

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 مودنی (استادیار)**، دکتر پروین منصوری (استاد)***

* گروه ایمنولوژی، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

** گروه ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

*** بخش پوست، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

مقدمه: آلوپشیا آره 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، اتوپی، 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 اتوآنتیبادیها بر علیه 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 در زمره بیماریهای خود ایمنی قرار دهند. در تحقیقی که در گروه ایمنی شناسی دانشگاه تربیت مدرس در ارتباط با نقش ایمنی هومورال در پاتوژنز بیماری آلوپشیا آره آتا صورت گرفت شواهدی از وجود نوآنتی‌ژن‌ها 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 نو آنتی ژن‌ها در فولیکول موهای مبتلا بپردازیم.

مواد و روشها: به این منظور تعیین پاسخ تکثیری لنفوسیت‌های خون محیطی در دوگروه بیمار و سالم بطور مجزا بر علیه 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 ($P = 0/808$).

نتیجه گیری و توصیه‌ها: با توجه به نتایج بدست آمده اگر چه نتوانستیم وجود نو آنتی‌ژن‌ها را در فولیکول موی مبتلا به آلوپشیا اثبات نمائیم. لیکن این نتایج نمی تواند نقش نوآنتی‌ژن‌ها 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.

مقدمه

آلوشیا آره آنا بیماری التهابی و مزمن مو و ناخن هاست، که بصورت ریزش موهای بخشی از بدن علی‌الخصوص سر و 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 آلوشیا آره آنا یک نوع افزایش ریزش مو در مرحله تلوزن است، که معمولاً بصورت موضعی شروع شده و سپس با الگوی متحدالمرکز گسترش می‌یابد. (۲) موهای مبتلا در مرحله تلوزن اغلب بد شکل و نافرمان هستند، که نشان دهنده اختلال در مرحله کاتاژن می‌باشد. بطوری که موها در مناطق آسیب دیده قبل از بلوغ کامل یعنی زمانی که آن‌ها کاملاً پایان نیافته رشدشان متوقف شده و وارد مرحله کاتاژن و تلوزن می‌شوند (۳). عوامل متعددی نظیر عوامل ژنتیکی و سوابق خانوادگی، آتوپیی، واکنش‌های خود ایمنی بر علیه یک عضو خاص واکنش‌های 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 آلوشیا آره آنا دیده می‌شود افزایش بیان آنتی ژن‌های کلاس یک و دو کمپلکس سازگاری بافتی در پایی‌های 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 پاسخ‌های التهابی می‌شود. تحقیقات صورت گرفته در خصوص نقش ایمنی هومورال در پاتوژنز بیماری آلوشیا آره آنا منجر به کشف اتوآنتی‌بادی در خون افراد مبتلا به آلوشیا آره آنا بر علیه عصاره فولیکولی مو در مرحله آن‌اژن شد (۵). اما از آنجائی که این اتوآنتی‌بادیها در خون افراد سالم با تیر کمتر وجود دارد و از طرف دیگر بروز بیماری آلوشیا 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 تیر اتوآنتی‌بادی بر علیه آنتی ژن‌های فولیکول مو در افراد مبتلا وجود دارد. پاسخ آنرا شاید بتوان در یافته‌هایی نظیر کاهش سلول‌های ساپرسور در افراد مبتلا به آلوشیا و یا مشاهداتی نظیر آن جستجو کرد. نتایج این تحقیق و سایر تحقیقات مشابه از مهمترین دلایل اثبات وجود نتوآنتی ژن‌ها در فولیکول موی افراد مبتلا به آلوشیا آره آنا می‌باشد. از طرف دیگر در تحقیقی که در مدل موشی صورت گرفت نشان داده شد که پیوند زدن نواحی آسیب دیده از آلوشیا به موش‌ها فاقد تیموس منجر به رویش مجدد موها در این مناطق می‌شود و تزریق سرم موش مبتلا به آلوشیا آره آنا نمی‌تواند از رشد مجدد موها جلوگیری کند (۷). این تحقیقات حاکی از نقش غیر قابل انکار بازوی ایمنی سلولی در پاتوژنز بیماری آلوشیا است. با توجه به شواهد یاد شده بر آن شدیم تا با بکارگیری LTT به جستجو و شناسایی نتوآنتی ژن‌ها در فولیکول موهای مبتلا بپردازیم.

مواد و روش‌ها

الف) تهیه نمونه‌های بافتی و خون از افراد سالم و بیمار

نمونه‌های 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. نمونه‌های پوست مبتلا نیز بصورت بی‌پرسی از افراد بیمار داوطلب مراجعه کننده به درمانگاه پوست بیمارستان امام خمینی (ره) که مبتلا به آلوشیا آره آنا بودند تهیه شد.

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 مولار پرمیدسیدیم (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 می‌آید 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 می‌باشند و دیالیز در محیط PBS صورت می‌گیرد. پس از انجام دیالیز عصاره فولیکولی در ویال‌های 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 تک‌هسته‌ای 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 تک‌هسته‌ای 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 پینتاژ آن سلول‌ها مجدداً به حالت معلق درآمده و آماده شمارش و تعیین Viability شد.

د) الکتروفورز

برای اطمینان از صحت عملکرد در مراحل استخراج پروتئین‌های 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 سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی به وسیله فایکول و تعیین Viability آنها، با توجه به Triplicate بودن آزمایشات تعداد چاهک‌های لازم از یک پلیت کشت ۹۶ خانه‌ای (NCNC) تعیین گردید. سپس به هریک از چاهک‌ها ۱۵۰/۰۰۰ سلول تک‌هسته‌ای 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 μm از

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 اپتیم PHA و آنتی ژن های عصاره 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 آلوشیا آره آنا 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 میکرولیتر 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)، فیتوهماگلوپتینین (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.

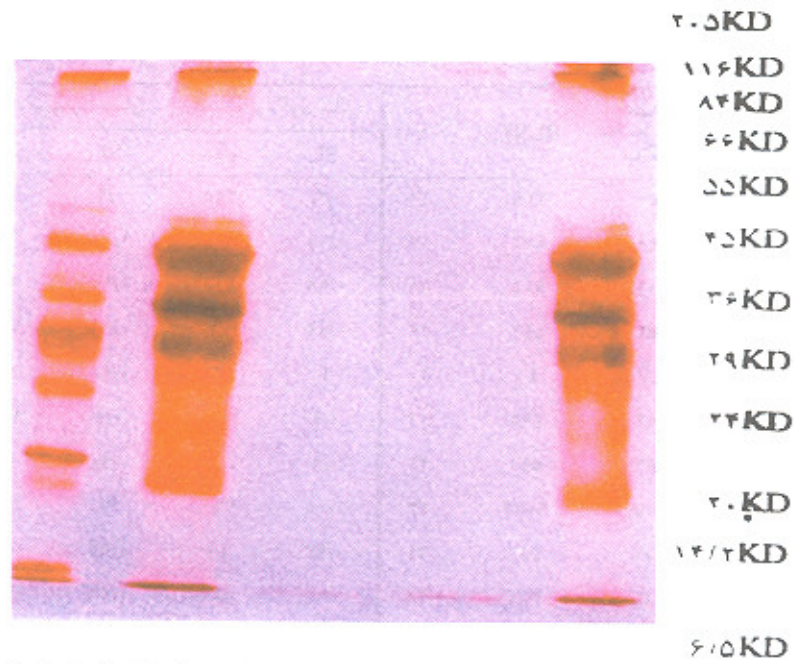
پس از مقایسه میانگین SI سلولهای سالم (کنترل) و بیمار که هر کدام بطور مجزا تحت تاثیر عصاره فولیکولی موی سالم و بیمار قرار گرفته اند، با استفاده از آزمون آماری Paired t-test هیچگونه اختلاف معنی‌داری بین دو گروه یاد شده مشاهده نشد ($P=0.808$) از طرف دیگر انجام آزمون آماری t-test در مورد دو گروه کنترل و بیمار که تحت تاثیر 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).

محلول $\frac{mg}{ml}$ ۳/۵ PHA بعنوان کنترل مثبت، محیط کشت ناقص بعنوان کنترل منفی یا بلانک، $3 \mu l$ از محلول عصاره فولیکولی موی بیمار و $3 \mu l$ 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 بعد از مدت ۱۸ ساعت سلول‌ها توسط دستگاه سل هاروستر (ICNFLOW- A3) هاروست گردید. پس از هاروست سلولها، فیلترهای کاغذی حاوی سلولها به لوله سستیلایسیون که حاوی $2/5$ میلی لیتر محلول سستیلایسیون (گرم $POPOP = 0/05$, $POP = 6$ 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، اندیکسن 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 پروتئین‌هایی که در ساختار فولیکول مو احتمالاً خاصیت آنتی ژنتیک داشته و بر علیه آنها در افراد مبتلا به آلوشیا آره آنا آنتی‌بادی ساخته می‌شود. بین ۳۰ تا ۶۵ کیلو دالتون برآورده شده است (۹). همان



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

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

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

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

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

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

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

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

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

مو همواره ارتباط نزدیکی با سایتوکینها دارند، بطوری که گاهی اوقات آسیب‌هایی که به فولیکول‌های مو وارد می‌شود، نتیجه کاهش یا افزایش بیان یک سایتوکاین خاص یا ژن مربوط به رسپتور یک سایتوکین خاص می‌باشد (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 مانند آلوشیا 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 آلوشیا آره آتا دیده می‌شود. افزایش بیان آنتی‌ژنهای کمپلکس سازگاری بافتی در پایی‌ها و اپی‌تلیوم پياز مو است (۴). همچنین افزایش بیان ICAM-1 بر سطح درمال پایلا و کراتینوسیت‌های موجود در ماتریکس و غلاف پياز مو و ملانوسیت‌ها سبب آسیب پذیرتر شدن سلول‌های فوق‌الذکر در مقابل پاسخهای

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 تلوزن که ساقه موهای قدیمی می‌ریزد و از پوست جدا می‌شود تا هنگامی که موی جدیدی که در انتهای مرحله آنژن و ابتدای مرحله تلوزن می‌باشد از پوست خارج شود برای عوامل بیماریزا قابل نفوذ می‌گردد (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 می‌شوند. 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 دیگر فولیکول‌های

نئوتنی‌ژن 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 ملکول‌های چسبان همچون ICAM-1 در سلول‌های اطراف فولیکول‌های مو بر این نکته تاکید دارد که در بیماری آلوپشیا آره آنا 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.

التهابی می شود (۱۲). تحقیقات گسترده پیرامون نقش بازوی هومورال سیستم ایمنی منجر به کشف اتوآنتی‌بادی‌هایی در خون افراد مبتلا به آلوپشیا آره آنا که با عصاره فولیکولی مو در مرحله آنازن واکنش می‌دهد، شد (۵). اما از آنجائی که این اتو آنتی‌بادی‌ها در سرم افراد سالم نیز (البته با تیر کمتر) وجود دارند و از طرف دیگر بیماری آلوپشیا آره آنا 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 آنا 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 آلوپشیا 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 نمی‌تواند بطور کامل رد کننده دخالت یک

منابع

1. Madani S, Shapiro J. Alopecia areata update. *J Am Acad Dermatol* 2000 Apr 42(4): 549-66.
2. Papadopoulos 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 findings in alopecia areata studied in transvers section. *J Invest Dermatol*, 1981 76: 325-31.
4. Kavak A, Bajkal C, Ozarmagan G, Akar u. HLA in alopecia areata. *Int J Dermatol* 2000 Aug 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 areata and alopecia universalis to inhibit hair growth in transplants of human scalp graft onto nude mice. *Br J Dermatol*, 1992 126: 166-171.
8. Hudson L, Haj FC, practical immunology. 3rd ed, Blackwell Scientific publications, 1989 P 154.
9. بیان الحق سعید موذنی سید محمد. 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. Cookson Wocm, Young RP Sandford AJ. Maternal inheritance of atopic IgE responsiveness on chromosome 11 q. *Lancet*, 1992