2017

دانشور پزشکی

دوماهنامه علمی–پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال بیست‌ویکم–شماره ۱۱۱
تیر ۱۳۹۳

دریافت: ۱۳۹۳/۰۱/۳۰
آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۳/۰۳/۲۴
پذیرش: ۱۳۹۳/۰۳/۲۷

مقایسه فعالیت حیاتی سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی زنان باردار سالم و مبتلا به دیابت بارداری

نویسندگان: زهرا جباری[۱]، احیاء گرشاسبی[۲*]، محمدرضا جلالی ندوشن[۳]، صدیقه حنطوش‌زاده[٤]، شهره جلایی[٥] و طوبی غضنفری[٦*]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۲- دانشیار گروه زنان و زایمان، دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۳- استاد گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، تهران، ایران

٤- دانشیار گروه زنان و زایمان، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران، ایران

٥- استادیار گروه آمار حیاتی، دانشکده توانبخشی دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران

٦- استادگروه ایمونولوژی، مرکز تحقیقات تنظیم پاسخ‌های ایمنی دانشگاه شاهد، تهران، ایران

* نویسندگان مسئول: احیاء گرشاسبی E-mail: Garshasbi@shahed.ac.ir
طوبی غضنفری E-mail: tghazanfari@yahoo.com

چکیده

مقدمه و هدف: دیابت حاملگی (GDM) به‌صورت عدم تحمل گلوکز با شدت متفاوت است که اولین‌بار در دوران بارداری آغازشده یا تشخیص‌داده‌می‌شود. ایمونوپاتولوژی این بیماری به‌خوبی شناخته نشده‌است. ایمنی سلولی متفاوت به‌ویژه تعداد لکوسیت و زیررده‌ها در این بیماری گزارش‌شده‌است. با توجه به اهمیت سیستم ایمنی و به‌ویژه سلول‌های تک‌هسته خون محیطی (PBMC) در پاتوژنز دیابت بارداری، مطالعه حاضر با هدف مقایسه فعالیت حیاتی سلول‌های تک‌هسته خون محیطی زنان باردار سالم و مبتلا به دیابت بارداری انجام‌گرفت.

مواد و روش‌ها: طی یک مطالعه مورد- شاهدی، از ۳۷ زن باردار سالم و ۳۷ زن مبتلا به دیابت بارداری، نمونه خون جمع‌آوری‌شد و سلول‌های تک‌هسته خون محیطی جداسازی شدند؛ سپس این سلول‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت، در حضور و عدم حضور میتوژن (PHA) کشت‌داده و درنهایت با استفاده از روش MTT فعالیت حیاتی دو گروه سنجیده و اندکس تحریکی دو گروه مقایسه‌شدند و با آزمون آماری پیرسون و اسپیرمن، همبستگی متغیرها بررسی‌شدند.

نتایج: میان دو گروه از نظر سن، شاخص توده بدنی و سن حاملگی، تفاوتی معنی‌دار وجودنداشت. درصد اندکس تحریکی گروه مبتلا به دیابت بارداری و باردار سالم به‌ترتیب عبارت‌بود از ۲۳/۶± ۳۷/ ۱۳۴ و ۳۱/۵± ۱۳۵/۲. تفاوتی معنی‌دار در اندکس تحریکی (SI) سلول‌های PBMC زنان مبتلا به دیابت بارداری و باردار سالم مشاهده‌نشد (P=0.89) .

نتیجه‌گیری: فعالیت حیاتی سلول‌های PBMC زنان مبتلا به دیابت بارداری در سه ماهه سوم بارداری با بارداری طبیعی، تفاوتی معنی‌دار نداشت.

واژگان کلیدی: دیابت بارداری، فعالیت حیاتی، سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 7:08 IRST on Tuesday October 17th 2017

مقدمه

دیابت حاملگی (GDM)[1]، عدم تحمل گلوکز با شدت متفاوت است که اولین‌بار در دوران بارداری آغازشده یا تشخیص‌داده‌می‌شود (۱)؛ شیوع آن بسته به جمعیت مورد مطالعه و تست‌های تشخیصی از ۱ تا ١٤ درصد است (۲). براساس مطالعه *گرشاسبی* و همکاران در سال ۲۰۰۲ تا ۲۰۰٤ شیوع GDM را در تهران ٦/۸ درصد بارداری‌ها تخمین‌زده‌اند (۳). دیابت بارداری، شرایط پاتولوژیک است که بروز عوارض را در مادر و جنین افزایش‌می‌دهد. ازجمله در نوزاد سبب ماکروزومی، هیپوگلیسمی، هیپوکلسمی، زردی، هیپرتروفی قلبی، چاقی، سندرم زجرتنفسی و تولد نوزاد مرده می‌شود. دیابت بارداری، خطر ایجاد پلی‌هیدروآمنیوس، هایپرتانسیون، پیلونفریت و زایمان به روش سزارین را افزایش‌می‌دهد (٤). ریسک ابتلا به دیابت تیپ دو در زنان مبتلا به دیابت بارداری ٦ تا ٦۲ درصد افزایش‌دارد و ریسک چاقی و ابتلا به دیابت تیپ دو در بزرگسالی در نوزادان این بیماران، بیشتر است (۵)؛ همچنین چاقی و استرس اکسیداتیو، ریسک ابتلا به دیابت بارداری را افزایش‌می‌دهد (٦و ۷).

به‌رغم اینکه مدت زیادی از شناسایی این بیماری می‌گذرد، علت اصلی بروز این بیماری به‌طور کامل شناخته‌شده نیست. مقاومت به انسولین و التهاب، به‌عنوان دو مسیر مهم در پاتوژنز دیابت بارداری و دیابت تیپ دو شناخته‌شده‌اند (۸). پیشرفت دیابت بارداری با اختلال‌های متابولیک، عروقی و پاسخ‌های التهابی در گردش خون مادر، طی بارداری همراه است (۹) و این التهاب می‌تواند در پاتوفیزیولوژی ارتباط دیابت بارداری و ابتلا به دیابت تیپ دو در بزرگسالی نقش‌داشته‌باشد.

سازوکارهایی متعدد به‌عنوان عوامل دخیل در مقاومت به انسولین پیشنهادشده‌اند که شامل ترکیبی از تغییرها در عملکرد اندوکرین بافت چربی، تغییرهای هورمونی و سایتوکاینی هستند(۱۰). در مقایسه با بارداری طبیعی، GDM با افزایش بیشتر مقاومت به انسولین همراه است (۱۱). شواهد اخیر نشان‌می‌دهند که التهاب ویژگی اصلی سندرم مقاومت به انسولین است (۱۲). بیشتر مطالعات انجام‌پذیرفته در این زمینه به مقایسه سطح سایتوکاین‌های التهابی پرداخته‌اند (۱۳-۱۹)؛ نتایج تعدادی از این مطالعات، تفاوت در سطح سایتوکاین‌ها ازقبیل TNF-α، IL-6 ... و آدیپوکاین‌ها را در زنان مبتلا به دیابت بارداری در مقایسه با زنان باردار سالم گزارش‌کرده‌اند، برخی از سایتوکاین‌های التهابی ازجمله TNF-α از طریق تداخل در سیگنالینگ انسولین، مقاومت به انسولین را درپی‌داشته، در پاتوژنز دیابت بارداری نقش‌دارند (۲۰).

مطالعات انسانی انجام‌گرفته در بیماران مبتلا به دیابت بارداری و همچنین مطالعات مدل‌حیوانی در رت‌های ویستارد باردار دیابتی، الگوی ایمنی سلولی متفاوتی را نسبت‌به بارداری طبیعی گزارش‌کرده‌اند.

نتایج این مطالعات به تفاوت در تعداد لنفوسیت تام، لنفوسیت‌های فعال، TCD4، TCD8، Treg، Tγδ، ماکروفاژ و منوسیت و تفاوت در سایتوکاین‌های Th1 و Th2 اشاره‌کرده‌اند (۲۱ تا ۲۳) و نشان‌دهنده نقش احتمالی سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی در این بیماری است که به‌احتمال در ایجاد شرایط التهاب و عدم تحمل گلوکز نقش‌دارند؛ نتایج یکی از این مطالعات از کاهش تکثیر لنفوسیت T در رت‌های باردار دیابتی حکایت‌دارد (۲٤) اما تاکنون در انسان، مطالعه‌ای درزمینه فعالیت حیاتی سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (PBMC)[2] بیماران مبتلا به دیابت بارداری گزارش‌نشده‌است.

علاوه‌براین، مطالعات پیشین تفاوت در مقادیر آدیپوسایتوکاین‌ها و عملکرد اندوکرین بافت چربی را نیز در زنان مبتلا به دیابت بارداری در مقایسه با زنان باردار سالم گزارش‌کرده‌اند (۲۵و ۲٦). میزان فعالیت و سرعت تکثیر سلول‌ها ممکن است تحت تأثیر هورمون‌ها، فاکتورهای رشد، سایتوکین‌ها، میتوژن‌ها،

[1]- GDM :Gestational Diabetes Mellitus

[2]- Peripheral Blood Mononuclear Cell

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 7:08 IRST on Tuesday October 17th 2017

شرایط پاتولوژیک و متابولیک غیرطبیعی قرارگیرد. با توجه به اهمیت نقش سیستم ایمنی در پاتوژنز دیابت بارداری و اختلال در ایمنی سلولی در این بیماری، سنجش فعالیت حیاتی سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی در این بیماران، امری لازم به‌نظررسید؛ ازاین‌رو، این مطالعه برای اولین‌بار به مقایسه فعالیت حیاتی سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی زنان مبتلا به دیابت بارداری و باردار سالم پرداخته‌است.

مواد و روش‌ها

پس از اخذ موافقت کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه شاهد، یک مطالعه مورد - شاهدی با ۷٤ خانم باردار شامل ۳۷ زن مبتلا به دیابت بارداری به‌عنوان گروه شاهد و ۳۷ زن باردار سالم به‌عنوان گروه کنترل، در هفته ۲۸ تا ۳٦ بارداری، از دی ماه ۱۳۹۱ تا دی ماه ۱۳۹۲ انجام‌پذیرفت. نمونه‌گیری به‌صورت تصادفی و از میان زنان باردار مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های شهید مصطفی خمینی و ولیعصر (عج) صورت‌گرفت.

تشخیص دیابت بارداری با انجام تست تحمل گلوکز (OGTT)[1] با ۷۵ گرم گلوکز خوراکی براساس توصیه انجمن دیابت آمریکا در سال ۲۰۱۲ انجام‌پذیرفت (۲۷)؛ براساس این استاندارد درصورتی‌که، هریک از مقادیر گلوکز پلاسما بیش از مقادیر زیر باشد، دیابت بارداری تشخیص‌داده‌می‌شود: ناشتا ≤ ۹۲ mgr/dL، ۱ ساعت بعد ≤ ۱۸۰ mgr/dL و ۲ ساعت بعد ≤۱۵۳ mgr/dL. افراد شرکت‌کننده در این مطالعه تحت درمان با انسولین نبوده، تحت درمان با رژیم غذایی بودند. معیارهای خروج از مطالعه شامل «دیابت از پیش تشخیص‌داده‌شده، سابقه هرگونه بیماری، مصرف دارو، عفونت و ...» بود. پس از اخذ رضایت از افراد شرکت‌کننده در مطالعه، اطلاعات دموگرافیک و مامایی بیماران ازقبیل سن، سن بارداری و نمایه توده بدنی به‌صورت پرسش‌نامه جمع‌آوری و از اطلاعات بالینی پرونده بیماران استفاده‌شد.

جمع‌آوری نمونه خون و جداسازی سلول

از همه افراد شرکت‌کننده در این تحقیق، ۳ میلی‌لیتر خون وریدی ناشتا در لوله فالکون هپارینه استریل جمع‌آوری‌شد؛ سپس خون را با PBS رقیق و به‌آرامی روی فایکول با نسبت ۱ به ۱ اضافه‌کردند و به‌مدت ۲۰ دقیقه با دور rpm ۲۸۰۰ سانتریفوژشد. سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی به‌صورت هاله‌ای وسط پلاسما و فایکول جدا شدند و در گام‌های بعدی، دو مرحله با PBS (GIBCO) و RPMI1640 شستشوداده‌شدند.

تحریک و کشت سلول‌های PBMC

سلول‌هایPBMC جداشده را به محیط RPMI1640 حاوی ۱۰ درصد FBS و پنی‌سیلین اضافه‌کرده، شمارش سلول‌ها با لام نئوبار انجام‌پذیرفت. برای بررسی زنده‌بودن سلول‌ها از رنگ‌آمیزی تریپان بلو و بررسی میکروسکوپ نوری استفاده‌شد. برای کشت سلول، پلیت‌های ۹٦ خانه‌ای به‌کارگرفتند؛ سپس تعداد ۱X۱۰٦ در میلی‌لیتر سلول در ۳ خانه با میتوژن (۵ میکرولیتر PHA ۳ و GIBCO) و ۳ خانه بدون مایتوژن به‌مدت ٤۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد و CO2 ۵ درصد کشت‌داده‌شدند.

تست MTT

به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت حیاتی شامل تکثیر و فعالیت سلول‌ها از روش MTT (۳-(٤ و۵ دی متیل۱-۲ تیازولیل) ۲ و ۵ دی فنیل ۲-تترازولیوم برومید) استفاده‌شد. ابتدا محلول MTT (غلظت ۵mgr/ml در نرمال سالین) تهیه و با فیلتر ۰/۲ میکرومتر استریل‌شد، پس از ٤۸ ساعت انکوباسیون پلیت از انکوباتور خارج و در شرایط استریل ۲۰ میکرولیتر محلول MTT (۱/۱۰ حجم کل محیط) به هر خانه اضافه شد و کشت به‌مدت ٤ ساعت دیگر ادامه‌یافت. نمک تترازولیوم توسط میتوکندری فعال سلول به کریستال‌های بنفش‌رنگ فورمازان احیامی‌شود، پس از ٤ ساعت کشت، پلیت سانتریفوژشد و مایع رویی پلیت به‌طور کامل، خارج و به سلول‌های ته پلیت ۱۰۰ میکرولیتر ایزوپروپانول اسیدی (۳ درصد) اضافه شد و با پیپتاژ، کریستال‌ها

[1]- Oral Glucose Tolerance Test

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 7:08 IRST on Tuesday October 17th 2017

به‌طور کامل حل‌شدند (کریستال‌های بنفش‌رنگ فورمازان قادر نیستند از غشای سلول خارج‌شوند و با اضافه‌کردن ایزوپروپانول اسیدی از سلول خارج‌می‌شوند)؛ سپس به‌سرعت به دستگاه الایزا ریدر منتقل شده، جذب نوری در طول موج ٤٩٠ نانومتر خوانده‌شد.

محاسبات آماری

تمامی اطلاعات به‌دست‌آمده در نرم‌افزار SPSS تحلیل‌شد. آزمون T دوطرفه و تحلیل واریانس برای مقایسه میانگین مقادیر به‌دست‌آمده در دو گروه به‌کارگرفته‌شد. همبستگی متغیرهای مطالعه به روش SPSS و آزمون آماری همبستگی پیرسون و اسپیرمن سنجیده و سطح معنی‌دار $p<0.05$ درنظرگرفته‌شد.

یافته‌ها

اطلاعات دموگرافیک افراد شرکت‌کننده در تحقیق (سن، هفته بارداری، وزن، قد، شاخص توده بدنی و قند خون ناشتا) در جدول ۱ ارائه‌شده‌است، میانگین قند خون ناشتا (FBS) در دو گروه دیابتی و کنترل به‌ترتیب عبارت‌بود از: ۱۰۰/۹۷ و ۸۱/۷٦ که در دو گروه، تفاوتی معنی‌دار داشت (P=۰/۰)، در گروه دیابتی قند خون ناشتا، رابطه‌ای مستقیم با سن افراد شرکت‌کننده داشت، تفاوتی معنی‌دار در متغیرهای سن افراد، سن بارداری و نمایه توده بدنی دو گروه یافت‌نشد.

جدول ۱. اطلاعات دموگرافیک گروه مبتلا به دیابت بارداری و باردار سالم

متغیر	باردار سالم (تعداد=۳۷)	مبتلا به دیابت بارداری (تعداد=۳۷)	P value
سن مادر (سال)	۳۰/۲۵± ۴/۵	۳۱±۴/۶۲	۰/۴۶
سن بارداری (هفته)	۳۰/۹۲± ۳/۴۳	۳۱/۵۲±۳/۴	۰/۴۵
نمایه توده بدنی ابتدای بارداری (کیلوگرم بر مترمربع)	۲۴/۶۳± ۴/۲	۲۵/۸۷ ± ۳/۲۹	۰/۱۷
نمایه توده بدنی زمان نمونه‌گیری (کیلوگرم بر مترمربع)	۲۸/۳۶± ۴/۵	۲۹/۹۳ ± ۳/۸۵	۰/۱۱۶
گلوکز ناشتا (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۸۱/۷۶± ۲۰/۷۳	۱۰۰/۹۷ ± ۱۸/۶	$۰/۰۰۰

مقایسه برمبنای آزمون t انجام‌گرفته‌است و مقدار $p\leq$ ۰/۰۵ از نظر آماری، معنی‌دار است.

* مقادیر به‌صورت انحراف معیار ± میانگین داده‌شده‌اند.

$ میان گروه مبتلا به دیابت بارداری و سالم، اختلافی معنی‌دار مشاهده‌شد (P= ۰/۰).

میانگین درصد جذب نوری حاصل از احیای MTT توسط سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی دو گروه زنان باردار سالم و مبتلا به دیابت بارداری، در مجاورت میتوژن و بدون حضور میتوژن، پس از ٤٨ ساعت کشت در جدول ۳ ارائه‌شده‌است. نمودار۱، میانگین درصد جذب نوری سلول‌های PBMC را نشان‌می‌دهد. تفاوتی معنی‌دار در اندکس تحریکی سلول‌های PBMC زنان مبتلا به دیابت بارداری در مقایسه با زنان باردار سالم مشاهده‌نشد.

SI(%)[1]: جذب نوری سلول‌های تحریک‌شده/جذب نوری سلول‌های تحریک‌نشده X ۱۰۰

[1] - SI: Stimulation index

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 7:08 IRST on Tuesday October 17th 2017

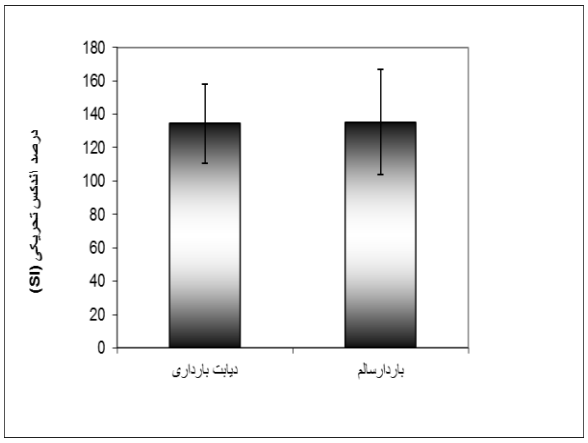
جدول۲. میانگین جذب نوری ناشی از احیای MTT متعاقب ٤٨ ساعت کشت سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی (PBMC) در حضور و عدم حضور میتوژن، در دو گروه باردار سالم و مبتلا به دیابت بارداری

فعالیت حیاتی	دیابت بارداری	کنترل
میانگین درصد جذب نوری سلول‌های تحریک‌نشده	۲۵/۲ ± ۷	۳۰/۲ ± ۱۰
میانگین درصد جذب نوری سلول‌های تحریک‌شده	۳۳/۲± ۸	۳۹/۸ ± ۱۱
P value	۰/۰۰۰۲$	۰/۰۰۰۱$$

مقایسه برمبنای آزمون t انجام‌گرفته‌است. مقادیر به‌صورت انحراف معیار ± میانگین داده‌شده‌اند و p≤۰/۰۵ از نظر آماری، معنی‌دار است.

$ در گروه زنان مبتلا به دیابت بارداری، در میانگین درصد جذب نوری سلول‌های تحریک‌شده و نشده بر اثر میتوژن، تفاوتی معنی‌دار مشاهده‌شد.

$$ در گروه زنان باردار سالم، در میانگین درصد جذب نوری سلول‌های تحریک‌شده و نشده بر اثر میتوژن، تفاوت معنی‌داری مشاهده‌شد.



نمودار۱. درصد اندکس تحریکی سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی زنان باردار سالم و مبتلا به دیابت بارداری، متعاقب اثر میتوژن PHA در تست MTT

سلول‌ها به تعداد ۱X۱۰٦ در میلی‌لیتر در پلیت ۹٦ خانه، در حضور و عدم حضور میتوژن کشت‌داده‌شدند و براساس جذب نوری سلول‌های تحریک‌شده و نشده، درصد اندکس تحریکی محاسبه‌شد. مقدار ۰۵/ ۰≥p از نظرآماری، معنی‌دار است.

بحث و نتیجه‌گیری

به‌رغم اینکه مدت زیادی از شناسایی دیابت بارداری به‌عنوان یکی از اختلال‌های بارداری می‌گذرد، تاکنون عوامل دخیل در بیماری‌زایی آن به‌خوبی شناخته نشده‌اند. مطالعات پیشین، نقش سیستم ایمنی را ازقبیل نقش التهاب و سایتوکاین‌های التهابی در ایجاد مقاومت به انسولین در پاتوژنز دیابت بارداری اثبات‌کرده‌اند. تعدادی از مطالعات، اهمیت و نقش سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی را در دیابت بارداری گزارش‌کرده‌اند؛ نتایج این مطالعات از این حکایت‌دارند که بیماران مبتلا به دیابت بارداری دارای الگوی ایمنی سلولی متفاوتی نسبت‌به زنان باردار سالم هستند، اما تاکنون سنجش فعالیت حیاتی سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی بیماران مبتلا به دیابت بارداری گزارش‌نشده‌است. با توجه به اهمیت این پاسخ در وضعیت‌های کلینیکی مختلف در این مطالعه، فعالیت حیاتی سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی زنان مبتلا به دیابت بارداری با زنان باردار سالم مقایسه‌شد.

نتایج پژوهش حاضر نشان‌دادند که اندکس تحریکی (SI) سلول‌های PBMC زنان مبتلا به دیابت بارداری نسبت‌به باردار سالم، تفاوتی معنی‌دار نداشت. در این مطالعه تفاوتی معنی‌دار در شاخص توده بدنی، سن و سن بارداری دو گروه وجودنداشت. نتایج مطالعات پیشین، نشانگر این نکته‌اند که زنان مبتلا به دیابت بارداری، جمعیت سلول T (CD4, CD8) متفاوتی نسبت‌به زنان باردار سالم هستند، *لا پولا*[1] و همکاران به این نتیجه رسیدند که بیماران GDM نسبت‌به زنان باردار سالم، دارای لنفوسیت تام بیشتر و لنفوسیت‌های TCD8 بیان‌کننده γδ بیشتری هستند و بیماران تحت درمان با انسولین، دارای سطح پایین‌تر CD4 و سطح بالاتر CD8

[1] - Lapolla

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 7:08 IRST on Tuesday October 17th 2017

نسبت‌به مادران دیابتی تحت رژیم غذایی و گروه کنترل بوده‌اند اما تفاوتی در مقادیر سایتوکاین نیافتند (۲۱). *لاپولا* و همکاران، تعداد لنفوسیت‌های تام را در سرم بیماران دیابتی با کمک فلوسایتومتری اندازه‌گیری‌کردند درحالی‌که در مطالعه حاضر از روش MTT برای سنجش فعالیت حیاتی استفاده‌شده‌است و روش انجام دو مطالعه، متفاوت است.

در مطالعه‌ای که محمود[1] و همکاران با استفاده از روش فلوسایتومتری دو رنگ انجام‌دادند به این نتیجه رسیدند که بیماران GDM، دارای CD4(+) CD29(+), CD4 (+) CD25(+), CD4(+)CD45RO بیشتری نسبت‌به زنان باردار سالم هستند (۲۲).

همچنین *ریچاردسون*[2] و همکاران سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی زنان باردار سالم و مبتلا به دیابت بارداری را در هفته ۳۵ تا ۳۸ بارداری پس از کشت، به کمک روش FACS مقایسه‌کردند؛ نتایج این مطالعه از این حکایت‌داشت که زنان مبتلا به دیابت بارداری دارای منوسیت-ماکروفاژ، لنفوسیت T فعال‌شده، Tmemory وTreg بیشتری نسبت‌به زنان باردار طبیعی هستند (۲۳)؛ این در حالی است که روش مورد استفاده و سن بارداری دو مطالعه تفاوت‌دارد.

با توجه به تفاوت در فن و روش انجام تحقیق، نتایج مطالعه حاضر با نتایج سایر مطالعات انجام‌پذیرفته در زنان مبتلا به دیابت بارداری، چندان قابل‌مقایسه نیست؛ همچنین اختلاف نظرهای موجود در پژوهش‌های مشابه می‌تواند با تفاوت در ویژگی افراد شرکت‌کننده ازجمله سن بارداری، شدت بیماری، تفاوت در نوع نمونه (سرم، پلاسما یا مایع روی کشت) و تفاوت در روش پژوهش (فلوسایتومتری، MTT LTT و ...) همراه باشد؛ همچنین شاخص توده بدنی، سیگاری‌بودن و نژاد از دیگر عواملی هستند که سیستم ایمنی را تحت تأثیر قرارمی‌دهند.

مطالعه *گیورموچ*[3] و همکاران، تنها مطالعه‌ای است که تاکنون بلاستوژنز لنفوسیت T را در دیابت بارداری گزارش‌کرده‌است؛ در این مطالعه، بلاستوژنز لنفوسیت‌های T در رت‌های باردار دیابتیک و نوزادان ماکروزوم آنها به کمک تیمیدین نشاندار سنجیده شده‌است. یکی از نتایج این مطالعه نشان‌دهنده کاهش تکثیر لنفوسیت‌های T تحریک‌شده با میتوژن در رت‌های دیابتیک و نوزادان ماکروزوم آنها در مقایسه با گروه کنترل بود (۲٤) که با نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه حاضر، متفاوت است. احتمال‌دارد تفاوت نتایج به دلیل تفاوت در نمونه مورد آزمایش در دو مطالعه باشد، مطالعه *گیورموچ* و همکاران روی لنفوسیت‌های T رت‌های باردار که توسط STZ دیابتی شدند انجام‌گرفته‌است؛ این در حالی است که مطالعه حاضر بر سلول‌های تک‌هسته خون محیطی انسان انجام‌شده‌است.

درکل از یافته‌های این تحقیق می‌توان چنین نتیجه‌گرفت که به‌احتمال، فعالیت تحریکی سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی به‌تنهایی، در پاتوژنز دیابت بارداری نقش‌ندارد؛ البته تأیید این موضوع، مستلزم انجام مطالعات دیگر با تعداد بیشتر شرکت‌کننده، در دوره‌های مختلف بارداری ازقبیل سه ماهه اول و سه ماهه دوم است؛ همچنین با توجه به نقش مهم سایتوکاین‌ها در پاتوژنز دیابت بارداری، بررسی الگوی سایتوکاینی و ارتباط آن با وضعیت بیماری ضروری به‌نظرمی‌رسد و انجام مطالعاتی با هدف سنجش فعالیت حیاتی سلول‌های PBMC در کنار فاکتورهای دیگر ازجمله تعداد لنفوسیت تام و درصد زیررده‌های لنفوسیت T، مونوسیت، ماکروفاژ، سایتوکاین‌ها، آدیپوسایتوکاین‌ها، هورمون‌ها و فاکتورهای رونویسی به یافتن اتیولوژی و ایمونوپاتولوژی این بیماری کمک‌می‌کنند.

[1] - Mahmoud
[2] -Richardson
[3]- Guermouche

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 7:08 IRST on Tuesday October 17th 2017

لازم به توضیح است ازجمله محدودیت‌ها و دشواری‌های این پژوهش، دسترسی به بیماران مبتلا به دیابت بارداری بود که تحت درمان با انسولین نباشند.

تقدیر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دانشجویی کارشناسی ارشد است که با حمایت مرکز تحقیقات تنظیم پاسخ‌های ایمنی دانشگاه شاهد انجام‌شده‌است. در پایان از تمامی بیماران شرکت‌کننده در این مطالعه کمال قدردانی به‌عمل‌می‌آید.

منابع

1. Association AD. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care . 2008; 31:S55–S60.
2. Deshpande AD, Harris-Hayes M, Schootman M. Epidemiology of diabetes and diabetes-related complications. Physical Therapy.. 2008;88(11):1254–64.
3. Garshasbi A, Faghihzadeh S, Naghizadeh MM, Ghavam M. Prevalence and risk factors for gestational diabetes mellitus in Tehran. Journal of Family and reproductive health Care. 2008;2(2):75–80.
4. Singh SK, Rastogi A. Gestational diabetes mellitus. Diabetes & Metabolic syndrome. 2008;2(3):227–34.
5. Kim C, Newton KM, Knopp RH. Gestational Diabetes and the Incidence of Type 2 Diabetes A systematic review. Diabetes care. 2002;25 (10): 1862–8.
6. Garshasbi A, Solbi Z, Faghihzade S, Naghizade M. Effects of Increase in Body Mass Index Category during Pregnancy on Pregnancy Outcome. Medical Daneshvar. 2008; 16 (77) 16 (77) :33-40
7. Abdolsamad H, Zamani Bonab M, Goodarzi MT, Soltanian A, Radi Sh, Ahmadi F.Comparative evaluation of salivary antioxidants in gestational diabetes and healthy pregnant women. Medical Daneshvar. 2011; 18 (94) 18 (94) :1-8
8. Vrachnis N, Belitsos P, Sifakis S, Dafopoulos K, Siristatidis C, Pappa KI, et al. - previous gestational diabetes mellitus. International journal of Endocrinology. 2012 ; 549748.
9. Retnakaran R, Hanley AJ, Raif N, Connelly PW, Sermer M, Zinman B. C-reactive protein and gestational diabetes: the central role of maternal obesity. Journal of clinical endocrinology & metabolism . 2003;88(8):3507–12.
10. Kleiblova P, Dostalova I, Bartlova M, Lacinova Z, Ticha I, Krejci V, et al. Expression of adipokines and estrogen receptors in adipose tissue and placenta of patients with gestational diabetes mellitus. Molecular and cellular endocrinology . 2010;314(1):150–6.
11. Richardson AC, Carpenter MW. Inflammatory mediators in gestational diabetes mellitus. Obstetrics and Gynecology Clinics of North America . 2007;34(2):213–24.
12. Öztekin Ö. New insights into the pathophysiology of gestational diabetes mellitus: possible role of human leukocyte antigen-G. Medical hypotheses. 2007;69(3):526–30.
13. McLachlan KA, O'Neal D, Jenkins A, Alford FP. Do adiponectin, TNFα, leptin and CRP relate to insulin resistance in pregnancy? Studies in women with and without gestational diabetes,during and after pregnancy.Diabetes Metabolism Research and Reviews. 2006 ;22(2) :131–8.
14. Georgiou HM, Lappas M, Georgiou GM, Marita A, Bryant VJ, Hiscock R, et al. Screening for biomarkers predictive of gestational diabetes mellitus. Acta diabetologica. 2008;45(3):157–65.
15. Ategbo J-M, Grissa O, Yessoufou A, Hichami A, Dramane KL, Moutairou K, et al. Modulation of adipokines and cytokines in gestational diabetes and macrosomia. Journal of clinical endocrinology & metabolism. 2006; 91(10):4137–43.
16. Kuzmicki M, Telejko B, Szamatowicz J, Zonenberg A, Nikolajuk A, Kretowski A, et al. High resistin and interleukin-6 levels are associated with gestational diabetes mellitus. Gynecological endocrinology,. 2009; 25(4):258–63.
17. Winkler G, Cseh K, Baranyi É, Melczer Z, Speer G, Hajós P, et al. Tumor necrosis factor system in insulin resistance in gestational diabetes. Diabetes Research and Clinical Practice. 2002;56(2):93–9.
18. Salmi AA, Zaki MN, Zakaria R, Nor Aliza GA, Rasool HA. Arterial stiffness, inflammatory and pro-atherogenic markers in gestational diabetes mellitus. Vasa. 2012;41(2):96–104.
19. Cseh K, Baranyi E, Melczer Z, Csakany GM, Speer G, Kovacs M, et al. The pathophysiological influence of leptin and the tumor necrosis factor system on maternal insulin resistance: negative correlation with anthropometric parameters of neonates in gestational diabetes. Gynecological Endocrinology. 2002;16(6):453–60.
20. Dandona P, Aljada A, Bandyopadhyay A. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. Trends in Immunology. 2004;25(1):4–7.
21. Lapolla A, Dalfrà MG, Sanzari M, Fedele D, Betterle C, Masin M, et al. Lymphocyte subsets and cytokines in women with gestational diabetes mellitus and their newborn. Cytokine. 2005;31(4):280–7.
22. Mahmoud F, Abul H, Omu A, Haines D. Lymphocyte Sub-populations in Gestational Diabetes. American Journal of Reproductive Immunology. 2005;53(1):21–9.
23. Richrdson A,Cao L, Catlow D, Carpenter M, Sharma S, undefined others. Abnormal cellular immune function in patients with gestational

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 7:08 IRST on Tuesday October 17th 2017

diabetes mellitus (GDM). American Journal of Obstetrics & Gynecology . 2005;193(6):S93.

24. Guermouche B, Yessoufou A, Soulimane N, Merzouk H, Moutairou K, Hichami A, et al. n-3 Fatty Acids Modulate T-Cell Calcium Signaling in Obese Macrosomic Rats. Obesity research. 2004;12(11):1744–53.
25. Hossein-nezhad A, Mirzaei K, Maghbooli Z, Rahmani M, Larijani B. Resistin, adiponectin and visfatin; can adipocytokines predict gestational diabetes mellitus and early post partum metabolic syndrome. Iranian Journal of Diabetes and Lipid Disorders. 2010;9(6).
26. Maghbouli J, Hoseinnejad A, Khoshniatnikoo M, Arzaghi SM, Rahmani M, Larijani B. Serum Leptin concentration in gestational diabetes mellitus patients. Iranian Journal of Diabetes and Lipid Disorders. 2006;6(1):57–66.
27. Association AD. Standards of medical care in diabetes–2012. Diabetes Care. 2012;35:S11.

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 7:08 IRST on Tuesday October 17th 2017

Daneshvar

Medicine

Scientific-Research Journal of Shahed University
21st Year, No.111
June- July, 2014

Comparison of peripheral blood mononuclear cells viability in healthy pregnant women and patients with gestational diabetes mellitus

Zahra Jabari[1], Ahia Garshasbi[2*], Mohammad Reza Jalali Nadoushan[3], Sedigheh HantushZadeh[4], Shohreh Jalaei[5], Tooba Ghazanfari[6]*

1. Department of Immunology, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran
2. Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran
3. Department of Pathology, Faculty of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran
4. Department of Obstetrics and Gynecology, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
5. Department of Physical Therapy, Faculty of Rehabilitation, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
6. Immunoregulation Research Center, Shahed University, Tehran, Iran

E-mail: Garshasbi@shahed.ac.ir, tghazanfari@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: Gestational diabetes mellitus (GDM) is defined as glucose intolerance of variable severity with onset or first diagnosis during pregnancy. Immunopathology of GDM is not well known. Different parameters of cellular immunity, particularly leukocyte count and subset have been reported. Considering the importance of the immune system, particularly peripheral blood mononuclear cells (PBMC) in the pathogenesis of gestational diabetes, the aim of this study was to investigate the viability of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) in patients with GDM in comparison with healthy pregnant women.

Materials and Methods: During a case -control study, 37 pregnant women with GDM and 37 healthy pregnant women in gestational age 28-36 week were recruited. Fasting venous blood was collected from all subjects. PBMC was separated from ficoll density-gradient centrifugation. Cells were suspended in culture medium RPMI 1640, 10% FBS and cultured in the absence and presence of PHA in 96-well plate (1* 10^6 cells/ml) at 37 °C and 5% CO2 for 48 h. Cell viability was assessed with MTT assay. Stimulation index was calculated and compared between groups.

Results: There was no significant difference for age, body mass index, and gestational week in the two groups. Stimulation index of PBMC in GDM and control groups were 134.37± 23.6 and 135.2 ±31.5, respectively. There was no significant difference for stimulation index of PBMC in GDM women compared to their matched control subjects.

Conclusion: These results show that there was no significant difference in peripheral blood mononuclear cell's viability in GDM women as compared to healthy pregnant women.

Keywords: Gestational diabetes mellitus, Cell viability, Peripheral blood mononuclear cell

Received: 19/04/2014
Last revised: 14/06/2014
Accepted: 17/06/2014