مجله دانشکده پزشکی
دانشگاه علوم پزشکی تهران
سال ۶۲، شماره ۲، صفحات ۹۹ تا ۱۰۷ ، (۱۳۸۳)

بررسی پاسخ تکثیری لنفوسیتهای T بر علیه عصاره فولیکول مو در افراد سالم و مبتلا به آلوپشیا آره آتا

علیرضا صالحی نوده (کارشناس ارشد)*، دکتر سید محمد موذنی (استادیار)**، دکتر پروین منصوری (استاد)***
* گروه ایمونولوژی، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
** گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
*** بخش پوست، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

مقدمه: آلوپشیاآره آتا یک بیماری التهابی مزمن و شایع مو و ناخن‌هاست که در برخی از موارد منجر به ناتوانی رشد و ریزش موها می‌گردد. تاکنون عوامل متعددی از جمله عوامل ژنتیکی، خودایمنی، آتوپی، استرس و ... بعنوان عوامل مؤثر در ابتلا و شدت بیماری شناخته شده‌اند. با این وجود علت اصلی ابتلای افراد به این بیماری هنوز بطور دقیق شناسایی نشده است. دلایل متعددی نظیر وجود اتوآنتی بادیها برعلیه آنتی‌ژنهای فولیکول مو و همچنین ارتشاح سلول‌های صلاحیت‌دار سیستم ایمنی در مناطق آسیب دیده از بیماری، باعث شده است تا اکثر محققین این بیماری را درزمره بیماریهای خود ایمنی قرار دهند. در تحقیقی که درگروه ایمنی شناسی دانشگاه تربیت مدرس در ارتباط با نقش ایمنی هومورال در پاتوژنز بیماری آلوپشیا آره آتا صورت گرفت شواهدی از وجود نئوآنتی‌ژنها در فولیکول موهای مبتلا بدست آمد لیکن بدلیل اینکه تحقیقات متعدد انجام شده حاکی از اهمیت بیشتر بازوی سلولی سیستم ایمنی در پاتوژنز آلوپشیا آره آتا می باشد بر آن شدیم تا با بکارگیری تست LTT به جستجو و اثبات نئو آنتی ژن‌ها در فولیکول موهای مبتلا بپردازیم.

مواد و روشها: به این منظورتعیین پاسخ تکثیری لنفوسیت‌های خون محیطی در دوگروه بیمارو سالم بطور مجزا برعلیه عصاره فولیکولی افراد سالم و بیمار مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج حاصله نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در پاسخ تکثیری لنفوسیت‌های خون محیطی افراد سالم و مبتلا به آلوپشیا نسبت به عصاره فولیکولی مو سالم بود. این پاسخ‌ها در عصاره فولیکولی موی مبتلا نیز تفاوت معنی‌داری از خود نشان نداد ($P = ۰/ ۸۰۸$).

نتیجه گیری و توصیه ها: با توجه به نتایج بدست آمده اگر چه نتوانستیم وجود نئو آنتی‌ژنها را در فولیکول موی مبتلا به آلوپشیا اثبات نمائیم. لیکن این نتایج نمی تواند نقش نئوآنتی‌ژنها در پاتوژنز بیماری را بطور کامل رد کند زیرا در آزمایش LTT سلولهای تکثیر شونده از نوع خاطره‌ای بوده و احتمالاً درصد این سلول‌ها در خون محیطی بسیار پایین می‌باشد و پاسخ ایمنی بیشتر به مناطق درگیر همچون فولیکول‌های موی مبتلا محدود میشود. لذا تفاوت در پاسخ تکثیری لنفوسیت‌های خون محیطی نمی‌تواند دقیقاً بیانگر چگونگی پاسخ‌های ایمنی در مناطق درگیر باشد. روشن است این مسئله نیازمند انجام تحقیقات بیشتر در این زمینه است.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-04]

مقدمه

آلوپشیا آره آتا بیماری التهابی و مزمن مو و ناخن هاست، که بصورت ریزش موهای بخشی از بدن علی‌الخصوص سرو صورت تظاهر می‌کند. میزان ابتلا به این بیماری در زنان و مردان تقریباً یکسان بوده و اکثر مبتلایان در سنین بین ۲۰ تا ۵۰ سال قرار دارند (۱). یافته‌های کلینیکی در ارتباط با پاتوژنز بیماری نشان می‌دهد که آلوپشیا آره آتا یک نوع افزایش ریزش مو در مرحله تلوژن است، که معمولاً بصورت موضعی شروع شده و سپس با الگوی متحدالمرکز گسترش می یابد. (۲) موهای مبتلا در مرحله تلوژن اغلب بد شکل و نافرم هستند، که نشان دهنده اختلال در مرحله کاتاژن می باشد. بطوری که موها در مناطق آسیب دیده قبل از بلوغ کامل یعنی زمانی که آناژن کاملاً پایان نیافته رشدشان متوقف شده و وارد مرحله کاتاژن و تلوژن می شوند (۳). عوامل معتددی نظیر عوامل ژنتیکی و سوابق خانوادگی، آتوپی، واکنش‌های خود ایمنی بر علیه یک عضو خاص واکنش های خود ایمنی غیراختصاصی واکنش‌های عصبی مانند استرس بعنوان عوامل مؤثر در ابتلا و شدت بیماری شناخته شده‌اند، اما تاکنون علت اصلی بیماری مشخص نشده است (۱). از جمله وقایع مهم و شایان توجهی که در بیماران مبتلا به آلوپشیاآره آتا دیده می شود افزایش بیان آنتی ژن‌های کلاس یک و دو کمپلکس سازگاری بافتی در پاپی‌های درم و اپی‌تلیوم پیاز مو است (۴)، همچنین افزایش بیان ICAM-1 بر سطح سلول‌های درمال پاپیلا و کراتینوسیت‌های موجود در ماتریکس و غلاف ریشه پیاز مو و ملانوسیتها سبب آسیب‌پذیرتر شدن سلول‌های فوق‌الذکر در مقابل پاسخ های التهابی می‌شود. تحقیقات صورت گرفته در خصوص نقش ایمنی هومورال در پاتوژنز بیماری آلوپشیاآره آتا منجر به کشف اتوآنتی‌بادی در خون افراد مبتلا به آلوپشیاآره‌آتا برعلیه عصاره فولیکولی مو در مرحله آناژن شد (۵). اما از آنجائی که این اتوآنتی بادیها در خون افراد سالم با تیتر کمتر وجود دارد و از طرف دیگر بروز بیماری آلوپشیا در افرادی که از نظر تولید آنتی‌بادی دچار نقص هستند نیز دیده می‌شود (۶). نقش اولیه آنتی‌بادیهای فوق‌الذکر در پاتوژنز بیماری چندان مورد توجه قرار نمی‌گیرد. حال چه دلیلی برای افزایش تیتر اتوآنتی‌بادی بر علیه آنتی ژن‌های فولیکول مو در افراد مبتلا وجود دارد. پاسخ آنرا شاید بتوان در یافته هایی نظیر کاهش سلول‌های ساپرسور در افراد مبتلا به آلوپشیا و یا مشاهداتی نظیر آن جستجو کرد. نتایج این تحقیق و سایر تحقیقات مشابه از مهمترین دلایل اثبات وجود نئوآنتی ژن‌ها در فولیکول موی افراد مبتلا به آلوپشیا آره آتا می‌باشد. از طرف دیگر در تحقیقی که در مدل موشی صورت گرفت نشان داده شد که پیوند زدن نواحی آسیب دیده از آلوپشیا به موش‌ها فاقد تیموس منجر به رویش مجدد موها در این مناطق می شود و تزریق سرم موش مبتلا به آلوپشیا آره آتا نمی تواند از رشد مجدد موها جلوگیری کند (۷). این تحقیقات حاکی از نقش غیر قابل انکار بازوی ایمنی سلولی در پاتوژنز بیماری آلوپشیا است. با توجه به شواهد یاد شده بر آن شدیم تا با بکارگیری LTT به جستجو و شناسایی نئوآنتی ژن‌ها در فولیکول موهای مبتلا بپردازیم.

مواد و روش‌ها

الف) تهیه نمونه های بافتی و خون از افراد سالم و بیمار

نمونه های خونی از افراد مبتلا، به صورت در دسترس از سی نفر از بیماران مراجعه کننده به بخش پوست بیمارستان امام خمینی (ره) صورت گرفت و نمونه‌های سالم از سی نفر از افرادی که فاقد هرگونه بیماری‌های پوست و مو بوده و تقریباً از نظر جنس و سن با افراد مبتلا مطابقت داشتند، گرفته شد. نمونه‌های پوست سر از افراد سالم با همکاری صمیمانه سازمان پزشکی قانونی از افراد سالمی که به تازگی و در اثر سانحه فوت شده بودند، تهیه شد. نمونه های پوست مبتلا نیز بصورت بیوپسی از افراد بیمار داوطلب مراجعه کننده به درمانگاه پوست بیمارستان امام خمینی (ره) که مبتلا به آلوپشیا آره آتا بودند تهیه شد.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-04]

ب) روش تهیه عصاره فولیکولی

برای تهیه عصاره فولیکولی از روش جداسازی فولیکولی دست نخورده (۵) با بعضی تغییرات استفاده شد. بطور خلاصه ابتدا موهای پوست تراشیده شده و سپس به قطعات کوچکتر از یک سانتی متر بریده شد. چربی‌های زیر پوستی به وسیله تیغ جراحی به خوبی پاک و تمیز گردید، سپس قطعات پوستی مذکور به منظور جداسازی اپیدرم از درم، در محلول یک مولاربرمیدسدیم (مرک) حاوی ۰/۱۷۴ گرم PMSF (سیگما) بمدت دو و نیم ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفت. پس از گذشت مدت زمان یاد شده، قسمت بالایی درم از اپیدرم جدا شده و فولیکول‌های مو با چشم غیر مسلح قابل رؤیت خواهند بود. سپس قطعات پوستی بمدت یک ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در محلول آنزیمی یک گرم در لیتر کلاژناز (سیگما) قرار گرفت. پس از طی این مراحل قطعات پوستی برای مدت کوتاهی به آرامی ورتکس شده ، که این عمل موجب آزاد سازی قسمت اعظم فولیکولهای مو از اپیدرم به محیط اطراف می‌شود. با انجام سانتریفوژ (g ۲۵۰ به مدت پنج دقیقه) قطعات و ذرات بلا استفاده رسوب کرده و محلول رویی برداشت گردید. به محلولی که بدین ترتیب بدست می آید اوره (مرک) (۶ مولار) اضافه شد و به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار گرفت. نهایتاً عصاره فولیکولی به وسیله سانتریفوژ (g ۸۸۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه) استحصال گردید. از آنجائی که اوره برای لنفوسیت‌ها سمی است و نمی‌توان از محلول دارای اوره در محیط کشت لنفوسیت‌ها استفاده کرد، عصاره فولیکولی فوق‌الذکر به مدت ۴۸ ساعت دیالیز شد. لازم به ذکر است که پروتئین‌های فولیکول مو دارای وزن مولکولی بین ۳۰ تا ۶۰ کیلو دالتون می باشند و دیالیز در محیط PBS صورت می‌گیرد. پس از انجام دیالیز عصاره فولیکولی در ویال های کوچکتر تقسیم شده و در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد تا زمان استفاده نگهداری گردید (۵).

ج) جداسازی سلولهای تک‌هسته‌ای از نمونه‌های خونی افراد سالم و بیمار

برای جداسازی سلولهای تک هسته ای از خون محیطی، ابتدا مقدار لازم از خون محیطی هپارینه تهیه گردید. خون تهیه شده با محلول هانگس یا PBS مخلوط شده و به آرامی از کنار دیواره به داخل لوله آزمایش مدرجی که هم حجم خون رقیق شده، حاوی فایکول است، اضافه شد. لوله آزمایش یاد شده در g ۳۰۰ به مدت ۲۵ دقیقه و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ گردید. پس از اتمام زمان سانتریفوژ لایه ابری تشکیل شده بین پلاسما و فایکول که حاوی مقادیر زیادی سلول تک هسته‌ای است، توسط پیپت پاستور برداشت شد. پس از برداشت لایه فوق با استفاده از محیط ناقص یا سایر محلول‌های شستشو مانند هانگس PBS و با دور g ۱۵۰ به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ گردید. این عمل (شستشو سلول‌ها) ۲ تا ۳ بار تکرار شد و هر بار محلول روئی دور ریخته شد و مجدداً محلول شستشوی تازه اضافه گردید. پس از اتمام شستشو با تکان دادن لوله و پیپتاژ آن سلول‌ها مجدداً به حالت معلق درآمده و آماده شمارش و تعیین Viability شد.

د) الکتروفورز

برای اطمینان از صحت عملکرد در مراحل استخراج پروتئین های فولیکول مو، عصاره فولیکولی سالم و بیمار با روش SDS – PAGE مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق از سیستم بافری ناپیوسته استفاده شد. همچنین درصد ژل بالا (ژل متراکم کننده) ۷/۵ درصد و درصد ژل پائینی (ژل جدا کننده) ۱۵ درصد انتخاب گردید. لازم به ذکر است که پس از انجام الکتروفورز برای رنگ‌آمیزی ژل تهیه شده از روش رنگ‌آمیزی نقره اسیدی استفاده شد.

ه) آزمایش ترانسفورماسیون لنفوسیتی

پس از جداسازی سلول های تک هسته ای خون محیطی به وسیله فایکول و تعیین Viability آنها ، با توجه به Triplicate بودن آزمایشات تعداد چاهکهای لازم از یک

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-04]

پلیت کشت ۹۶ خانه ای (NCNC) تعیین گردید. سپس به هریک از چاهکها ۱۵۰/۰۰۰ سلول تک هسته ای جدا شده از خون محیطی در ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت کامل (PRMI 1640) (سیگما) به اضافه ۱۰ ٪ سرم جنینی گاوی(FCS) (گیبکو) اضافه شد و سپس مواد افزودنی شامل ۴ µl از محلول $\frac{mg}{ml}$ ۳/۵، PHA بعنوان کنترل مثبت ، محیط کشت ناقص بعنوان کنترل منفی یا بلانک، ۳ µl از محلول عصاره فولیکولی موی بیمار و ۳ µl از محلول عصاره فولیکولی موی سالم اضافه گردید. لازم به ذکر است که غلظت مناسب آنتی ژن و PHA توسط آزمایش LTT اولیه که با غلظت‌های متفاوت آنتی‌ژن و PHA انجام گرفت تعیین شده، پلیت کشت پس از طی مراحل فوق به مدت ۷۲ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد و دی اکسید کربن ۵ درصد نگهداری شد. بعد از طی مدت یاد شده یک میکرو لیتر محلول تیمیدین نشاندار (آمرشام) با قدرت ۱ میکروکوری اضافه گردید و بعداز مدت ۱۸ ساعت سلول‌ها توسط دستگاه سل هاروستر (ICNFLOW- A3) هاروست گردید. پس از هاروست سلولها، فیلترهای کاغذی حاوی سلولها به لوله سنتیلاسیون که حاوی ۲/۵ میلی لیتر محلول سنتیلاسیون (گرم ۰/۰۵ = POPOP، ۶ = POP در یک لیتر تولوئن) هستند منتقل شد و با استفاده از دستگاه بتاکانتر مقدار شمارش در دقیقه (CPM) هریک از نمونه‌ها اندازه گیری شد. با تقسیم میانگین CPM، هر ویال بر میانگین CPM چاهکهای کنترل منفی، اندیکس تحریکی یا فاکتور SI بدست آمد (۸). البته باید به خاطر داشت که کلیه مراحل انجام این آزمایش بایستی در شرایط کاملاً استریل صورت گیرد.

یافته‌ها

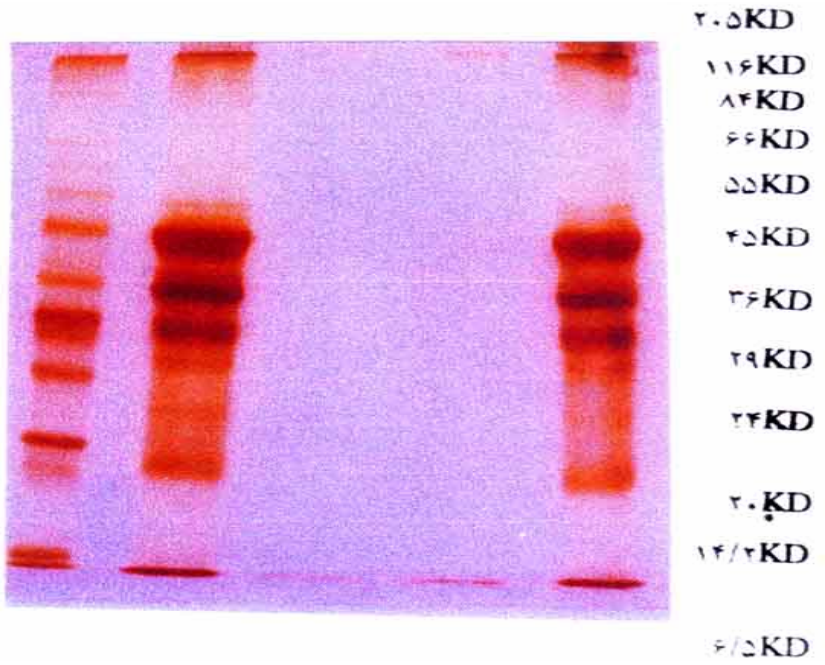
الف) نتایج الکتروفورز

براساس تحقیقات قبلی وزن ملکولی پروتئین هایی که در ساختار فولیکول مو احتمالاً خاصیت آنتی ژنتیک داشته و بر علیه آنها در افراد مبتلا به آلوپشیا آره آتا آنتی‌بادی ساخته می شود. بین ۳۰ تا ۶۵ کلید دالتون برآورده شده است (۹). همان طوری که در (شکل ۱) نشان داده شده اکثر باندها در ناحیه‌ای که انتظار می‌رفت یعنی ۲۹ تا ۶۵ کیلو دالتون ظاهر گردیده که خود بیانگر موفقیت‌آمیز بودن مراحل استخراج پروتئین‌ها می‌باشد.

ب) نتایج مربوط به تست ترانسفورماسیون لنفوسیتی

پس از به دست آوردن مقادیر اپیتیم PHA و آنتی ژن های عصاری فولیکول مو (مقداری از آنتی ژنها یا PHA در هر چاهک که حداکثر تحریک یا CPM را در سلول‌ها ایجاد می‌کند) تست LTT برای سی نفر بیمار مبتلا به آلوپشیا آره آتا و سی نفر افراد سالم که فاقد بیماری‌های پوست و مو بودند، صورت گرفت. به این ترتیب که در مورد هر نمونه ۱۵۰۰۰۰ سلول در حجم ۱۰۰ میرکولیتر در پلیتهای ۹۶ خانه ای به صورت Triplicate در معرض آنتی ژن های عصاره فولیکول افراد سالم (۳ میکروگرم در هر چاهک)، آنتی ژنها عصاره فولیکولی بیمار (۳ میکروگرم در هر چاهک)، فیتوهماگلوتینین (۴ میکروگرم در هر چاهک) و بدون آنتی ژن (کنترل) قرار گرفت. نتایج بدست آمده از این آزمون‌ها در (جداول ۱ و ۲) نشان داده شده است.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-04]



شکل ۱- الگوی پروتئینی عصاره فولیکولی استخراج شده از پوست سر افراد سالم و بیمار با استفاده از تکنیک SDSPAGE

جدول شماره ۱- مقادیر میانگین SI و CPM چاهک‌های حاوی عصاره فولیکولی بیمار و سالم در افراد سالم

ردیف	BLNK	عصاره فولیکول بیمار		عصاره فولیکول سالم		ردیف	BLNK	عصاره فولیکول بیمار		عصاره فولیکول سالم	
		میانگین	SI	میانگین	SI			میانگین	SI	میانگین	SI
۱	۴۰۰	۳۷۰	۰/۹۳	۳۸۹	۰/۹۷	۱۶	۳۰۵	۲۸۶	۰/۹۴	۳۰۴	۱
۲	۳۰۵	۳۱۷	۱/۰۴	۳۰۳	۱	۱۷	۳۶۰	۳۵۲	۰/۹۸	۳۵۱	۰/۹۸
۳	۳۱۷	۳۱۷	۱	۳۰۵	۰/۹۶	۱۸	۵۰۶	۵۰۳	۱	۵۰۸	۱
۴	۱۸۴۷	۱۷۴۲	۰/۹۴	۱۱۷۱	۰/۹۳	۱۹	۱۷۶	۱۷۵	۱	۱۷۵	۱
۵	۸۶۲	۸۵۲	۱	۸۵۹	۱	۲۰	۱۵۴	۱۴۸	۰/۹۶	۱۴۸	۰/۹۶
۶	۱۰۶۷	۱۰۳۹	۰/۹۷	۱۰۱۸	۰/۹۵	۲۱	۸۲۷	۸۲۵	۱	۸۳۳	۱
۷	۹۲۷	۹۰۲	۰/۹۷	۸۹۴	۰/۹۶	۲۲	۵۳۳	۵۳۴	۱	۵۲۳	۰/۹۸
۸	۴۴	۴۳	۱	۴۲	۰/۹۵	۲۳	۲۰۵	۲۰۳	۱	۲۰۰	۰/۹۸
۹	۴۵۱	۴۲۷	۰/۹۵	۴۳۰	۰/۹۵	۲۴	۳۱۹	۳۱۶	۱	۳۱۸	۱
۱۰	۶۳۴	۶۲۹	۱	۶۸۱	۱/۰۷	۲۵	۲۶۵	۲۶۲	۱	۲۶۳	۱
۱۱	۳۷۵	۳۷۰	۱	۳۶۵	۰/۹۷	۲۶	۷۰۱	۷۲۴	۱/۰۳	۶۹۸	۱
۱۲	۴۲۴	۴۱۵	۰/۹۸	۴۵۲	۱/۱	۲۷	۷۰	۷۲	۱/۰۳	۷۴	۱/۰۶
۱۳	۷۵۰	۷۲۷	۰/۹۷	۷۱۸	۰/۹۶	۲۸	۴۸۷	۴۷۸	۰/۹۸	۴۸۶	۱
۱۴	۴۸۳	۴۷۳	۱	۴۵۱	۰/۹۴	۲۹	۱۶۲	۱۶۶	۱/۰۳	۱۶۸	۱/۰۴
۱۵	۱۰۹	۱۰۱	۰/۹۳	۱۰۶	۰/۹۷	۳۰	۴۶۱	۴۶۲	۱	۴۵۹	۱

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-04]

جدول شماره ۲- مقادیر میانگین CPM و SI چاهک‌های عصاره فولیکولی بیمار و سالم در افراد بیمار

ردیف	BLNK	عصاره فولیکول بیمار		عصاره فولیکول سالم		ردیف	BLNK	عصاره فولیکول بیمار		عصاره فولیکول سالم	
		میانگین	SI	میانگین	SI			میانگین	SI	میانگین	SI
۱	۳۹۴	۳۵۴	۰/۹	۳۵۵	۰/۹	۱۶	۳۳۹	۳۵۰	۱/۰۳	۳۳۸	۱
۲	۷۹۶	۸۳۴	۱/۰۵	۸۳۴	۱/۰۵	۱۷	۴۷۲	۴۴۸	۰/۹۵	۴۷۱	۱
۳	۲۰۷	۱۹۱	۰/۹۲	۲۰۳	۰/۹۸	۱۸	۹۸۵	۹۰۶	۰/۹۲	۹۱۲	۰/۹۳
۴	۱۸۷۱	۱۷۱۰	۰/۹۱	۱۷۲۳	۰/۹۲	۱۹	۴۴۲	۴۵۳	۰/۹۸	۴۴۸	۱
۵	۸۴۷	۸۰۷	۰/۹۵	۸۳۶	۱	۲۰	۴۱	۴۱	۱	۴۰	۰/۹۶
۶	۱۵۶۵	۱۴۱۲	۰/۹	۱۴۱۵	۰/۹	۲۱	۴۹۵	۴۹۳	۱	۴۹۲	۱
۷	۹۵۶	۹۳۸	۰/۹۸	۸۵۷	۰/۹	۲۲	۵۹۰	۵۸۶	۱	۵۸۴	۱
۸	۳۴۴	۳۳۹	۱	۳۶۱	۱/۰۵	۲۳	۱۰۶۲	۱۰۶۸	۱	۱۰۳۱	۰/۹۷
۹	۴۴	۴۱	۰/۹۳	۴۱	۰/۹۳	۲۴	۴۵۷	۴۵۲	۱	۴۵۴	۱
۱۰	۱۳۷	۱۳۲	۰/۹۶	۱۳۶	۱	۲۵	۳۶۸	۳۶۴	۱	۳۶۴	۱
۱۱	۲۴۲	۲۴۲	۱	۲۴۲	۱	۲۶	۴۰۸	۴۰۵	۱	۴۲۴	۱/۰۴
۱۲	۴۲	۴۰	۰/۹۵	۴۰	۰/۹۵	۲۷	۶۳۹	۶۳۵	۱	۶۳۷	۱
۱۳	۱۶۳	۱۵۱	۰/۹۳	۱۵۷	۰/۹۸	۲۸	۶۲۵	۶۱۴	۰/۹۸	۶۱۱	۰/۹۸
۱۴	۳۵۲	۳۴۳	۰/۹۸	۳۴۶	۰/۹۸	۲۹	۵۵۲	۵۵۳	۱	۵۴۶	۱
۱۵	۴۶۹	۴۶۶	۱	۴۴۱	۰/۹۴	۳۰	۶۹۲	۶۷۹	۰/۹۸	۶۹۲	۱

جدول شماره ۳- مقادیر میانگین CPM چاهک‌های کنترل، PHM و مقادیر SI چاهک‌های PHA در افراد بیمار

ردیف	BLANK	PHA		ردیف	BLANK	PHA	
		میانگین	SI			میانگین	SI
۱	۳۹۴	۳۲۲۸	۸/۲	۱۶	۳۳۹	۳۷۸۱	۱۱
۲	۷۹۶	۸۲۲۰	۱۰/۳	۱۷	۴۷۲	۴۳۹۰	۹/۳
۳	۲۰۷	۳۴۴۱	۱۶/۶	۱۸	۹۸۵	۹۱۸۸	۹/۳
۴	۱۸۷۱	۱۵۳۷۷	۸/۲	۱۹	۴۴۲	۶۸۳۳	۱۵
۵	۸۴۷	۸۳۴۳	۹/۹	۲۰	۴۱	۹۱۱	۲۲
۶	۱۵۶۵	۱۶۸۵۸	۱۰/۸	۲۱	۴۹۵	۵۵۸۶	۱۱
۷	۹۵۶	۸۴۰۶	۸/۸	۲۲	۵۹۰	۴۱۴۵	۷
۸	۳۴۴	۴۳۳۹	۱۲/۶	۲۳	۱۰۶۲	۸۰۶۴	۷/۶
۹	۴۴	۴۰۹	۹/۳	۲۴	۴۵۷	۳۳۴۱	۷/۳
۱۰	۱۳۷	۱۶۹۲	۱۲/۳	۲۵	۳۶۷	۳۸۵۳	۱۰/۵
۱۱	۲۴۲	۲۳۵۷	۹/۷	۲۶	۴۰۸	۳۶۲۸	۸/۹
۱۲	۴۲	۸۲۰	۱۹/۵	۲۷	۶۳۹	۳۷۶۷	۵/۹
۱۳	۱۶۳	۱۴۶۵	۹	۲۸	۶۲۵	۸۲۸۱	۱۳/۲
۱۴	۳۵۲	۳۱۰۷	۸/۸	۲۹	۵۵۲	۳۰۶۱	۵/۵
۱۵	۴۶۹	۴۳۲۳	۹/۲	۳۰	۶۹۲	۷۴۷۶	۱۰/۸

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-04]

جدول شماره ۴- مقادیر میانگین CPM چاهک‌های کنترل، PHA و SI چاهک‌های PHA در افراد سالم

ردیف	BLANK	PHA		ردیف	BLANK	PHA	
		میانگین	SI			میانگین	SI
۱	۴۰۰	۳۵۷۳	۹	۱۶	۳۰۵	۳۹۱۲	۱۲/۸
۲	۳۰۵	۳۴۳۶	۱۱/۳	۱۷	۳۶۰	۳۴۱۲	۹/۵
۳	۳۱۷	۳۱۷۱	۱۰	۱۸	۵۰۶	۴۶۴۵	۹/۱
۴	۱۸۴۷	۱۶۶۲۶	۹	۱۹	۱۷۶	۱۲۲۲	۷
۵	۸۶۲	۹۰۶۹	۱۰/۵	۲۰	۱۵۴	۱۴۱۵	۹/۲
۶	۱۰۶۷	۹۷۶۳	۹/۲	۲۱	۸۲۷	۷۶۸۳	۹/۳
۷	۹۲۷	۸۶۸۹	۹/۴	۲۲	۵۳۳	۴۲۸۳	۸
۸	۴۴	۵۲۱	۱۲	۲۳	۲۰۵	۳۶۴۴	۱۷/۸
۹	۴۵۱	۷۶۶۲	۱۷	۲۴	۳۱۹	۲۵۷۲	۸
۱۰	۶۳۴	۶۱۵۲	۹/۷	۲۵	۲۶۵	۲۸۱۷	۱۰/۶
۱۱	۳۷۵	۳۶۴۳	۹/۷	۲۶	۷۰۱	۸۵۸۸	۱۲/۳
۱۲	۴۲۴	۷۰۹۶	۱۶/۷	۲۷	۷۰	۷۱۱	۱۰/۲
۱۳	۷۵۰	۶۲۳۷	۸/۳	۲۸	۴۸۷	۴۴۲۱	۹
۱۴	۴۸۳	۴۲۲۷	۸/۸	۲۹	۱۶۲	۵۲۷	۳/۲۵
۱۵	۱۰۹	۱۷۲۵	۱۵/۸	۳۰	۴۶۱	۳۱۵۶	۶/۸

پس از مقایسه میانگین SI سلولهای سالم (کنترل) و بیمار که هر کدام بطور مجزا تحت تاثیر عصاره فولیکولی موی سالم و بیمار قرار گرفته اند ، با استفاده از آزمون آماری Paired t-test هیچگونه اختلاف معنی‌داری بین دو گروه یاد شده مشاهده نشد (P=0.808) از طرف دیگر انجام آزمون آماری t-test در مورد دو گروه کنترل و بیمار که تحت تأثیر PHA قرار گرفته اند، نشان داد که اختلاف معنی داری (P<0.05) بین دو گروه کنترل و بیمار وجود ندارد (P=0.616) (جداول ۳ و ۴).

بحث

ارتباط میان فولیکول مو و سیستم ایمنی از دو جهت قابل توجه است. اول اینکه پوست بعنوان اولین سد دفاعی بدن بایستی همواره غیرقابل نفوذ باشد، ولی پوست در مناطقی که موها رشد می‌کنند در فاصله بین انتهای تلوژن که ساقه موهای قدیمی می‌ریزد و از پوست جدا می‌شود تا هنگامی که موی جدیدی که در انتهای مرحله آناژن و ابتدای مرحله تلوژن می باشد از پوست خارج شود برای عوامل بیماریزا قابل نفوذ می گردد (۱۰). برای مقابله با این عوامل در اطراف فولیکول مو برخی از عوامل سیستم ایمنی که اغلب وابسته به سیستم ایمنی ذاتی هستند مانند سلولهای لانگرهانس ، ماکروفاژها ، ماست سلها و سلولهای T دیده می شوند. لازم به ذکر است که تعداد این سلولها در مراحل مختلف رشد مو متفاوت است. برخی از این سلولها در مراحل مختلف تغییر شکل و کنترل رشد مو نقش مؤثری برعهده دارند (۱۱). از طرف یگر فولیکول های مو همواره ارتباط نزدیکی با سایتوکینها دارند، بطوری که گاهی اوقات آسیب‌هایی که به فولیکول‌های مو وارد می شود، نتیجه کاهش یا افزایش بیان یک سایتوکاین خاص یا ژن مربوط به رسپتور یک سایتوکین خاص می باشد (۱۰)، در نهایت اینکه فولیکول مو محلی است که در هنگام ضرورت سلولهای وابسته به سیستم ایمنی می‌توانند بطور گسترده ای به آنجا مهاجرت کنند (۱۱). با توجه به موارد یاد شده متوجه رابطه بسیار نزدیک و اجتناب‌ناپذیر سیستم ایمنی با فولیکول مو می‌شویم که به نوبه خود نقش سیستم ایمنی را در بیماری‌هایی

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-04]

مانند آلوپشیا آره آتا که علت آنها عملکرد ناصحیح فولیکول‌های مو است قابل توجه و جلوه می‌دهد. از جمله وقایع مهم و شایان توجهی که در بیماران مبتلا به آلوپشیا آره آتا دیده می‌شود. افزایش بیان آنتی‌ژنهای کمپلکس سازگاری بافتی در پاپی‌ها و اپی تلیوم پیاز مو است (۴). همچنین افزایش بیان ICAM-1 بر سطح درمال پاپیلا و کراتینوسیت های موجود در ماتریکس و غلاف پیاز مو و ملانوسیت‌ها سبب آسیب پذیرتر شدن سلول های فوق الذکر در مقابل پاسخهای التهابی می شود (۱۲). تحقیقات گسترده پیرامون نقش بازوی هومورال سیستم ایمنی منجر به کشف اتوآنتی‌بادی‌هائی در خون افراد مبتلا به آلوپشیا آره آتا که با عصاره فولیکولی مو در مرحله آناژن واکنش می‌دهد، شد (۵). اما از آنجائی که این اتو آنتی‌بادی‌ها در سرم افراد سالم نیز (البته با تیتر کمتر) وجود دارند و از طرف دیگر بیماری آلوپشیا آره آتا در افرادی که از نظر آنتی بادی دچار نقص هستند نیز دیده می شود (۹). نقش اولیه آنتی‌بادی‌های فوق‌الذکر در پاتوژنز بیماری چندان مورد توجه قرار نمی‌گیرد. اما همین نکته یعنی وجود این آنتی‌بادیها در سرم افراد مبتلا تا حدودی منجر به قوت گرفتن نظریه وجود نئو آنتی‌ژن‌ها در فولیکولی‌های موی مناطق آسیب دیده از بیماری شد. به دنبال این نتایج در تحقیقی که اخیراً در دانشگاه تربیت مدرس و با همکاری مرکز تحقیقات پوست و جذام در ارتباط با نقش ایمنی هومورال در پاتوژنز بیماری آلوپشیا آره آتا صورت گرفت، شواهدی از وجود نئو آنتی‌ژن‌ها در فولیکول مو بدست آمد (۹). با توجه به نقش مهمتر بازوی سلولی سیستم ایمنی در پاتوژنز بیماری آلو پشیا پاسخ تکثیری لنفوسیت‌های مبتلایان به بیماری به عصاره آنتی ژنی فولیکول موی سالم و مبتلا به طور مجزا مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج این تحقیق اگر چه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار میان پاسخ تکثیری لنفوسیت‌های خون محیطی افراد سالم و بیمار در مواجهه با عصاره فولیکولی سالم و بیماری می‌باشد، لکن نمی تواند بطور کامل رد کننده دخالت یک نئوآنتی‌ژن در پاتوژنز بیماری باشد، زیرا در روش LTT پاسخ تکثیری نسبت به آنتی ژن اختصاصی توسط سلول‌های خاطره‌ای ایجاد می‌گردد و امکان دارد درصد این گونه سلولها در خون محیطی افراد مبتلا بسیار کم بوده و پاسخ ایمنی سلولی بیشتر به مناطق درگیر همچون اطراف فولیکول‌های موی مبتلا محدود باشد و لذا لنفوسیت‌های خونی محیطی نتوانند پاسخ خوبی در برابر آنتی ژن‌های فولیکول مو ایجاد کنند. از طرف دیگر افزایش بیان ملکول‌های سازگاری بافتی و ملکول های چسبان همچون ICAM-1 در سلول‌های اطراف فولیکول‌های مو بر این نکته تاکید دارد که در بیماری آلوپشیاآره آتا یک نوع پاسخ موضعی در اطراف فولیکول مو به وقوع می‌پیوندد که بیشتر بازوی وابسته به سلولی سیستم ایمنی می باشد، که برای ایجاد این پاسخ که نهایتاً منجر به ارتشاح سلول‌های صلاحیت‌دار سیستم ایمنی به طور وسیع در منطقه درگیری می گردد (۴). وجود یک آنتی‌ژن موضعی که شروع کننده پاسخ است انتظار می‌رود.

بنابراین برای روشن شدن نقش یک نئو آنتی ژن احتمالی در پاتوژنز این بیماری لازم است که به صورتی پاسخ لنفوسیت‌های T موضعی مورد سنجش قرار گیرد. از طرفی با توجه به نتایج تحقیقات گسترده‌ای که پیرامون ارتباط بسیار نزدیک عواملی همچون استرس و ترس با این بیماری وجود دارد (۱۳،۱۴). بنظر می رسد باید در مورد ارتباط سیستم ایمنی با کنش‌های عصبی و نقش آنها در افزایش خطر ابتلاء در افراد مستعد بیشتر تحقیق و جستجو کرد.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-04]

منابع

1. Madani S,Shapiro J.Alopecia areata update. J Am Acad Dermatol 2000 Apr 42(4) 549-66.

2. Papadopoulous AJ, Schwartz RA, Janniger CK. Alopecia areata: Pathogenesis, and therapy.Am J Clin Dermatol 2000 Mar-Apr; 1(2): 101-5.

3. Headington JT, Michell A, Swanson N.New histopathologic findigs in alopecia areata studied in transvers section. J invest Dermatol, 1981 76: 325-31.

4. Kavak A, Bajkal C, Ozarmagan G, Akar u.HLAin alopecia areata. Int J Dermatol 2000Aug 39(8): 589-92.

5. Tobin DJ, Orentreich N, Fenton DA. Antibodies to hair follicles in alopecia areata. J Invest Dermatol, 1994 102: 721-26.

6. Kilic S.Ersoy F. Alopecia universalis in patient with common variable immunodeficiency. Pediatr Dermatol 1999 Jul-Aug 16(4): 305-7.

7. Gilhar A, pillar T, Assay B, Failure of passive transfer of serum from patients with alopecia areate and alopecia universalis to inhibit hair growth in transplants of human scalp graft onto nudmice. Br J Dermatol, 1992 126: 166-171.

8. Hudson L, Haj FC, practical immunology. 3nd ed, Blackwell Scientific publications, 1989 P 154.

۹. بیان‌الحق سعید موذنی سیدمحمد. پاسخ ایمنی هومورال و تغییرات احتمالی آنتی ژنهای فولیکولهای مو در بیماران مبتلا به آلوپشیا آره آتا. پایان نامه کارشناسی ارشد ایمنی شناسی. آذر ماه ۱۳۷۷.

10. Paus R, Immunology of the hair follicle. In: Skin immune system, CRC press, 2th ed 1997 p 377.

11. Goldsmith LA. Physiology, Biochemistry and Molecular Biology of the skin, oxford university press, New York, 1991 p 531.

12. Norris DA, Cytokine regulation of adhesion molecules in the regulation of immunologic cytotoxicity of epidermal targets. J Invest Dermatol, 1990 95: 1115.

13. Ikeda T, A New classification of alopecia areata. Dermatologica, 1965 131: 241.

14. Cooksn Wocm, Young RP Sandford AJ. Matenal inheritance of atopic IgE respon-siveness on chromosome 11 q.Lancet, 1992

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-04]