

## Comparison of Serum Anti-Peroxiredoxin 3 and Anti-Peroxiredoxin 4 Auto Antibodies in the Patients with a History of Recurrent Spontaneous Abortion and Healthy Women

### ARTICLE INFO

#### Article Type

Original research

#### Authors

Roumandeh N.<sup>1</sup> MSc,  
Saremi A.<sup>2</sup> MD,  
Pooladi A.<sup>2</sup> MD, PhD,  
Sanaye Naderi M.<sup>3</sup> BSc,  
Younesi B.<sup>3</sup> BSc,  
Arasteh J.<sup>4</sup> PhD,  
Zare A.\* PhD

#### How to cite this article

Roumandeh N, Saremi A, Pooladi A, Sanaye Naderi M, Younesi B, Arasteh J, Zare A. Comparison of Serum Anti-Peroxiredoxin 3 and Anti-Peroxiredoxin 4 Auto Antibodies in the Patients with a History of Recurrent Spontaneous Abortion and Healthy Women. Sarem Journal of Reproductive Medicine. 2018;2(4):159-163.

\*"Sarem Cell Research Center (SCRC), Sarem Women's Hospital" and "Asthma and Allergy Immunology Research Center, Tehran University of Medical Sciences", Tehran, Iran

<sup>1</sup>Sarem Cell Research Center (SCRC), Sarem Women's Hospital, Tehran, Iran

<sup>2</sup>"Sarem Fertility & Infertility Research Center (SAFIR)" and "Sarem Cell Research Center (SCRC)", Sarem Women's Hospital, Tehran, Iran

<sup>3</sup>Laboratory of Sarem Women's Hospital, Tehran, Iran

<sup>4</sup>Biology Department, Basic Sciences Faculty, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, 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  
zare-a@alumnus.tums.ac.ir

#### Article History

Received: April 13, 2017

Accepted: September 20, 2017

ePublished: November 15, 2018

### ABSTRACT

**Aims** Recurrent spontaneous abortion (RSA) is one of the most common problems experienced during pregnancy. Immunologic factors, particularly autoimmunity, are contributing to the outcomes of pregnancy in the patients with RSA. Autoimmune antibodies can have a detrimental effect on the placenta and on the fetus and lead to abortion. Therefore, the objective of this study was to compare the serum levels of anti-peroxiredoxin 3 (Anti-Prx3) and anti-peroxiredoxin 4 (anti-Prx4) antibodies in the patients with a history of RSA and healthy women.

**Materials & Methods** This case-control study was conducted on 100 females with a history of at least three RSA as the case group and 32 healthy women with at least two successful pregnancies without any abortion as the control group in Sarem women hospital (Tehran, Iran). The serum levels of anti-Prx3 and anti-Prx4 were measured in the groups using ELISA method. The data were analyzed by Mann-Whitney U test using SPSS software.

**Findings** The level of anti-Prx4 in patients with RSA was significantly higher than control group ( $p=0.004$ ). However, there was no statistically difference in the level of anti-Prx3 between patients with RSA and healthy women ( $p=0.51$ ).

**Conclusion** The serum level of anti-Prx3 autoantibody in the patients with RSA and healthy women is not different, while the serum level of anti-Prx4 autoantibody in the patients with a history of RSA is higher than that of healthy women.

**Keywords** Anti-Peroxiredoxin 3; Anti-Peroxiredoxin 4; Abortion, Habitual; Peroxiredoxins

### CITATION LINKS

[1] An update in recurrent spontaneous abortion [2] Recurrent miscarriage: Causes, evaluation and management [3] Recurrent miscarriage: Current concepts in diagnosis and treatment [4] Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy [5] An imbalance in interleukin-17-producing T and Foxp3+ regulatory T cells in women with idiopathic recurrent pregnancy loss [6] Natural killer cells and regulatory T cells in early pregnancy loss [7] Factors influencing success rate of leukocyte immunization and anti-paternal antibodies in spontaneous recurrent miscarriage [8] Optimal detection of serum antipaternal antileukocytic antibodies after injection of allogenic lymphocytes in women with habitual abortions [9] Comprehensive analysis of peripheral blood lymphocytes in 76 women with recurrent miscarriage before and after lymphocyte immunotherapy [10] Immunotherapy of patients with recurrent spontaneous miscarriage and idiopathic infertility: Does the immunization-dependent Th2 cytokine overbalance really matter? [11] Immune etiology of recurrent pregnancy loss and its diagnosis [12] Recurrent pregnancy loss: Etiology, diagnosis and therapy [13] Pregnancy and autoimmunity: A common problem [14] Reproductive immunology [15] The role of oxidative stress in spontaneous abortion and recurrent pregnancy loss: A systematic review [16] Analysis of the peroxiredoxin family: Using active-site structure and sequence information for global classification and residue analysis [17] Presence of autoantibody against two placental proteins, peroxiredoxin 3 and peroxiredoxin 4, in sera of recurrent pregnancy loss patients [18] Autoimmunity and recurrent pregnancy losses [19] Management of women with recurrent pregnancy losses and antiphospholipid antibody syndrome [20] Immune profiling in patients with recurrent miscarriage [21] Autoantibodies and prediction of reproductive failure [22] Autoantibodies to peroxiredoxin I and IV in patients with systemic autoimmune diseases

## میزان اتوانتی‌بادی‌های ضدپروتئین‌های جفتی در Proxiredoxin 4 و Proxiredoxin 3 سرم بیماران سقط مکرر

نرگس رومنده MSc

پژوهشکده سلولی-مولکولی و سلول‌های بنیادی صرم، بیمارستان فوق تخصصی صرم، تهران، ایران

ابوطالب صارمی MD

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

آرش پولادی MD, PhD

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

مریم صنایع نادری BSc

آزمایشگاه بیمارستان فوق تخصصی صرم، تهران، ایران

بهنام یونسی BSc

آزمایشگاه بیمارستان فوق تخصصی صرم، تهران، ایران

چواد آراسته PhD

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد تهران مرکز، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

احد زارع PhD

"پژوهشکده سلولی-مولکولی و سلول‌های بنیادی صرم، بیمارستان فوق تخصصی صرم" و "مرکز تحقیقات ایمونولوژی آسم و آلرژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران" تهران، ایران

### چکیده

**اهداف:** سقط مکرر خودبه‌خودی (RSA) به‌عنوان یکی از متداول‌ترین مشکلات بارداری مطرح است. عوامل ایمونولوژیک از جمله خودایمنی بر نتیجه بارداری این بیماران دخیل هستند. آنتی‌بادهای اتوایمنی می‌توانند بر روی جفت یا جنین اثر مخرب داشته باشند و منجر به سقط شوند. بنابراین، این مطالعه با هدف مقایسه میزان اتوانتی‌بادهای ضدپروتئین‌های جفتی پروکسی‌ردوکسین ۳ و پروکسی‌ردوکسین ۴ در سرم بیماران دارای سابقه سقط مکرر و زنان سالم انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه شاهد-موردی تعداد ۱۰۰ بیمار زن با سابقه حداقل ۳ سقط مکرر خودبه‌خودی، به‌عنوان گروه مورد و ۳۲ زن سالم بدون سابقه سقط و دارای حداقل دو فرزند زنده، به‌عنوان گروه کنترل در بیمارستان صرم شهر تهران بررسی شدند. سطوح سرمی آنتی‌بادهای آنتی‌پروکسی‌ردوکسین ۳ (Prx3) و آنتی‌پروکسی‌ردوکسین ۴ (Prx4) با طراحی کیت الیزا در دو گروه اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از آزمون آماری می‌ویتنی یو در نرم‌افزار SPSS تجزیه و تحلیل شد.

**یافته‌ها:** سطح بالاتری از آنتی‌بادهای آنتی‌پروکسی‌ردوکسین ۴ در زنان RSA در مقایسه با زنان سالم مشاهده شد ( $p=0.004$ )، در حالی که اختلاف سطح اتوانتی‌بادهای آنتی‌پروکسی‌ردوکسین ۳ در دو گروه از نظر آماری، معنی‌دار نبود ( $p=0.51$ ).

**نتیجه‌گیری:** سطح سرمی اتوانتی‌بادهای جفتی آنتی‌پروکسی‌ردوکسین ۳ در بیماران با سقط مکرر و زنان سالم تفاوتی ندارد، در حالی که سطح سرمی اتوانتی‌بادهای آنتی‌پروکسی‌ردوکسین ۴ در بیماران دارای سابقه سقط مکرر بالاتر از زنان سالم است.

**کلیدواژه‌ها:** آنتی‌پروکسی‌ردوکسین ۳، آنتی‌پروکسی‌ردوکسین ۴، سقط مکرر خودبه‌خودی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۱/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۶/۳۰

نویسنده مسئول: zare-a@alumnus.tums.ac.ir

### مقدمه

سقط مکرر خودبه‌خودی (RSA) از جمله مشکلاتی است که منجر به عدم حفظ جنین در مادر می‌شود و به‌صورت سه یا بیش از سه سقط پیش از هفته بیستم بارداری مشخص می‌شود [1]. براساس مطالعات اپیدمیولوژی، RSA به‌میزان ۵٪ در زوج‌های بارور رخ

می‌دهد [2]. عوامل متعددی نظیر نارسایی کروموزومی، عوامل عفونی، فاکتورهای محیطی، اختلالات ترومبوفیلیک، مشکلات آناتومیک رحم، مشکلات هورمونی و فاکتورهای ایمونولوژیک به‌عنوان عامل ایجاد این عارضه معرفی شده‌اند، اما در بیش از نیمی از موارد RSA، علت آن مشخص نیست [3]. در سقط‌هایی که علت آنها تشخیص داده شده است، به‌دنبال حل آن مشکل می‌توان شانس موفقیت بارداری را در بیماران افزایش داد. مطالعات اخیر در سقط‌های مکرر با علت نامشخص، مبین عدم تعادل در مکانیزم‌های تنظیمی و نشان‌دهنده تغییرات قابل توجه الگوی سلول‌های ایمنی در این بیماران در مقایسه با زنان سالم بوده است [4]. مطالعه‌ی و همکاران روی بیماران RSA، افزایش پاسخ پیش‌التهابی و سلول‌های T کمکی ۱۷ (Th17) و کاهش پاسخ‌های مهارتی سلول‌های T تنظیمی را نشان داده است [5]. افزون بر این، مطالعات متعددی بیانگر عدم انطباق الگوی سلولی و سیتوکینی سلول‌های کشنده طبیعی (NK)، سلول‌های T کمکی ۱ (Th1) و سلول‌های T کمکی ۲ (Th2) در بیماران RSA در مقایسه با زنان سالم دارای سابقه بارداری موفق است [6]. بنابراین، بسیاری از مراکز تحقیقاتی و درمانی با این توجیه که ممکن است یک آلوایمیونیتی باعث به‌هم‌زدن تعادل و تنظیم سیستم ایمنی بیماران RSA و در نتیجه موجب سقط در این افراد باشد، به درمان‌های ایمونولوژیک نظیر لئوسیت‌تراپی و یا تزریق درون‌وریدی ایمونوگلوبولین (IVIG) در این بیماران می‌پردازند تا با القای تولرانس ایمونولوژیک مانع دفع جنین شوند [7-10].

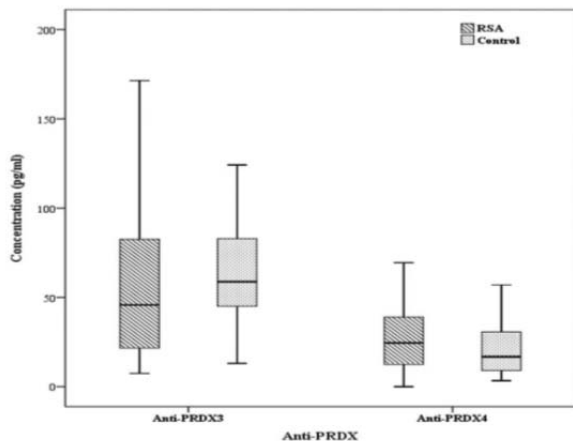
فاکتورهای ایمونولوژیک به‌ویژه فاکتورهای اتوایمیون، هنوز به‌عنوان عوامل کلیدی در ایجاد RSA به‌درستی بررسی نشده‌اند [11]. یافته‌ها نشان می‌دهد که ۲۰٪ موارد RSA به‌سبب وجود فاکتورهای اتوایمیون رخ می‌دهند [12]. در میان عوامل خودایمنی، آنتی‌بادهای آنتی‌فسفولیپید (aPL)، گروه اصلی اتوانتی‌بادهای موثر در سقط جنین به‌شمار می‌روند و آنتی‌بادهای ضدآنتی‌ژن‌های تیروئیدی، هسته‌ای و اندوتلیال نیز در زمره اتوانتی‌بادهای دخیل در RSA قرار می‌گیرند [13].

با توجه به شیوع روزافزون بیماری‌های خودایمنی، روش‌های متعددی نیز به‌منظور تشخیص این بیماری‌ها توسعه پیدا کرده است. بنابراین، جست‌وجو برای دستیابی به عوامل و فاکتورهای خودایمنی در موارد سقط‌هایی که علت مشخصی ندارند، توسط بسیاری از پژوهشگران مطالعه شده است. همچنین، مکانیزم‌های ایمونولوژیک از ابتدای بارداری تا هنگام زایمان و تولد، در حفظ و نگهداری جنین و همچنین در تولد نوزاد و دفع جفت پس از زایمان، دخالت بسیار زیادی دارند [14]. بنابراین، بیماران دچار سقط‌های مکرر باید از نظر وجود اتوانتی‌بادهای و آلوآنتی‌بادهای با دقت بیشتری بررسی شوند. به‌علاوه، در این بیماران ممکن است آنتی‌بادهای اتوایمیون و آلوایمیونی به‌وجود آمده باشد که در آزمایش‌های معمول غربالگری بیماری‌های اتوایمیون قرار ندارند و این بیماران از لحاظ وجود این آنتی‌بادهای اتوایمیون بررسی نمی‌شوند.

موفقیت روند بارداری وابسته به لانه‌گزینی و تشکیل جفت است و طی سه‌ماهه ابتدای بارداری، فشار اکسیژن در جفت افزایش می‌یابد تا اکسیژن موردنیاز جنین تامین شود، اما این افزایش فشار، منجر به افزایش تولید واسطه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌شود و جفت را در شرایط استرس اکسیداتیو قرار می‌دهد [15]. پروتئین‌های جفتی متعددی به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی، جفت را از اثرات مخرب استرس اکسیداتیو حفظ می‌کنند که پروکسی‌ردوکسین ۳ (Prx3) یا PRDX3) و پروکسی‌ردوکسین ۴ (Prx4 یا PRDX4) از آن جمله

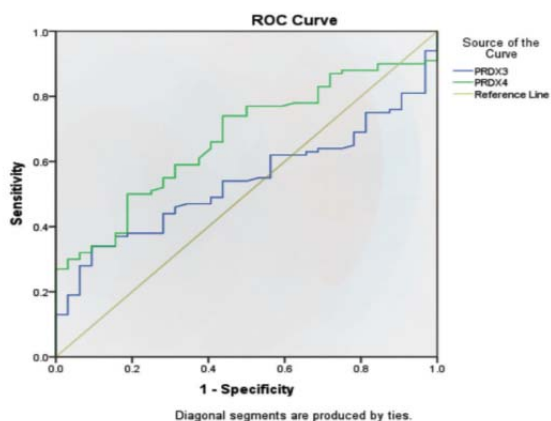
### یافته‌ها

میانگین سنی گروه‌های کنترل و مورد به ترتیب  $34/78 \pm 1/13$  و  $31/61 \pm 0/48$  سال بود. سطح اتوانتی‌بادی آنتی‌پروکسی‌ردوکسین ۳ در گروه مورد  $62/98$  ( $33/72-204/46$ ) pg/ml و در گروه کنترل  $59/25$  ( $45/02-97/77$ ) pg/ml بود، سطح اتوانتی‌بادی آنتی‌پروکسی‌ردوکسین ۳ در این دو گروه اختلاف معنی‌داری نشان نداد ( $p=0/51$ ؛ نمودار ۱). در مقابل، سطح اتوانتی‌بادی آنتی‌پروکسی‌ردوکسین ۴ در گروه مورد  $34/91$  ( $17/87-98/45$ ) pg/ml و در گروه کنترل  $8/32$  ( $17/9-33/52$ ) pg/ml بود که بین این دو گروه اختلاف معنی‌داری داشت ( $p=0/004$ ؛ نمودار ۱).



**نمودار ۱** سطوح سرمی اتوانتی‌بادی‌های آنتی‌پروکسی‌ردوکسین ۳ و آنتی‌پروکسی‌ردوکسین ۴ در زنان بیمار با سابقه سقط مکرر خودبه‌خودی (۱۰۰ نفر) و زنان سالم فاقد سابقه سقط جنین با تجربه حداقل ۲ زایمان موفق (۳۲ نفر) در بیمارستان صارم شهر تهران

سطح سرمی اتوانتی‌بادی آنتی‌پروکسی‌ردوکسین ۳ برابر با  $0/538$  به‌دست آمد که چندان تفاوت معنی‌داری نسبت به خط رفرنس (که معادل  $0/50$  است) نداشت. سطح سرمی اتوانتی‌بادی آنتی‌پروکسی‌ردوکسین ۴ برابر با  $0/67$  بود که دارای ارزش تفکیکی نسبی بود (نمودار ۲).



**نمودار ۲** آنالیز منحنی ROC برای بررسی خصوصیات و ارزش تست ارزیابی سطح اتوانتی‌بادی‌های آنتی‌پروکسی‌ردوکسین ۳ و آنتی‌پروکسی‌ردوکسین ۴ در سرم بیماران دارای سابقه سقط مکرر خودبه‌خودی؛ ۱۰۰ نفر (\* برای PRDX4؛  $AUC=0/67$ ،  $p=0/004$ ؛ برای PRDX3؛  $AUC=0/538$ ،  $p=0/515$ ؛ سطح زیر منحنی (AUC) حاصل برآیند حساسیت و ویژگی تست است)

هستند. این پروتئین‌ها توسط سلول‌های سیتوتروفوبلاست بیان می‌شوند و نقش مهمی در لانه‌گزینی و حفظ جفت در شرایط استرس اکسیداتیو ایفا می‌کنند[16].

در سال‌های اخیر، محققان با تمرکز بر جفت به‌عنوان یک عضو کلیدی در هدایت بارداری و نگهداری جنین، حضور اتوانتی‌بادی‌های ضد دو پروتئین جفتی پروکسی‌ردوکسین ۳ و پروکسی‌ردوکسین ۴ را مطالعه کرده‌اند و این دو آنتی‌بادی را به‌عنوان فاکتورهای اتوایمیون دخیل در RSA معرفی کرده‌اند؛ البته این بررسی‌ها به‌صورت کیفی بوده‌اند و کمیت و مقدار دقیق این دو آنتی‌بادی در بیماران RSA و زنان طبیعی تاکنون ارزیابی نشده است[17]. با توجه به اینکه این دو پروتئین نقش آنتی‌اکسیدانی بسیار مهمی دارند و می‌توانند از استرس‌های اکسیداتیو احتمالی که به جفت وارد می‌شود جلوگیری کنند، بنابراین اختلال در عملکرد آنها به‌واسطه آنتی‌بادی‌های اتوایمیون ممکن است به جنین آسیب جدی وارد کرده و موجب سقط آن شود.

در مطالعات پیشین این اتوانتی‌بادی‌ها در تعداد محدودی از بیماران بررسی شده است و فقط با روش کیفی وسترن بلات به وجود این آنتی‌بادی‌ها پی برده‌اند؛ بنابراین، این مطالعه با هدف مقایسه میزان اتوانتی‌بادی‌های ضدپروتئین‌های جفتی پروکسی‌ردوکسین ۳ و پروکسی‌ردوکسین ۴ در سرم بیماران با سقط مکرر و زنان سالم انجام شد.

### مواد و روش‌ها

این مطالعه شاهد-موردی، روی دو گروه از مراجعه‌کنندگان به بیمارستان فوق تخصصی صارم شهر تهران انجام شد. گروه مورد شامل ۱۰۰ بیمار زن با سابقه حداقل ۳ سقط مکرر خودبه‌خودی بود. وضعیت این بیماران از نظر کاریوتایپ، آنتی‌بادی آنتی‌فسفولیپید، آنتی‌کاردیولپین، ANA، آنتی‌بادی آنتی‌تیروئید، عفونت‌های میکروبی (TORCH، EBV، HIV، CMV)، ناهنجاری‌های آناتومیک، اختلالات هورمونی طبیعی بود. گروه کنترل شامل ۳۲ زن سالم بدون سابقه سقط و دارای حداقل دو فرزند زنده بود. پیش از نمونه‌گیری، رضایت بیماران اخذ شد و فرم رضایت آگاهانه مصوب کمیته اخلاق بیمارستان صارم، توسط هر یک از بیماران داوطلب تکمیل شد. سپس ۲ سی‌سی نمونه خون از شرکت‌کنندگان گرفته شد و نمونه سرم تا زمان جمع‌آوری کامل نمونه‌ها، در فریزر  $-20$  سانتی‌گراد نگهداری شد.

برای اندازه‌گیری کمی آنتی‌بادی‌های آنتی‌پروکسی‌ردوکسین ۳ و آنتی‌پروکسی‌ردوکسین ۴، با پوشش‌دارکردن پروتئین‌های نوترکیب پروکسی‌ردوکسین ۳ و پروکسی‌ردوکسین ۴ (شرکت Sigma-Aldrich؛ ایالات متحده آمریکا) در دو پلیت الیزای مجزا (MaxiSorp؛ شرکت Nunc؛ دانمارک)، کیت الیزای آنها طراحی شد و مقدار اتوانتی‌بادی‌های ضد این دو آنتی‌ژن جفتی ارزیابی شد. به‌عنوان استاندارد، از مقادیر مشخصی از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال تجاری ضد این دو پروتئین، (شرکت Sigma-Aldrich؛ ایالات متحده آمریکا) استفاده شد و از نظر کمی، مقدار این اتوانتی‌بادی‌ها تعیین شد. داده‌های به‌دست‌آمده توسط نرم‌افزار SPSS تجزیه و تحلیل شد. به‌منظور بررسی توزیع نرمال داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف استفاده شد و آزمون من‌ویتنی یو به‌منظور بررسی اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها به‌کار برده شد. نتایج به‌صورت میانه و دامنه میان‌چارگی گزارش شد.

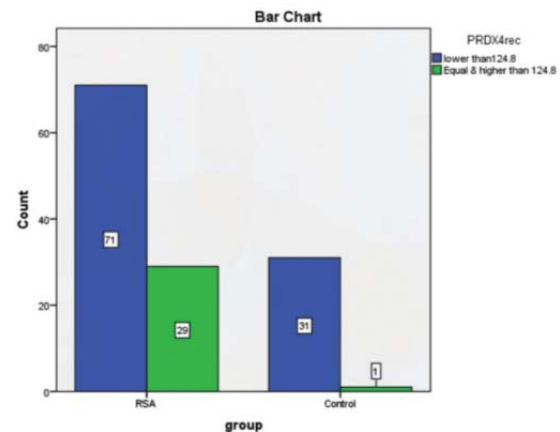
به خود اختصاص داده است. APS می‌تواند اولیه و یا ثانویه یعنی همراه با لوپوس باشد و با سقط مکرر جنین مرتبط است [18]. آنتی‌بادی‌های آنتی‌آنکسین ۷، آنتی‌پروترومبین، آنتی‌نوکلئار، آنتی‌لامینین و آنتی‌گلیادین و آنتی‌بادی‌های ضدترانس‌گلوتامیناز از دیگر آنتی‌بادی‌های اتوایمیون هستند که می‌توانند روی جفت یا جنین اثر مخرب داشته و منجر به سقط شوند [2, 18]. با توجه به اینکه برخی از آنتی‌بادی‌های مادری قادر به عبور از جفت هستند و می‌توانند جنین را تحت تاثیر قرار دهند، بنابراین ارزیابی حضور این آنتی‌بادی‌های اتوایمیون می‌تواند در تشخیص علت‌های ایمونولوژیک سقط بسیار حایز اهمیت باشد.

در سال ۲۰۱۲ برای نخستین بار یک اتوآنتی‌بادی جدید در بیماران دارای سقط مکرر شناسایی شد. در این مطالعه، غارثی‌فرد و همکاران، دو آنتی‌ژن جفتی به نام‌های پروکسی‌دوکسین ۳ و پروکسی‌دوکسین ۴ را معرفی کردند و با استفاده از روش‌های کیفی آزمایشگاهی نشان دادند که در جفت زنان دارای سابقه سقط مکرر برخلاف زنان سالم، علیه این دو پروتئین آنتی‌بادی وجود دارد [17]. در آن مطالعه این آنتی‌بادی‌ها شامل آنتی‌پروکسی‌دوکسین ۳ و آنتی‌پروکسی‌دوکسین ۴ در ۲۰ بیمار بررسی شد و نتایج نشان داد که در بیماران RSA، این دو پروتئین می‌توانند توسط سیستم ایمنی هدف گرفته شوند و علیه آنها پاسخ ایمنی و اتوآنتی‌بادی تولید شود. با توجه به نقش آنتی‌اکسیدانی این دو پروتئین در حفظ جفت در مقابل استرس اکسیداتیو، اختلال عملکرد آنها به واسطه اتوآنتی‌بادی ممکن است منجر به آسیب جنین شده و موجب سقط آن شود [17]. همچنین، برای اولین بار در سال ۲۰۰۵، حضور اتوآنتی‌بادی علیه PRx1 در بیماران خودایمن گزارش شده است [22]. در مورد نقش اتوآنتی‌بادی‌های ضدپروتئین‌های پروکسی‌دوکسین و ارتباط آنها با سقط جنین، مطالعه دیگری وجود ندارد. با توجه به اهمیت پروتئین‌های PRx3 و PRx4 در حفظ جفت و موفقیت بارداری، در این مطالعه، سرم بیماران سقط مکرر به منظور ردیابی اتوآنتی‌بادی ضد این دو پروتئین، ارزیابی شد و یافته‌ها نشان داد که سطح اتوآنتی‌بادی آنتی‌پروکسی‌دوکسین ۳ در زنان RSA در مقایسه با زنان سالم، تفاوت معنی‌داری ندارد، در حالی که سطح اتوآنتی‌بادی آنتی‌پروکسی‌دوکسین ۴ در زنان RSA به میزان قابل توجهی نسبت به گروه کنترل بالاتر است. بنابراین، آنتی‌بادی آنتی‌پروکسی‌دوکسین ۴ در زنان RSA تولید می‌شود که می‌تواند توجیهی برای ارتباط میان خودایمنی و RSA را مطرح کند و حضور این اتوآنتی‌بادی‌ها در سرم این بیماران، نظریه خودایمنی جدیدی را نشان می‌دهد.

نکته حایز اهمیت در این مطالعه این بود که در تحلیل منحنی ROC، سطح زیر منحنی برای PRx4 در حد قابل قبولی (نزدیک به ۰/۷) بود و نشان‌دهنده قابلیت نسبتاً مناسب و کاربردی بودن آزمایش است و مهم‌تر اینکه نسبت شانس به دست آمده در آن بالا و قابل توجه بود، که البته مستلزم بررسی بیشتر با حجم نمونه بالاتر است چرا که  $OR=12/66$  بود و در صورت تایید آن با حجم نمونه بالا، از لحاظ بالینی حایز اهمیت ویژه‌ای است. این نسبت شانس بیان می‌کند در صورتی که افراد دارای آزمایش PRx4 مثبت شوند، احتمال بروز سقط مکرر خودبه‌خودی در آنان در حدود ۱۲ برابر بیش از افراد دارای آزمایش منفی است.

یافته‌های این مطالعه اهمیت اتوآنتی‌بادی‌های ضدپروتئین‌های جنینی بخصوص PRx4 که فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارند را برجسته می‌کند. با تکمیل کردن مطالعه و سنجش آن در جمعیت بزرگتری از بیماران زنان سالم حتی می‌توان آن را به عنوان یک آزمایش تشخیصی خودایمنی در زنان دارای سابقه سقط مکرر مطرح کرد.

عدد حد مرزی ۱۲۴/۸ از تجزیه و تحلیل منحنی ROC سطح سرمی اتوآنتی‌بادی آنتی‌پروکسی‌دوکسین ۴ حاصل شد که بالاتر از آن مثبت و پایین‌تر از آن منفی در نظر گرفته شد. براساس عدد حد مرزی به دست آمده نسبت شانس یا OR محاسبه شده برای PRDX4 معادل ۱۲/۶۶ به دست آمد (نمودار ۳).



**نمودار ۳** فراوانی تست مثبت و منفی ارزیابی سطح اتوآنتی‌بادی آنتی‌پروکسی‌دوکسین ۴ در سرم بیماران دارای سابقه سقط مکرر خودبه‌خودی (۱۰۰ نفر) در مقایسه با گروه شاهد (۳۲ نفر) و ارزیابی نسبت شانس (OR) بر حسب دسته‌بندی نتیجه تست در نقطه حد مرزی (نقطه حد مرزی=۱۲۴/۸؛  $p=0/001$ ؛ نسبت شانس (OR)=۱۲/۶۶؛  $CI=97/15-116/5$ ؛  $p=0/0146$ )

### بحث

مطالعه حاضر به منظور تعیین مقدار دقیق اتوآنتی‌بادی‌های آنتی‌پروکسی‌دوکسین ۳ و آنتی‌پروکسی‌دوکسین ۴، در سرم بیماران RSA در مقایسه با زنان سالم انجام شد تا در صورت حصول نتایج معنی‌دار، آزمایش آن به عنوان یک آزمون تشخیصی معرفی شود. خودایمنی و بیماری‌های خودایمنی که امروزه با توجه به شرایط محیطی شیوع آنها رو به افزایش است، از جمله عواملی هستند که می‌توانند در سقط جنین و شکست بارداری تاثیرگذار باشند [18]. شناخته شده‌ترین اتوآنتی‌بادی‌های دخیل در مشکلات بارداری و سقط، آنتی‌بادی‌های آنتی‌فسفولیپید هستند [19]. در جنینی که در رحم مادر مستقر می‌شود مکانیزم‌های تنظیم ایمنی و تولرانس به آنتی‌ژن‌های پدیری جنین رخ می‌دهد و مانع از دفع آن توسط سیستم ایمنی مادر می‌شود. بنابراین سیستم ایمنی، مهمترین سیستم فیزیولوژیک است که طی بارداری منجر به حفظ جنین می‌شود، در صورت شکست تولرانس ایمونولوژیک مادر به جنین طی بارداری، به سقط منتهی خواهد شد [14]. سقط جنین از دو جنبه ایمونولوژیک می‌تواند بررسی شود؛ از یک سو، تغییرات سیستم ایمنی از لحاظ مکانیزم‌های تنظیمی و از سوی دیگر، وجود پاسخ‌های اتوایمیون و آلوایمیون که هر یک می‌تواند در نتیجه بارداری تاثیر مستقیم و یا غیرمستقیم داشته باشد [20]. یافته‌های پیشین حضور آنتی‌بادی‌های اتوایمیون متعددی را در سقط مکرر گزارش کرده‌اند [21]، اگرچه این پرسش همچنان باقی است که کدام آنتی‌بادی‌ها می‌توانند به وضوح شکست بارداری را پیش‌بینی کنند. آنتی‌بادی aPL که در سندروم آنتی‌فسفولیپید (APS) قابل سنجش است، به عنوان یک آنتی‌بادی اتوایمیون مرتبط با سقط مکرر مطرح است و طبق گزارش‌ها و مطالعات اخیر حدود ۱۰٪ از سقط‌های مکرر به دلیل APS اتفاق می‌افتد که درصد قابل توجهی را

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

8- Krechetova LV, Nikolaeva MA, Van'ko LV, Ziganshina MM, Golubeva EL, Stepanova EO, et al. Optimal detection of serum antipaternal antileukocytic antibodies after injection of allogenic lymphocytes in women with habitual abortions. *Bull Exp Biol Med.* 2012;153(5):726-9.

9- 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.

10- Wilczynski JR, Radwan P, Tchorzewski H, Banasik M. Immunotherapy of patients with recurrent spontaneous miscarriage and idiopathic infertility: Does the immunization-dependent Th2 cytokine overbalance really matter?. *Arch Immunol Ther Exp.* 2012;60(2):151-60.

11- Beaman KD, Ntrivalas E, Mallers TM, Jaiswal MK, Kwak Kim J, Gilman Sachs A. Immune etiology of recurrent pregnancy loss and its diagnosis. *Am J Reprod Immunol.* 2012;67(4):319-25.

12- Ford HB, Schust DJ. Recurrent pregnancy loss: Etiology, diagnosis and therapy. *Rev Obstet Gynecol.* 2009;2(2):76-83.

13- Perricone C, De Carolis C, Perricone R. Pregnancy and autoimmunity: A common problem. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2012;26(1):47-60.

14- Christiansen OB. Reproductive immunology. *Mol Immunol.* 2013;55(1):8-15.

15- Gupta S, Agarwal A, Banerjee J, Alvarez JG. The role of oxidative stress in spontaneous abortion and recurrent pregnancy loss: A systematic review. *Obstet Gynecol Surv.* 2007;62(5):335-47.

16- Nelson KJ, Knutson ST, Soito L, Klomsiri C, Poole LB, Fetrow JS. Analysis of the peroxiredoxin family: Using active-site structure and sequence information for global classification and residue analysis. *Proteins.* 2011;79(3):947-64.

17- Gharesi Fard B, Jafarzadeh L, Ghaderi shabankareh F, Zolghadri J, Kamali Sarvestani E. Presence of autoantibody against two placental proteins, peroxiredoxin 3 and peroxiredoxin 4, in sera of recurrent pregnancy loss patients. *Am J Reprod Immunol.* 2013;69(3):248-55.

18- Cervera R, Balasch J. Autoimmunity and recurrent pregnancy losses. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2010;39(3):148-52.

19- Kwak Kim J, Agcaoili MS, Aleta L, Liao A, Ota K, Dambaeva S, et al. Management of women with recurrent pregnancy losses and antiphospholipid antibody syndrome. *Am J Reprod Immunol.* 2013;69(6):596-607.

20- Kuon RJ, Strowitzki T, Sohn C, Daniel V, Toth B. Immune profiling in patients with recurrent miscarriage. *J Reprod Immunol.* 2015;108:136-41.

21- Shoenfeld Y, Carp HJ, Molina V, Blank M, Cervera R, Balasch J, et al. Autoantibodies and prediction of reproductive failure. *Am J Reprod Immunol.* 2006;56(5-6):337-44.

22- Karasawa R, Ozaki S, Nishioka K, Kato T. Autoantibodies to peroxiredoxin I and IV in patients with systemic autoimmune diseases. *Microbiol Immunol.* 2005;49(1):57-65.

همچنین، مطالعه بیشتر این اتوآنتی‌بادی‌ها و ارزیابی مقدار آن در طول دوره بارداری بیماران RSA، به‌عنوان یک مطالعه تکمیلی می‌تواند آن را به‌عنوان یک فاکتور ایمنولوژیک خطرناک برای جنین این بیماران مطرح کند و سنجش میزان آن را به‌عنوان یک آزمون تشخیصی به‌کار بگیرد.

### نتیجه‌گیری

سطح سرمی اتوآنتی‌بادی جفتی آنتی‌پروکسی‌ردوکسین ۳ در بیماران با سقط مکرر و زنان سالم تفاوتی ندارد، در حالی که سطح سرمی اتوآنتی‌بادی آنتی‌پروکسی‌ردوکسین ۴ در سرم بیماران دارای سابقه سقط مکرر بالاتر از زنان سالم است.

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

**تأییدیه اخلاقی:** رضایت بیماران برای شرکت در این مطالعه اخذ شد و فرم رضایت آگاهانه مصوب کمیته اخلاق بیمارستان صارم، توسط هر یک از بیماران داوطلب تکمیل شد. **تعارض منافع:** تعارض منافی وجود ندارد.

**منابع مالی:** مرکز تحقیقات سلولی-مولکولی و سلول‌های بنیادی و مرکز تحقیقات باروری و ناباروری صارم منابع مالی این پژوهش را تأمین نموده است.

**سهم نویسندگان:** نرگش رومنده (نویسنده اول)، نگارنده مقاله/ پژوهشگر اصلی/ نگارنده بحث (۲۰٪)؛ ابوطالب صارمی (نویسنده دوم)، نگارنده مقاله/ پژوهشگر اصلی/ نگارنده بحث (۲۰٪)؛ آرش پولادی (نویسنده سوم)، نگارنده مقاله/ روش‌شناس/ پژوهشگر کمکی/ تحلیل‌گر آماری (۱۰٪)؛ مریم صنایع‌نادری (نویسنده چهارم)، نگارنده مقاله/ پژوهشگر کمکی (۱۰٪)؛ بهنام یونسی (نویسنده پنجم)، نگارنده مقاله/ پژوهشگر کمکی (۱۰٪)؛ جواد آراسته (نویسنده ششم)، نگارنده مقاله/ پژوهشگر کمکی (۱۰٪)؛ احد زارع (نویسنده هفتم)، نگارنده مقاله/ پژوهشگر اصلی/ نگارنده بحث (۲۰٪)

### منابع

- 1- Pandey MK, Rani R, Agrawal S. An update in recurrent spontaneous abortion. *Arch Gynecol Obstet.* 2005;272(2):95-108.
- 2- Garrido Gimenez C, Alijotas Reig J. Recurrent miscarriage: Causes, evaluation and management. *Postgrad Med J.* 2015;91(1073):151-62.
- 3- 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.
- 4- 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.
- 5- 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 pregnancy loss. *Hum Reprod.* 2011;26(11):2964-71.
- 6- Sharma S. Natural killer cells and regulatory T cells in early pregnancy loss. *Int J Dev Biol.* 2014;58(2-4):219-29.
- 7- Chaichian S, Shoaee S, Saremi A, Pedar S, Firouzi F. Factors influencing success rate of leukocyte