

## *Serum HLA-G levels in Pregnant Women with Preeclampsia in Third Trimester*

Fatemeh Ghasemzadeh<sup>1</sup>,  
Zahra Rahmani<sup>2</sup>,  
Saeid Abediankenari<sup>3</sup>,  
Leila Sarparast<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>2</sup> Assistant Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>3</sup> Professor, Immunogenetic Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>4</sup> General Practitioner, Clinical Research Development Unit of Bu-Ali Sina Hospital, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received June 2, 2019; Accepted September 30, 2019)

### **Abstract**

**Background and purpose:** Preeclampsia is a pregnancy complication with multiorgan involvement caused by the loss of mother's immune tolerance to the placenta and fetus antigen or the wrong adjustment. HLA-G is an immune-modulatory molecule and this study aimed at investigating the levels of HLA-G and its association with incidence and severity of preeclampsia in pregnant women in third trimester.

**Materials and methods:** A case-control study was performed in pregnant women attending Sari Imam Khomeini Hospital and Baqban Clinic, 2015-2016. A total of 71 subjects (in third trimester) was selected meeting the study inclusion criteria. They were divided into two groups; a group with preeclampsia (n=34) and a group of pregnant women without preeclampsia (n= 37, controls). Pregnancy routine lab tests were done and demographic information, blood pressure levels, and incidence of preeclampsia were recorded in both groups. Then, blood sample (5 ml) was collected from all cases and HLA-G levels were measured in serum samples.

**Results:** The mean serum levels of HLA-G were significantly lower in women with preeclampsia ( $0.58\pm 0.18$  ng/L) compared to that of other group ( $0.78\pm 0.45$  ng/L) ( $P=0.02$ ). Also, the mean serum levels of HLA-G in those with mild preeclampsia was significantly higher than that of cases with severe preeclampsia ( $P=0.04$ ).

**Conclusion:** Decrease in production of HLA-G molecule is believed to be one of the decisive factors in development and progression of preeclampsia which could be due to abnormalities in gene expression. Therefore, HLA-G molecule and its mechanism should be further studied to prevent this condition.

**Keywords:** pregnancy, preeclampsia, HLA-G

**J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 29 (178): 24-33 (Persian).**

\* Corresponding Author: **Fatemeh Ghasemzadeh** - Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (E-mail: dr\_fa\_ghasemzadeh@yahoo.com)

## مقایسه سطح سرمی HLA-G در خانم های باردار مبتلا به پره اکلامپسی در 3 ماهه سوم بارداری

فاطمه قاسم زاده<sup>1</sup>زهرا رحمانی<sup>2</sup>سعید عابدیان کناری<sup>3</sup>لیلا سرپرست<sup>4</sup>

### چکیده

**سابقه و هدف:** پره اکلامپسی بیماری چند ارگانی است که عامل مهم مرگ مادر و جنین است. از بین رفتن تحمل سیستم ایمنی مادر نسبت به آنتی ژن های جنینی و جفتی، جهت بروز بیماری ذکر شده است. یکی از فاکتورهای ایمنی HLA-G است. مطالعه حاضر به ارتباط سطوح HLA-G با بروز و شدت پره اکلامپسی در افراد باردار در 3 ماهه سوم بارداری (تریمستر سوم) می پردازد.

**مواد و روش ها:** این مطالعه مورد شاهدهی در زنان باردار مراجعه کننده به بیمارستان امام خمینی و کلینیک فوق تخصصی باغبان شهر ساری در سال های 94-95 انجام شد. 71 باردار (تریمستر سوم) پس از کسب معیارهای ورود، به دو گروه زنان مبتلا به پره اکلامپسی (34 نفر) و گروه شاهد (سالم از نظر پره اکلامپسی) 37 نفر، تقسیم شدند. در هر دو گروه اطلاعات دموگرافیک و فشارخون، آزمایشات دوران بارداری و پره اکلامپسی ثبت شد. سپس 5 cc خون از هر بیمار جمع آوری و HLA-G اندازه گیری شد.

**یافته ها:** میانگین سطح سرمی HLA-G در گروه مبتلا ( $0/58 \pm 0/18$  ng/L) به شکل معنی داری از افراد سالم ( $0/78 \pm 0/45$  ng/L) کم تر بود ( $P=0/02$ ). همچنین میانگین HLA-G در افراد مبتلا به پره اکلامپسی خفیف به شکل معنی داری از افراد مبتلا به نوع شدید، بیش تر بود ( $P=0/04$ ).

**استنتاج:** با توجه به نتایج مطالعه ما و مطالعات مشابه، به نظر می رسد یکی از عوامل موثر در ایجاد و پیشرفت پره اکلامپسی، کاهش تولید HLA-G در بارداری است که این موضوع می تواند ناشی از اختلال در بیان ژن باشد. بنابراین بررسی HLA-G در جهت پیش گیری از پره اکلامپسی قابل توجه است.

**واژه های کلیدی:** بارداری، پره اکلامپسی، HLA-G

### مقدمه

اختلالات فشارخون در سیر 5-10 درصد کل حاملگی ها اتفاق می افتند و همراه با خونریزی و عفونت یکی از سه عضو تریاد کشنده را تشکیل می دهند (1). در میان انواع

اختلالات فشارخون در سیر 5-10 درصد کل حاملگی ها اتفاق می افتند و همراه با خونریزی و عفونت یکی از سه عضو تریاد کشنده را تشکیل می دهند (1). در میان انواع

Email: dr\_fa\_ghasemzadeh@yahoo.com

**مؤلف مسئول:** فاطمه قاسم زاده ساری، مرکز آموزشی درمانی امام خمینی (ره) ساری

1. گروه زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

2. استادیار، گروه زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

3. استاد، مرکز تحقیقات ایمونونوتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

4. پزشک عمومی، واحد توسعه تحقیقات بالینی بوعلی سینا، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: 1398/3/12 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1398/3/29 تاریخ تصویب: 1398/7/8

و جنین به حساب می آید (5-2). در طب بالینی معیارهای تشخیصی پره اکلامپسی به این شرح تعریف می شود: فشارخون بیش تر از 140/90 میلی متر جیوه پس از هفته 20 حاملگی در زنانی که تا قبل از آن دارای فشارخون طبیعی بوده اند، پروتئینوری بیش تر یا مساوی 300 میلی گرم در 24 ساعت یا نسبت پروتئین به کراتینین بیش تر یا مساوی 0/3 یا نتیجه 1+ پایدار در نمونه دیپ استیک (Dipstick) ادرااری، درگیری کبدی به صورت افزایش میزان سرمی ترانس آمینازها به میزان دو برابر حد طبیعی، علائم مغزی شامل (سر درد، اختلالات بینایی، حملات تشنجی) و ادم ریوی (5).

پره اکلامپسی حدود 2-7 درصد حاملگی ها را عارضه دار می کند. پره اکلامپسی باعث انقباض عروق و در نتیجه افزایش فشارخون و کاهش جریان خون شده و به دنبال آن بسیاری از اندامها نظیر کبد، کلیه ها و مغز را تحت تأثیر قرار می دهد. کاهش جریان خون رحم می تواند سبب مشکلاتی نظیر کاهش رشد جنین، کاهش مایع آمنیوتیک و دکولمان و نیاز به زایمان زودرس شود تغییرات عروق خونی ناشی از پره اکلامپسی ممکن است سبب نشت مایع از مویرگها شده و در نتیجه باعث تورم یا ادم و یا ورود پروتئین از جریان خون به ادرار شود (6). سالانه حدود 50000 زن در سراسر جهان به علت اختلالات فشار خون حاملگی می میرند و نزدیک به همین تعداد نیز در اثر عوارض پره اکلامپسی از جمله خونریزی مغزی، نارسایی کلیه و موارد دیگر جان خود را از دست می دهند، اما این در حالی است که شمار بیماران که دچار عوارض جدی ناشی از بیماری می شوند به مراتب بیش تر از میزان مرگ و میر آن است. هر چند که پره اکلامپسی یک موضوع بسیار بررسی شده در مامایی است اما به علت اتیولوژی مبهم خود، هنوز موضوع پیچیده ای می باشد. چندین مطالعه بیان می کند که پره اکلامپسی پاسخ التهابی مادر است که معمولا در تریمستر سوم تظاهر می یابد هر چند که پاتوژنز آن مربوط به تهاجم زود هنگام غیر طبیعی تروفوبلاست به

بافت عروقی مادر است (6,5). طی دوره حاملگی سیستم ایمنی نقش کلیدی در نگهداری از جنین بر عهده دارد. نقش سیستم ایمنی در ایجاد پره اکلامپسی در مقالات متعددی اشاره شده است و عملکرد لنفوسیت های T در بروز این بیماری و افزایش فشار خون و ایجاد التهاب ثابت شده است. یکی از فاکتورهای سیستم ایمنی HLA-G می باشد که این مولکول وظیفه بسیار جالبی در حاملگی دارد. HLA-G یک مولکول HLA کلاس 1b است که در کروموزوم شماره 6 در مکان 6p21.3 قرار دارد؛ برخلاف مولکول های HLA کلاسیک این مولکول درجات کمتری از پلی مورفیسم، توزیع و بیان بافتی را دارا می باشد (7,4). بروز این مولکول در بدن محدودیت داشته و در شرایط فیزیولوژیک در بافت های خاص از قبیل تیموس، قریه، ماتریکس ناخن، سیتوتروفوبلاست اکسترا ویلوس، پانکراس، اووسیت و امبریو و مونوسیت های فعال بیان می شود. HLA-G به عنوان یک مولکول دخیل در تحمل ایمنی در واکنش با سلول های ایمنی سبب بی پاسخی به جنین نیمه آلوژن می گردد. این مولکول با اتصال به گیرنده های سلول های کشنده طبیعی رحمی (Uterine natural killer cells) سبب مهار پاسخ این سلولها شده لذا منجر به حفظ جنین در دوران جنینی می گردد (8-10). تاکنون 50 آلل از مولکول های HLA-G کشف شده است که 16 پروتئین عملکردی مجزا را تولید می نماید. در اثر پیدایش متناوب رونوشت RNA اولیه HLA-G، 4 ایزوفرم متصل به غشا (G1-G2-G3-G4) و 3 ایزوفرم ترشحی (G5-G6-G7) ایجاد می شود (11). امروزه نقش های متعددی برای مولکول HLA-G کشف شده است که می تواند در موارد فیزیولوژیک و پاتولوژیک مختلفی از قبیل بارداری، پیوند، بیماری های عفونی و خودایمنی ایفای نقش نماید. این مولکول روی سلول های تروفوبلاستیک جفت تظاهر می یابد و با گیرنده های مهاری روی T-cell و NK-cell واکنش داده، در نتیجه مانع حمله سلول های کشنده طبیعی رحمی (NK-cells)

میلی گرم در ادرار 24 ساعته یا بیش تر مساوی 1+ در نمونه دیپ استیک در بیماران گروه مورد و رضایت برای شرکت در مطالعه بود. معیارهای خروج از مطالعه نیز شامل حاملگی چندقلویی، فشار خون مزمن، دیابت قبل از بارداری، بیماری‌های کبدی یا کلیوی و عدم رضایت برای شرکت در مطالعه بود. تعداد نمونه نیز براساس مطالعات گذشته (6) و فرمول آماری شامل 37 زن باردار با پره‌اکلامپسی و 37 زن سالم تعیین شد ( $\alpha=0/05$ ). با توجه به این که تظاهرات بالینی پره‌اکلامپسی در نیمه دوم بارداری به خصوص در تریمستر سوم مشاهده می‌گردد، این مطالعه بر روی زنان باردار در تریمستر سوم انجام شد. زنان باردار از هفته 28 بارداری (تریمستر سوم) پس از کسب معیارهای ورود به دو گروه تقسیم شدند. یک گروه شامل زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی بستری در بخش زنان بیمارستان امام خمینی بودند که در گروه مورد قرار گرفتند. گروه شاهد نیز از بین زنان سالم از نظر پره‌اکلامپسی، مراجعه‌کننده به درمانگاه پری ناتال کلینیک فوق تخصصی باغبان انتخاب شدند که تا پایان بارداری پیگیری شده و در صورتی که شواهدی دال بر پره‌اکلامپسی پیدا کردند، از مطالعه حذف شدند. تعریف پره‌اکلامپسی به صورت فشارخون سیستولی بیش تر یا مساوی 140 و دیاستولی بیش تر یا مساوی 90 میلی متر جیوه و پروتئین ادراری بیش از 300 میلی گرم در ادرار 24 ساعته یا بیش تر مساوی 1+ در نمونه دیپ استیک (سابقه بیماری کلیوی نداشته باشد) بود. در هر دو گروه پس از ارائه اطلاعات کافی به بیماران و اخذ رضایت‌نامه، اطلاعات آماری و دموگرافیک از قبیل سن مادر، سن بارداری، گراویدیتی، پاریتی، شاخص توده بدنی قبل از بارداری، اطلاعات مربوط به فشار خون سیستولیک و دیاستولیک مادر و آزمایشات دوران بارداری و آزمایشات مربوط به پره‌اکلامپسی در پرسشنامه توسط پژوهشگر (نویسنده مسئول) ثبت شد. گروه بیماران مبتلا به پره‌اکلامپسی از نظر شدت پره‌اکلامپسی هم بررسی شدند. شدت پره‌اکلامپسی براساس میزان فشار

به جنین می‌شود (12). اهمیت بیان این مولکول در طی بارداری و ایجاد تحمل بین مادر و جنین در مطالعات بسیاری به اثبات رسیده است (4). تهاجم تروفوبلاستیک نرمال همراه با بیان HLA-G روی تروفوبلاست‌هاست. این مولکول در سطوح بالا روی تروفوبلاست‌های اکسترا و یلوس بیان می‌شود ولی در بیماری پره‌اکلامپسی که اختلال در تشکیل جفت رخ می‌دهد، بیان جفتی HLA-G کاهش می‌یابد (13). HLA-G در روند بارداری در لانه‌گرینی، تکامل و تمایز تروفوبلاست و اتصال آن به آندومتر و آنژیوژنز در جهت تامین اکسیژن کافی برای جنین نقش عمده‌ای ایفا می‌کند (3). با توجه به اینکه در ایران تا به حال مطالعات به بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم ژن HLA-G14bp و غلظت سرمی HLA-G در بیماران پره‌اکلامپتیک خفیف و سالم پرداخته است (14) و از آنجایی که هیچ مطالعه‌ای روی شدت پره‌اکلامپسی و سطح سرمی HLA-G انجام نشده است، لذا در این مطالعه به بررسی مقایسه‌ای سطوح HLA-G با بروز و شدت بیماری پره‌اکلامپسی در خانم‌های باردار پرداختیم تا بتوانیم فاکتوری پیشگویی‌کننده برای تشخیص بیماری در 3 ماهه سوم بارداری (تریمستر سوم) بیان نماییم.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه مورد شواهدی بر روی زنان باردار مراجعه‌کننده به بیمارستان امام خمینی و کلینیک فوق تخصصی باغبان (طوبی) در شهر ساری در طی سال‌های 94-95 که به تصویب کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مازندران رسیده بود (IR.MAZUMS.REC.94-2001) انجام شد. معیارهای ورود به مطالعه شامل سن بین 18-36 سال، حاملگی تک‌قلویی، سن بارداری بیش تر از 28 هفته (تریمستر سوم) تا زمان ترم، فشار خون سیستولی بیش تر یا مساوی 140 و دیاستولی بیش تر یا مساوی 90 میلی‌متر جیوه در بیماران گروه مورد، پروتئین ادراری بیش از 300

همچنین از آزمون مجذور کای استفاده گردید و سطح معنی داری  $\alpha=0/05$  در نظر گرفته شد.

## یافته ها

در نهایت 71 نفر وارد مطالعه شدند که 34 نفر در گروه بیماران مبتلا به پره اکلامپسی و 37 نفر در گروه کنترل قرار گرفتند. جدول شماره 1 اطلاعات اولیه و دموگرافیک دو گروه را نشان می دهد که بین دو گروه از نظر سن و سن بارداری تفاوتی وجود نداشت، با این حال میزان BMI در گروه بیماران مبتلا به پره اکلامپسی نسبت به گروه کنترل بیش تر بود (جدول شماره 1).

جدول شماره 1: اطلاعات دموگرافیک دو گروه شرکت کننده در مطالعه

متغیر	گروه	انحراف معیار $\pm$ میانگین	سطح معنی داری *
BMI	پره اکلامپسی	32/0716 $\pm$ 4/00424	0/002
	کنترل	29/1310 $\pm$ 3/68443	
سن	پره اکلامپسی	29/353 $\pm$ 5/0023	0/416
	کنترل	28/189 $\pm$ 6/9035	
سن بارداری	پره اکلامپسی	36/912 $\pm$ 2/5980	0/320
	کنترل	37/541 $\pm$ 1/6765	

\*:  $P < 0/05$  معنی دار می باشد.

BMI: Body Mass Index

جدول شماره 2 فراوانی علائم بالینی در دو گروه را نشان می دهد که در آنالیز آماری با استفاده از آزمون کای دو مشخص شد که در همه موارد علائم بالینی در گروه پره اکلامپسی بیش از گروه افراد سالم بود. بیش ترین علائم بالینی مشاهده شده در بیماران به ترتیب شامل سردرد (79/4 درصد)، تهوع (73/5 درصد) و ادم اندام تحتانی (70/6 درصد) بود.

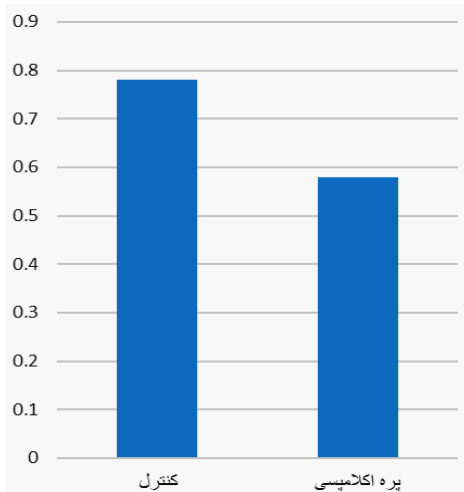
جدول شماره 2: فراوانی علائم بالینی در دو گروه شرکت کننده در مطالعه

متغیر	پره اکلامپسی تعداد (درصد)	کنترل تعداد (درصد)	سطح معنی داری *
دوبینی	22 (64/7)	0	$P < 0/001$
سردرد	27 (79/4)	1 (2/7)	$P < 0/001$
تاری دید	17 (50)	0	$P < 0/001$
تهوع	25 (73/5)	1 (2/7)	$P < 0/001$
استفراغ	15 (44/1)	1 (2/7)	$P < 0/001$
درد اپی گاستر	22 (64/7)	1 (2/7)	$P < 0/001$
ادم اندام تحتانی	24 (70/6)	0	$P < 0/001$

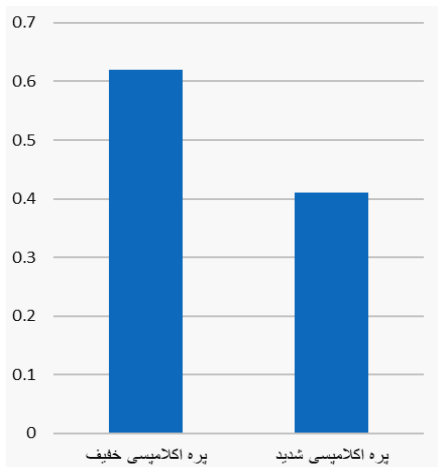
\*:  $P < 0/05$  معنی دار می باشد.

خون، علائم بالینی و نتایج آزمایشگاهی به صورت شدید و غیر شدید تقسیم بندی شد، که پره اکلامپسی غیر شدید به صورت فشار خون سیستولی بیش تر یا مساوی 140 و دیاستولی بیش تر یا مساوی 90 میلی متر جیوه به همراه پروتئین ادراری بیش از 300 میلی گرم در ادرار 24 ساعته یا بیش تر مساوی 1+ در نمونه دیپ استیک تعریف شد. پره اکلامپسی شدید نیز شامل فشار خون سیستولی بیش تر یا مساوی 160 و دیاستولی بیش تر یا مساوی 110 میلی متر جیوه به همراه پروتئین ادراری بیش از 300 میلی گرم در ادرار 24 ساعته یا بیش تر مساوی 2+ در نمونه دیپ استیک، سردرد، اختلالات بینایی، درد اپی گاستر، کراتینین بالای سرم (بیش تر مساوی 0/9 میلی گرم در دسی لیتر)، پلاکت کم تر از 100000 و بالا بودن ترانس آمینازهای سرم تعریف شد (1). سپس 5 سی سی نمونه خون در گروه مورد، در زمان تشخیص پره اکلامپسی (قبل از زایمان) و همچنین نمونه خون گروه کنترل در یک سرنگ آغشته به EDTA جمع آوری شده و نمونه سرم پس از سانتریفیوژ جدا گردید. نمونه خون، در 80- درجه سانتی گراد تا زمان انجام آزمایشات نگهداری شد. در نهایت نمونه های سرم از نظر مقدار HLA-G به روش الیزا با استفاده از کیت استاندارد ساخت کشور آلمان (East Biopharm) و دستگاه الیزا ریدر awerdest ساخت کشور آمریکا (Cat.No:CK-E11455) اندازه گیری شد. برای تجزیه و تحلیل اطلاعات ابتدا داده ها از چک لیست استاندارد که به تأیید اساتید رسیده بود، استخراج شده و وارد نرم افزار Excel شد و بعد از آن به وسیله نرم افزار Spss22 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. داده ها با استفاده از میانگین  $\pm$  انحراف معیار برای داده های کمی و جداول فراوانی برای متغیرهای کیفی بیان شدند. برای تجزیه و تحلیل داده ها ابتدا آزمون K-S به عمل آمد و با توجه به نتیجه آن از آزمون تی مستقل و یا آزمون مدل های خطی تعمیم یافته (GLM) استفاده شد.

نشان داد ( $P=0/04$ ) به گونه ای که سطح سرمی HLA-G در گروه افراد مبتلا به پره اکلامپسی شدید کم تر از افراد مبتلا به پره اکلامپسی خفیف بود (نمودار شماره 2).



نمودار شماره 1: مقایسه سطح سرمی HLA-G در گروه پره اکلامپسی و افراد سالم



نمودار شماره 2: مقایسه سطح سرمی HLA-G در گروه پره اکلامپسی خفیف و شدید

## بحث

از آنجایی که پره اکلامپسی بیش تر در حاملگی اول ایجاد می شود، شاید در پاسخ ایمنولوژیک با یک آنتی ژن جفتی بیماری ایجاد می شود. از بین رفتن تحمل

جدول شماره 3 نیز فشار خون سیستولی و دیاستولی و یافته های آزمایشگاهی در دو گروه را نشان می دهد که در همه موارد در گروه پره اکلامپسی بیش از گروه افراد سالم بود. بر اساس نتایج آزمون تی مستقل میانگین فشارخون سیستولیک در گروه پره اکلامپسی  $144/7 \pm 8/6$  میلی متر جیوه و در گروه شاهد  $111/7 \pm 5/8$  میلی متر جیوه بود که از نظر آماری معنی دار بود ( $P < 0/05$ ).

جدول شماره 3: فشار خون سیستولی و دیاستولی و یافته های آزمایشگاهی دو گروه شرکت کننده در مطالعه

متغیر	گروه	انحراف معیار $\pm$ میانگین	سطح معنی داری*
SBP	پره اکلامپسی	$144/706 \pm 8/6112$	0/002
	کنترل	$111/757 \pm 5/7995$	
DBP	پره اکلامپسی	$92/941 \pm 9/0552$	0/416
	کنترل	$69/189 \pm 5/9528$	
برونین ادرار 24 ساعه	پره اکلامپسی	$302/559 \pm 401/0318$	0/020
	کنترل	$35/14 \pm 21/3719$	
Cr	پره اکلامپسی	$0/785 \pm 0/1234$	0/038
	کنترل	$0/730 \pm 0/0939$	
Platelet	پره اکلامپسی	$156/088 \pm 56/7719$	<0/001
	کنترل	$236/297 \pm 39/4510$	
ALT	پره اکلامپسی	$37/882 \pm 41/9204$	0/009
	کنترل	$19/324 \pm 3/3669$	
AST	پره اکلامپسی	$34/588 \pm 39/8430$	0/01
	کنترل	$17/892 \pm 2/3068$	

\*  $P < 0/05$  معنی دار می باشد.

SBP: systolic blood pressure  
DBP: diastolic blood pressure

سطح سرمی HLA-G در گروه پره اکلامپسی میانگین و انحراف معیاری برابر ( $0/58 \pm 0/18$  ng/L) داشت که این میزان در افراد سالم برابر با ( $0/78 \pm 0/45$  ng/L) بود. نتیجه آزمون GLM تفاوت معنی داری را در سطح سرمی HLA-G در دو گروه پره اکلامپسی و شاهد نشان داد ( $P=0/02$ )، به گونه ای که سطح سرمی HLA-G در گروه افراد مبتلا به پره اکلامپسی کم تر از افراد سالم بود (نمودار شماره 1). در تقسیم بندی شدت پره اکلامپسی به دو گروه خفیف و شدید و مقایسه سطح HLA-G در آنها دریافتیم که در افراد مبتلا به پره اکلامپسی خفیف، میانگین HLA-G برابر با ( $0/62 \pm 0/15$  ng/l) و در افراد مبتلا به پره اکلامپسی شدید ( $0/41 \pm 0/22$  ng/l) بود که سطح سرمی HLA-G در دو گروه تفاوت معنی داری را

مطالعه حاضر و این مطالعات می توان گرفت این است که یکی از موارد موثر در بروز پره کلامپسی، کاهش میزان HLA-G متعاقب تغییرات محیطی یا ژنتیکی می باشد. هر چند در مطالعه ما تنها سطح سرمی HLA-G اندازه گیری شد و خون بند ناف و مایع آمنیوتیک مورد بررسی قرار نگرفت، اما از همین نظر هم نتایج همه این مطالعات مشابه مطالعه ما بود. البته برتری مطالعه ما نسبت به این مطالعات این بود که مطالعه ما حجم نمونه بیشتری را شامل می شد، بنابراین نتایج مطالعه حاضر قابلیت بالاتری برای تعمیم به کل جامعه داشته و نتایج آن با ارزش تر است. هم چنین در پژوهش Hsu و همکاران در سال 2014 در استرالیا نیز سطح سرمی HLA-G به شکل معنی داری در زنان مبتلا به پره کلامپسی کم تر از زنان باردار و غیر باردار سالم بود. این مطالعه بیان داشت که ممکن است HLA-G نقش مهمی در القای تحمل ایمنی در پیشگیری از بروز پره کلامپسی در دوران بارداری ایفا کند. بنابراین کاهش بیان جفتی HLA-G و کاهش انتشار این پروتئین در گردش خون مادر در پره کلامپسی، ممکن است رابطه ایمنی بین بدن مادر و جنین را تغییر داده و در ایجاد این اختلال نقش داشته باشد (20).

مطالعه Yie و همکاران نیز نشان داده بود که غلظت HLA-G در سرم و جفت زنان مبتلا به پره کلامپسی در مقایسه با زنان سالم باردار به طور قابل توجهی کاهش یافته بود و نیز نتیجه گرفت که کاهش سطح HLA-G با پره کلامپسی شدید در سه ماهه سوم بارداری همراه است (11).

مطالعه ما و مطالعات مشابه هم چنین نشان دادند علاوه بر این که کاهش سطح سرمی HLA-G سبب بروز پره کلامپسی می شود، شدت ایجاد پره کلامپسی هم به میزان این کاهش وابسته است، به گونه ای در افرادی که پره کلامپسی شدید داشتند، غلظت HLA-G نسبت به گروه های دیگر به مراتب کم تر بود. این موضوع از چند جهت حائز اهمیت است، نخست از این

سیستم ایمنی مادر نسبت به آنتی ژن های جنینی و جفتی که منشا پدیری دارند و یا شاید تنظیم نادرست آن، نظریه ای است که جهت بروز پره کلامپسی ذکر شده است. در طی بارداری مولکول های HLA کلاس یک بیان متناوبی داشته و سلول های تروفوبلاست جنین در شرایطی فاقد این مولکول ها می باشند. در صورت بیان کامل مولکول های HLA کلاس یک، سیستم ایمنی مادر نمی تواند به واسطه لئوسیت های T سایتو توکسیک منجر به دفع جنین گردد (15). HLA-G از طریق ارتباط متقابل با حداقل سه گیرنده مهاری بر سطح سلول های NK، T و عرضه کننده آنتی ژن (APC3)، عملکرد مهاری خود را اعمال می کند (16).

Wohl و همکاران شواهدی را در مورد بروز غیر طبیعی HLA-G در تروفوبلاست های خارج پرزی مربوط به زنان مبتلا به پره کلامپسی ارائه کرده اند (17). پس از بررسی های آماری، نتایج مطالعه ما نشان داد که سطح سرمی HLA-G در گروه بیماران مبتلا به پره کلامپسی به شکل معنی داری کم تر از افراد سالم است. هم چنین در تقسیم بندی شدت پره کلامپسی به دو گروه خفیف و شدید نیز، سطح سرمی HLA-G در گروه افراد مبتلا به پره کلامپسی شدید، کم تر از افراد مبتلا به پره کلامپسی خفیف بود.

در مطالعه ای که Zhao و همکاران در سال 2012 انجام داده بودند نیز، سطح HLA-G در سرم مادر، در خون بند ناف و در مایع آمنیوتیک، در گروه زنان سالم به شکل معنی داری بیش تر از گروه زنان مبتلا به پره کلامپسی بود. هم چنین این مقادیر در زنان مبتلا به پره کلامپسی شدید نسبت به زنان مبتلا به پره کلامپسی خفیف کم تر بودند (18).

در مطالعه Hackmon و همکاران (13) و هم چنین مطالعه Djuricic و همکاران (19) در سال 2014 نیز بیان شد که سطح HLA-G چه در سرم مادر، چه در خون بند ناف و مایع آمنیوتیک در زنان مبتلا به پره کلامپسی کم تر از زنان سالم می باشد، به همین دلیل نتیجه ای که از

مشخص نشدن این موضوع باشد که آیا تغییرات HLA-G ممکن است بر ایجاد علائم بالینی موثر باشد یا خیر.

رخ افروز و همکاران در مطالعه‌ای در سال 2018 ارتباط بین پلی مورفیسم ژن HLA-G 14bp و غلظت سرمی HLA-G در بیماران پره اکلامپتیک و سالم را بررسی کردند و نتیجه گرفتند که پلی مورفیسم مادری HLAG 14bp اثری بر تکامل پره اکلامپسی نداشت اما سطح سرمی HLA-G در بیماران پره اکلامپتیک در تریمستر سوم نسبت به بیماران سالم کم تر بود. مطالعه آن‌ها فقط بر روی بیماران پره اکلامپسی خفیف انجام شد در حالی که در مطالعه ما هر دو گروه پره اکلامپسی خفیف و شدید مورد بررسی قرار گرفتند و مقایسه سطح سرمی HLA-G بین هر دو گروه انجام شد. در مطالعه آن‌ها نیز مانند مطالعه ما، پیشنهاد شد اندازه گیری HLA-G می‌تواند به عنوان یک مارکر موثر در پیش‌گویی زود هنگام پره اکلامپسی باشد (14).

در مطالعه ما همچنین میزان کرانینین و آنزیم‌های کبدی (ALT و AST) در بیماران مبتلا به پره اکلامپسی نسبت به گروه افراد سالم بیش تر و میانگین پلاکت کم تر بود. در افراد سالم، تولید پروتئین HLA-G محدود به تروفوبلاست، تیموس، قریه، ماتریکس ناخن، پانکراس و پیش سازهای اریترئید و اندوتلیال می‌باشد. پروتئین HLA-G هم چنین در شرایط بدخیمی، عفونت‌های ویروسی، بیماری‌های خود ایمنی و التهابی و پس از پیوند عضو نیز مشاهده می‌شود (13). بنابراین با این که تغییرات کبدی و پلاکت‌ها در طی پره اکلامپسی اجتناب ناپذیر است، اما تاثیر تغییرات HLA-G در دوران بارداری بر کبد و پلاکت‌ها نیز تا کنون مورد توجه قرار نگرفته و به نظر نمی‌رسد تاثیر مستقیمی داشته باشد. با این حال مطالعات بیش تر در این زمینه پیشنهاد می‌گردد.

نتایج جستجوهای انجام شده در پایگاه‌های علمی نشان دهنده این موضوع بود که مطالعه مقایسه‌ای سطح HLA-G بر روی شدت پره اکلامپسی برای اولین بار در

نظر که اثبات کننده رابطه بین غلظت HLA-G و شدت پره اکلامپسی می‌باشد، یعنی این که ما در بیمارانی که پره اکلامپسی شدید دارند، می‌توانیم انتظار پایین بودن سطح HLA-G را داشته باشیم. دوم این که این موضوع می‌تواند تا حدودی ارزش پیش‌گویی کننده غلظت HLA-G را در مورد بروز و یا حتی شدت پره اکلامپسی بیان کرده و در این زمینه کمک کننده باشد، به گونه‌ای که می‌توان در افراد مشکوک یا پرخطر، با اندازه گیری سطح سرمی HLA-G، بروز و یا شدت احتمالی پره اکلامپسی را در آن‌ها پیش‌بینی کرده و از رخداد اتفاقات بعدی پیش‌گیری کرد. البته در مطالعه ما هیچ نقطه برشی (cut of point) در مورد سطح سرمی HLA-G تعیین نشد، با این حال می‌توان در مطالعات آینده، با تعیین نقطه برش و پیگیری بیماران، ارزش پیش‌گویی کنندگی HLA-G را سنجید. زیرا با اینکه پره اکلامپسی در نیمه دوم بارداری تعریف می‌شود، اما برخی مطالعات نشان داده‌اند که سطح سرمی HLA-G حتی در نیمه اول بارداری، ارزش پیش‌گویی کننده دارد. به گونه‌ای که در مطالعه‌ای که توسط Yie و همکاران در سال 2005 در تورنتوی کانادا انجام شد، سطح سرمی HLA-G در سه ماهه اول و دوم بارداری اندازه‌گیری شد که براساس نتایج به دست آمده سطح سرمی HLA-G در سه ماهه اول و دوم بارداری در زنان مبتلا به پره اکلامپسی به شکل معنی‌داری کم تر از زنان سالم بود. این مطالعه نشان داد که تعیین غلظت HLA-G ممکن است به عنوان یک پیش‌بینی کننده اولیه برای بروز پره اکلامپسی در زنان باردار مفید باشد (21).

در مطالعه حاضر هم چنین بیش‌ترین علائم بالینی مشاهده شده در بیماران به ترتیب شامل سردرد، تهوع، ادم اندام تحتانی و درد اپیگاستر بود که در همه موارد علائم بالینی در گروه پره اکلامپسی بیش از گروه افراد سالم بود. به هر حال بروز این علائم بالینی متعاقب افزایش فشار خون و تغییرات آزمایشگاهی در بیماران قابل توجه است، در نتیجه محدودیت مطالعه ما می‌تواند

HLA-G را در مورد بروز و یا حتی شدت پره اکلامپسی بیان کند. با توجه به اهمیت بیماری پره اکلامپسی، بررسی این مولکول و مکانیسم بیان و اثر آن در جهت پیش‌بینی و هم‌چنین پیش‌گیری از پره اکلامپسی و حتی درمان آن قابل توجه می‌باشد. تعیین نقطه برش جهت بررسی دقیق ارزش پیش‌گویی‌کنندگی سطح HLA-G در ایجاد پره اکلامپسی و هم‌چنین بررسی علل کاهش HLA-G و راه کارهای مناسب در جهت افزایش آن در بیماران مبتلا به پره اکلامپسی توصیه می‌شود.

### سپاسگزاری

از مسئولین محترم دانشکده پزشکی ساری و هم‌چنین گروه زنان و زایمان و گروه ایمونولوژی به جهت همکاری شایسته و قابل توجه با این طرح و نیز از واحد توسعه و تحقیقات بالینی بوعلی در جهت مشاوره، گردآوری و نگارش مقاله، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید. این طرح با تائید کمیته اخلاق دانشکده پزشکی، با کد اخلاق IR.MAZUMS.REC.94-2001 تصویب شده است.

### References

- Cunningham FG, Leveno KJ, Bloom SL, Spong CY, Dashe JS, Hoffman LB, et al. Williams Obstetrics, 25<sup>th</sup> ed. New York: McGraw-Hill Education. Medical; 2018.
- Walker JJ. Pre-eclampsia. Lancet 2000; 356(9237): 1260-1265.
- Hackmon R, Koifman A, Hyobo H, Glickman H, Sheiner E, Geraghty DE. Reduced third-trimester levels of soluble human leukocyte antigen G protein in severe preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 2007; 197(3): 255. e1-e5.
- Shobeiri SS, Abediankenari S, Lashtoo-Aghaee B, Rahmani Z, Esmaeili-Gorji B. Valuation of soluble human leukocyte antigen-G in peripheral blood of pregnant women with gestational diabetes mellitus. Caspian J Intern Med 2016; 7(3): 178-182 (Persian).
- Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. Lancet (London, England) 2005; 365(9461): 785-99.
- Walker JJ. Pre-eclampsia. The Lancet. 2000; 356(9237): 1260-1265.
- Abediankenari S, Eslami MB, Sarrafnejad A, Mohseni M, Larijani B. Dendritic cells bearing HLA-G inhibit T-Cell activation in type 1 diabetes. Iran J Allergy Asthma Immunol 2007; 6(1): 1-7 (Persian).
- McMaster MT, Librach CL, Zhou Y, Lim KH, Janatpour MJ, DeMars R, et al. Human placental HLA-G expression is restricted to differentiated cytotrophoblasts. J Immunol 1995; 154(8): 3771-3378.
- Juriscova A, Casper RF, MacLusky NJ, Mills GB, Librach CL. HLA-G expression

کشور ایران اتفاق می‌افتد و با توجه به این نکته که در ایران تقریباً 15-10 درصد همه بارداری‌ها به دلیل افزایش فشارخون دچار عارضه شده و در 7 درصد موارد نیز پره اکلامپسی اتفاق می‌افتد (22)، اهمیت انجام این مطالعه در جهت بررسی یکی از علل مطرح شده در زمینه ایجاد پره اکلامپسی، قابل توجه می‌باشد امید است نتایج این مطالعه گامی موثر در جهت کمک به مطالعات آینده برای شناخت و کنترل بهتر پره اکلامپسی و عوارض آن برداشته باشد.

در نهایت با توجه به نتایج مطالعه ما و هم‌چنین مطالعات مشابه، به نظر می‌رسد که یکی از عوامل موثر قطعی در ایجاد و پیشرفت پره اکلامپسی، کاهش تولید مولکول HLA-G در طی دوران بارداری می‌باشد که این موضوع می‌تواند ناشی از اختلال در بیان ژن آن باشد هم‌چنین شدت ایجاد پره اکلامپسی نیز به میزان این کاهش وابسته است و در افرادی که پره اکلامپسی شدید دارند، غلظت HLA-G کم‌تر است. لذا این مسئله می‌تواند تا حدودی ارزش پیش‌گویی‌کنندگی غلظت

- during preimplantation human embryo development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93(1): 161-165.
10. Shobeiri SS, Rahmani Z, Hossein Nataj H, Ranjbaran H, Mohammadi M, Abediankenari S. Uterine Natural Killer Cell and Human Leukocyte Antigen-G1 and Human Leukocyte Antigen-G5 Expression in Vaginal Discharge of Threatened-Abortion Women: A Case-Control Study. *J Immunol Res* 2015; 2015: 692198.
  11. Yie SM, Li LH, Li YM, Librach C. HLA-G protein concentrations in maternal serum and placental tissue are decreased in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191(2): 525-529.
  12. Moreau P, Adrian-Cabestre F, Menier C, Guiard V, Gourand L, Dausset J, et al. IL-10 selectively induces HLA-G expression in human trophoblasts and monocytes. *Int Immunol* 1999; 11(5): 803-811.
  13. Hackmon R, Koifman A, Hyodo H, Glickman H, Sheiner E, Geraghty DE. Reduced third-trimester levels of soluble human leukocyte antigen G protein in severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 197(3): 255.e1-5.
  14. Rokhafrooz S, Ghadiri A, Ghandil P, Ghafourian M, Hossaini SH, Daraei N, et al. Association between HLA-G 14bp Gene Polymorphism and Serum sHLA-G Protein Concentrations in Preeclamptic Patients and Normal Pregnant Women. *Immunol Invest* 2018; 47(6): 558-568.
  15. Hviid TVF. HLA-G in human reproduction: aspects of genetics, function and pregnancy complications. *Hum Reprod Update* 2006; 12(3): 209-232.
  16. Carosella ED, LeMaoult J. HLA-G: a look back, a look forward. *Cell Mol Life Sci* 2011; 68(3): 337-340.
  17. Goldman-Wohl DS, Ariel I, Greenfield C, Hochner-Celnikier D, Cross J, Fisher S, et al. Lack of human leukocyte antigen-G expression in extravillous trophoblasts is associated with pre-eclampsia. *Mol Hum Reprod* 2000; 6(1): 88-95.
  18. Zhao SC, Li ZB, He TQ, Yu CZ. Relationship between the expression of human leukocyte antigen G and preeclampsia. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi* 2011; 46(10): 758-762.
  19. Djuricic S, Hviid TV. HLA Class Ib Molecules and Immune Cells in Pregnancy and Preeclampsia. *Front Immunol* 2014; 5: 652.
  20. Hsu P, Santner-Nanan B, Joung S, Peek MJ, Nanan R. Expansion of CD4(+) HLA-G(+) T Cell in human pregnancy is impaired in preeclampsia. *Am J Reprod Immunol* 2014; 71(3): 217-228.
  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): 204-208.
  22. Vahid Rodsari F, Ayati S, Ayatollahi H, Shakeri MT. Use of protein to creatinine ratio in a random urine sample for the detection of proteinuria in preeclampsia. *J Med Council Iran* 2009; 27(3): 329-335 (Persian).