

# بررسی فنوتیپیک زیر گروههای لنفوسیتی خون محیطی بیماران مبتلا به درماتیت تماسی آلرژیک و مقایسه آن با سایر درماتیتها و افراد سالم

## چکیده

درماتیت تماسی (Contact-Dermatitis) به دو نوع آلرژیک (Allergic Contact Dermatitis, ACD) در ۲۰٪ موارد و نوع تحریکی (Irritant Contact Dermatitis, ICD) شامل ۸۰٪ موارد تقسیم می‌گردد و به سه فرم حاد، تحت حاد و مزمن دیده می‌شود. این بیماری با علایمی چون درد، قرمزی، خارش، وزیکول، پاپول، سخت و چرمی شدن پوست همراه است.

درماتیت تماسی آلرژیک (ACD) یا افزایش حساسیت تماسی (Contact hypersensitivity, CHS) بیماری التهابی وابسته به سلولهای T با مکانیسم تیپ IV صدمه نسجی (افزایش حساسیت نوع تأخیری) (Delayed type hypersensitivity, DTH) است، که با غلظتهای حساس کننده‌ای از آلرژنهای هاپتی در تماس با پوست ایجاد می‌گردد. با وجود اثبات دخالت سلولهای T، نقش زیر گروههای لکوسیتی در بیماری ناشناخته و اطلاعات موجود ضد و نقیض است. با توجه به وجود تناقضها و این که بیماری مذکور از بیماریهای شایع پوستی در کشور ایران می‌باشد، و نیز تاکنون در این زمینه مطالعه‌ای در ایران صورت نگرفته است، به بررسی ایمنی سلولی و نقش زیر گروههای لنفوسیتی خون محیطی بیماران مبتلا به درماتیت تماسی آلرژیک در مقایسه با سایر درماتیتها و افراد سالم پرداخته شد.

روش مناسب برای تشخیص آلرژنهای مسؤول بروز آلرژی روشی موسوم به Patch Test است. در این تحقیق با استفاده از ۲۳ آلرژن شناخته شده موجود در کیت Trolab معروف به "استاندارد اروپایی" بر روی ۴۶ بیمار مشکوک به بیماری تست پوستی انجام شد. پس از ۴۸ ساعت از بیماران ۵ CC خون گرفته شد، و با استفاده از روش ELISA سطح IgE تام سرمی آنها اندازه‌گیری گردید. همچنین توسط فلوسیتومتری با استفاده از کیت IMK-Plus حاوی آنتی‌بادیهای منوکلونال اختصاصی ضد CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>, T (HLA-DR<sup>+</sup>), NK (CD16<sup>+</sup>/56<sup>+</sup>), B (CD19<sup>+</sup>) و CD14/45 کونزوگه به بررسی زیر گروههای لنفوسیتی با FITC (فلورسین ایزوتیوسیانات) و PE (فیکواریترین) پرداخته شد. براساس نتایج آزمونهای پوستی شایعترین آلرژنها در این مطالعه به ترتیب نیکل، کلرید کبالت، دی کرومات پتاسیم و فرمالدئید بودند. همچنین براساس آنالیز آماری نتایج، سطح IgE در دو گروه

\*دکتر علیرضا سالک مقدم<sup>I</sup>

دکتر فرزانه اوسطی آشتیانی<sup>II</sup>

دکتر علیرضا فیروز<sup>III</sup>

دکتر مریم دانش پژوه<sup>IV</sup>

دکتر یحیی دولتی<sup>V</sup>

پرویز علائی<sup>VI</sup>

این مقاله در پنجمین کنگره ایمونولوژی و آلرژی در اردیبهشت ماه سال ۱۳۷۹ ارائه گردید.

(I) دانشیار و مدیر گروه ایمنی‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران (\*مؤلف مسؤول)

(II) استادیار ایمنی‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران

(III) استادیار بیماریهای پوست، مرکز تحقیقات پوست دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تهران، تهران

(IV) استادیار بیماریهای پوست، بیمارستان رازی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تهران، تهران

(V) استاد بیماریهای پوست، رئیس مرکز تحقیقات پوست دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تهران، تهران

(VI) کارشناس ارشد ایمنی‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران

درماتیت تماسی آلرژیک و تحریکی نسبت به گروه کنترل که ۳۶ نفر بودند تفاوت چندانی نداشت در صورتی که در گروه آتوپیک ۱۰-۸ برابر سطح شاهد بود ( $p < 0.001$ ). میانگین درصد سلولها  $T(CD4^+)$  و  $T(CD3^+)$  تغییر معنی داری نداشت. افزایش سلولهای  $T(CD8^+)$  نسبت به گروه کنترل معنی دار نبود. سلولهای  $B(CD19^+)$  با مختصری کاهش، تغییر معنی داری نداشتند. سلولهای  $NK(CD16/56^+)$  و  $T(HLA-DR^+)$  افزایش معنی داری نسبت به گروه کنترل داشتند ( $p < 0.05$ ). با توجه به افزایش  $T(CD8^+)$  و عدم تغییر در  $T(CD4^+)$ ، نسبت سلولهای  $CD4^+/CD8^+$  در گروه درماتیت تماسی آلرژیک کاهش و در گروه درماتیت آتوپیک افزایش داشت و این تغییرات معنی دار بود ( $p < 0.05$ ). تعداد WBC در درماتیت تماسی آلرژیک و درصد انوزینوفیلی در درماتیت آتوپیک افزایش معنی داری داشت. در مورد سایر متغیرها تغییرات معنی دار نبود.

**کلید واژه‌ها:** ۱- درماتیت تماسی آلرژیک ۲- درماتیت تماسی تحریکی ۳- درماتیت آتوپیک  
۴- ایمنی سلولی ۵- Patch Test

## مقدمه

پوست از نظر ایمنی یک عضو بی نظیر است. این عضو باعث محافظت میزبان در مقابل مهاجم میکروارگانیسمها و آنتی ژنهای مختلف می گردد و اعمال متعددی چون کنترل درجه حرارت، حفظ تعادل مایعات، تامین حس و حفاظت از آثار زیانبار اشعه ماورای بنفش دارد.<sup>(۱،۲،۳،۴،۵)</sup>

پوست همچنین یک بافت مهم هدف برای واکنشهای آلرژیک و خود ایمن می باشد. یکی از بیماریهای پوست درماتیت تماسی (Contact Dermatitis) است. این بیماری ۴-۱۵ درصد موارد بیماریهای پوست را شامل می گردد، که به صورت بیماری التهابی اگزما تو در اثر تماس با مواد محرک و آلرژنها محیطی بوجود می آید.<sup>(۴،۶،۷)</sup> از نظر بالینی بیماری به فرمهای حاد، تحت حاد و مزمن و با علایمی چون درد، سوزش، قرمزی، خارش، وزیکول، پاپول، پوسته ریزی و لیکنیفیکاسیون (Lichenification) همراه است.<sup>(۷)</sup>

درماتیت تماسی نیمی از بیماریهای شغلی را شامل می گردد. ۸۰٪ موارد به صورت درماتیت تماسی تحریکی و در ۲۰٪ موارد به صورت درماتیت تماسی آلرژیک بروز می نماید.<sup>(۸)</sup> از نظر ماهیت، درماتیت تماسی نوع آلرژیک، واکنش افزایش حساسیت تاخیری نوع IV (Delayed type hypersensitivity, DTH) و وابسته به سلولهای T است.<sup>(۱،۲،۳،۴،۵،۶،۷،۸،۹،۱۰)</sup> این واکنش در اثر

تماس با غلظتهای حساس کننده آلرژنهای هایپنیک (مولکولهای کوچک لیپوفیل با وزن مولکولی کمتر از ۱۰۰۰ دالتون) نفوذ کننده به پوست ایجاد می شود.<sup>(۱۲)</sup> درماتیت تماسی نوع تحریکی با مکانیسم غیر آلرژیک و در اثر غلظت‌های معینی از مواد محرک آزار دهنده پوست و بدون تماس قبلی بوجود می آید. براساس نتایج تحقیقات اخیر در زمینه ایمونولوژی و ایمونوپاتولوژی این بیماری، نقش سلولهای T در بروز درماتیت تماسی آلرژیک اثبات شده است.<sup>(۱۳)</sup> نیز دخالت سلولهای  $T(CD8^+)$  و  $T(CD4^+)$  در بیوپسی های پوستی بخوبی نشان داده شده است.<sup>(۱۴،۱۵،۱۶،۱۷)</sup> Kondo در سال ۱۹۹۶ در ارتباط با نقش سلولهای  $T(CD4^+)$  Tigelar، در سال ۱۹۹۰، Anderson در سال ۱۹۹۵ و HuiXU در سال ۱۹۹۶ در ارتباط با نقش سلولهای  $TCD8^+$  به مطالعه پرداختند، لیکن مطالعات انجام شده بر روی نمونه‌های خون محیطی بیماران، اطلاعات ضد و نقیضی را بیان می کند و نقش سلولها و زیر گروههای لکوسیتی در این بیماران ناشناخته است.<sup>(۱۸،۹)</sup> در این تحقیق با توجه به اهمیت نقش ایمونولوژیک و ایمونوپاتولوژیک در بروز بیماری، با استفاده از داده‌های پرسشنامه و شرح حال بیماری، معاینات بالینی و نتایج حاصل از Patch test و روش ELISA، بیماران مبتلا به درماتیت آتوپیک، درماتیت تماسی

آماري SPSS مورد آناليز قرار گرفت. در اين آناليز از آزمونهاي F-Test يا آناليز واريانس يك طرفه و  $(X^2)$  Chi-Square استفاده شد.

### نتايج

۱- از بين ۴۶ بیمار مشکوک به درماتیت تماسی Patch Test شدند، ۳۰ بیمار به یک یا چند نوع از آلرژنهای شناخته شده واکنش نشان دادند و بعنوان گروه مبتلا به درماتیت تماسی آلرژیک (ACD) شناخته شدند. از ۱۶ نفر که تست پوستی منفی داشتند، ۴ نفر با توجه به سطح IgE، معاینات بالینی، تاریخچه و پرسشنامه، به عنوان گروه درماتیت اتوپیک (AD) و ۱۲ نفر دیگر تحت گروه درماتیت تماسی تحریکی (ICD) مورد مطالعه قرار گرفتند.

۲- شایعترین آلرژنها براساس نتایج Patch Test به ترتیب شامل نیکل، کلرید کبالت، دی کرومات پتاسیم و فرمالدئید بود (جدول شماره ۱).

۳- از نظر سن با وجود این که بیشتر افراد تحت مطالعه در گروه سنی ۴۰-۱۵ سال قرار داشتند اختلاف معنی داری وجود نداشت.

۴- از نظر جنس در تمام گروههای مورد مطالعه (AD, ICD, ACD) زنان بیش از مردان دچار ضایعات بودند.

۵- نتایج شغلی نشان داد که در گروه ICD، بیشتر افراد خانمهای خانه دار بودند در صورتی که در گروه ACD، کارگران یا مشاغل آزاد عمده موارد ابتلا را شامل می شدند. از نظر شدت ضایعات، ۱۹/۶٪ بیماران در مرحله حاد، ۵۸/۷٪ موارد در مرحله تحت حاد و ۲۱/۷٪ در مرحله مزمن قرار داشتند. در این میان دستها با ۳۹/۱٪، بیشترین موارد ابتلا را به خود اختصاص داده، نیز گاهی چند ناحیه توأمأ گرفتار بودند. به عنوان مثال دستها و ساعد، که حدود ۱۵٪ ضایعات را تشکیل می دادند (جدول شماره ۲).

۶- افزایش میانگین مقدار IgE تام سرم در گروه AD ( $312 \pm 124$  IU/ml) درمقایسه با گروه ACD ( $167 \pm 91$  IU/ml) و گروه ICD ( $258 \pm 94$  IU/ml)، همچنین در مقایسه با گروه کنترل ( $11/3 \pm 66/5$  IU/ml) معنی دار بود ( $p < 0/001$ ).

آلرژیک و درماتیت تماسی تحریکی را از یکدیگر جدا نموده و با استفاده از فلوسیتومتری به بررسی ایمونوفنوتیپیک سلولها و زیر گروههای آنها در مقایسه با گروه شاهد پرداخته شد.

### روش بررسی

در این پژوهش از ۴۶ بیمار مشکوک به درماتیت تماسی آلرژیک و نیز از ۳۶ نفر از افراد سالم فاقد هر گونه بیماری، به عنوان گروه شاهد نمونه برداری شد. بیماران مورد مطالعه از میان مراجعین به درمانگاههای تخصصی آلرژي و پوست، با استفاده از شرح حال، پرسشنامه و معاینات بالینی انتخاب شدند و با استفاده از تکنیکهای زیر به بررسی آنها پرداخته شد.

تست پوستی Patch Test - بیماران مشکوک به درماتیت تماسی آلرژیک با استفاده از آلرژنهای کیت تجارتي Trolab ساخت آلمان که به عنوان "استاندارد اروپایی" نامیده می شود و حاوی ۲۳ آلرژن مختلف شناخته شده است مورد آزمایش قرار گرفتند<sup>(۱۹)</sup>. نتایج پس از ۴۸ و ۷۲ ساعت خوانده شد و نوع آلرژن و نتایج حاصل از Patch Test در جدول مخصوص ثبت شد.

روش ELISA - ۴۸ ساعت بعد از Patch Test حدود ۵cc خون وریدی افراد مورد مطالعه تهیه و جهت اندازه گیری سطح IgE حدود ۳cc سرم از هر بیمار در لوله های همولیز جمع آوری شد و با استفاده از کیت "RADIM" ساخت کشور ایتالیا و دستگاه ELISA reader مورد بررسی و مقایسه قرار گرفتند.

فلوسیتومتری (Flowcytometry) - از بیماران و گروه کنترل ۲cc خون تهیه شد و در داخل لوله های حاوی EDTA ریخته شد. ابتدا بر روی تمام نمونه ها آزمایش CBC و افتراق سلولی انجام شد و پس از رنگ آمیزی نمونه با استفاده از دستگاه فلوسیتومتری FACS-Calibur ساخت شرکت Becton Dickinson کشور آمریکا، به بررسی مارکهای سطح لکوسیتی در گروههای مورد مطالعه پرداخته شد. برای این کار از آنتی بادیهای مونوکلونال (mAbs) کیت IMK-Plus ساخت شرکت Becton Dickinson شامل  $CD8^+$ ,  $CD19^+$ ,  $CD14/45$ ,  $CD4^+$ ,  $CD3^+$ ,  $HLA-DR^+$  ( $CD16^+/56^+$ )، کونژوگه با FITC (فلورسین ایزوتیوسیانات) و PE (فیکواریترین) استفاده شد<sup>(۲۰،۱۷)</sup>. نتایج حاصل از آزمایشهای بیماران و گروه کنترل با استفاده از برنامه

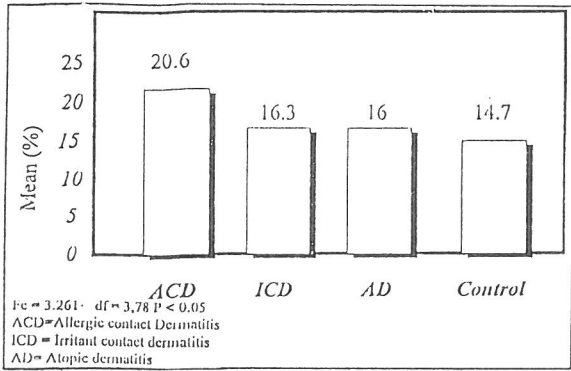
جدول شماره ۱- توزیع فراوانی نتایج Patch-Test در بیماران آلرژیک مورد مطالعه

شماره آلرژن	نام آلرژن (استاندارد اروپایی)	تعداد بیماران مورد مطالعه		درصد
		مشکوک به ACD	تشخیص قطعی ACD	
۱	Nickel-sulfate.6.H2o	۴۶	n = ۹	۳۰
۲	Cobalt-Chloride	"	n = ۸	۲۷٫۶
۳	Formaldehyde	"	n = ۶	۲۰
۴	Potassium-Dichromate	"	n = ۶	۲۰
۵	Thiuram. Mix	"	n = ۵	۱۷٫۶
۶	Wool - Alcohol	"	n = ۵	۱۷٫۶
۷	Balsame of peru	"	n = ۳	۱۰
۸	N-isopropyl-N-Phenyl-PPD	"	n = ۳	۱۰
۹	Parabn-mix	"	n = ۳	۱۰
۱۰	Fragranc mix	"	n = ۳	۱۰
۱۱	Clipquinol	"	n = ۲	۷٫۶
۱۲	Quaterium - 15	"	n = ۲	۷٫۶
۱۳	Neomycine - Sulphate	"	n = ۱	۳٫۳
۱۴	Parateriarybotyl - Phenol	"	n = ۱	۳٫۳
۱۵	Formaldehyde - Resin Epoxy Resin	"	n = ۱	۳٫۳
۱۶	Mereapto mix	"	-	-
۱۷	Colophony	"	-	-
۱۸	Benzocain	"	-	-
۱۹	Paraphenylene diamin freebase	"	-	-
۲۰	5-chloro-Isotiazolin	"	-	-
۲۱	Mercaptobenzole	"	-	-
۲۲	Sesquiterpene, Lactone	"	-	-
۲۳	Primin	"	-	-

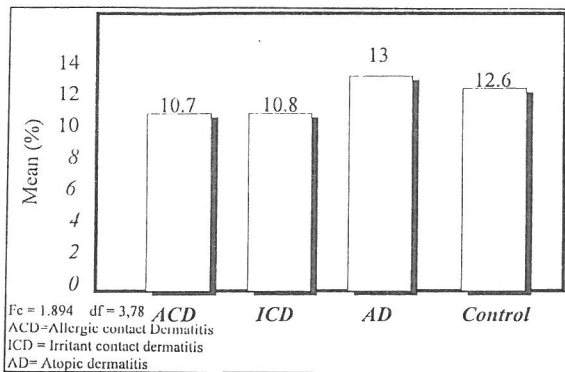
جدول شماره ۲- میانگین درصد زیر گروه‌های لنفوسیتی، WBC، لنفوسیت، انوزینوفیل و IgE تام در گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها پارامترهای ایمنی	بیماران (n= ۴۶)				نتیجه آماری
	کنترل n= ۳۶	درماتیت تماسی آلرژیک (n=۳۰)	درماتیت تماسی تحریکی (n=۱۲)	درماتیت آتوپیک (n=۴)	
(CD3 <sup>+</sup> )Tcells%*	۷۲/۴±۷/۳(۲۰۰۹±۳۹۳)	۷۵±۸/۲(۲۱۱۰±۳۸۵)	۷۳/۱±۸/۹(۲۱۰۹±۵۲۷)	۷۴±۱۰(۲۰۵۵±۳۸۵)	معنی دار نیست
(CD3 <sup>+</sup> -CD4 <sup>+</sup> )T%	۴۴/۲±۷/۹(۱۲۴۷±۲۴۴)	۴۷/۵±۷/۸(۱۲۰۸±۲۲۰)	۴۵/۹±۷/۸(۱۲۷۶±۳/۱۸)	۴۷/۲±۷/۲(۱۰۹۵±۲۲۰)	معنی دار نیست
(CD3 <sup>+</sup> -CD8 <sup>+</sup> )T%	۳۳/۷±۷/۳(۹۹۱±۱۹۴)	۴۱/۹±۷/۶(۱۲۰۳±۲۱۹)	۳۵/۲±۵/۷(۱۱۲۳±۲۸۰)	۲۸±۳/۸(۱۱۳۵±۲۶۵)	معنی دار نیست
(CD4.CD8)Ratio	۱/۵۰±۰/۴۷	۱/۱۵±۰/۳۵	۱/۲۲±۰/۴۵	۱/۶۳±۰/۵۲	معنی دار (p<۰/۰۵)
(CD3 <sup>+</sup> -HLA-DR <sup>+</sup> )T%	۹±۶(۲۳۰±۴۵)	۱۶±۱۱/۵(۳۲۲±۵۸)	۱۱/۴±۴(۲۹۴±۷۳)	۱۱±۵/۵(۳۲۰±۵۹)	معنی دار (p<۰/۰۵)
(CD3 <sup>+</sup> -CD16/56 <sup>+</sup> )NK%	۱۴/۷±۷/۸(۴۰۰±۷۸)	۲۰/۶±۸/۲(۴۷۴±۸۶)	۱۶/۳±۷/۲(۴۷۶±۱۱۹)	۱۶±۸(۵۲۹±۹۱)	معنی دار (p<۰/۰۵)
(CD3 <sup>+</sup> -CD19 <sup>+</sup> )B%	۱۲/۶±۳/۱(۳۲۵±۶۳)	۱۰/۷±۳/۷(۲۸۰±۵۱)	۱۰/۸±۳/۴(۳۱۵±۷۹)	۱۳±۴/۵(۳۳۶±۶۸)	معنی دار نیست
Sum (T+B+NK)%	۱۰۰±۳/۴	۱۰۲±۱۱/۵	۹۹/۴±۴/۴	۱۰۳±۷/۵	معنی دار نیست
WBC. 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	۷/۵±۱/۵	۸/۰۶±۱/۹۹	۷/۷±۱/۹۹	۷/۶±۱/۵	معنی دار (p<۰/۰۵)
Eosinophils%	۲/۲±۰/۴	۳/۲±۰/۶	۲/۸±۰/۸	۵/۵±۲/۷	معنی دار (p<۰/۰۵)
Lymphocytes%	۳۵/۴±۷/۵	۳۸/۲±۷/۷	۳۷/۷±۷	۳۷/۷±۸/۲	معنی دار نیست
Total IgE (lu/ml)	۶۷/۵±۱۱/۳	۹۱/۷±۱۶/۷	۶۴/۳±۲۵	۶۲±۳/۱۲	معنی دار (p<۰/۰۵)

\* میانگین درصد ± انحراف معیار (تعداد سلولها ± انحراف معیار)

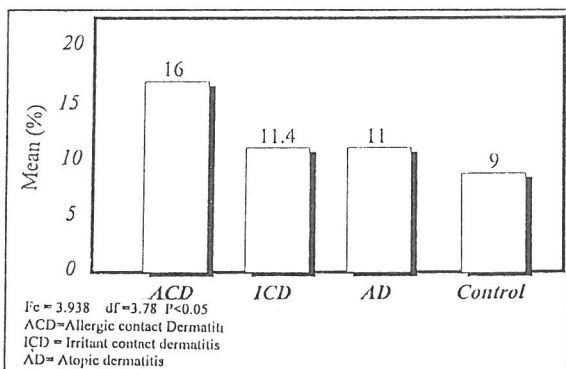


نمودار شماره ۲- درصد سلولهای NK(CD16<sup>+</sup>/56<sup>+</sup>) در گروه کنترل و بیمار



نمودار شماره ۳- درصد سلولهای B(CD19<sup>+</sup>) در گروه کنترل و بیمار

- در تجزیه و تحلیل نتایج در سه مرحله حاد و مزمن، سطح سلولهای NK در مرحله حاد بیماری و T(HLA-DR<sup>+</sup>) در تمام مراحل بیماری افزایش داشت. خصوصاً در مرحله مزمن بیماری که این افزایش معنی دار بود ( $p < 0/05$ ) (جدول شماره ۲) (نمودار شماره ۴).



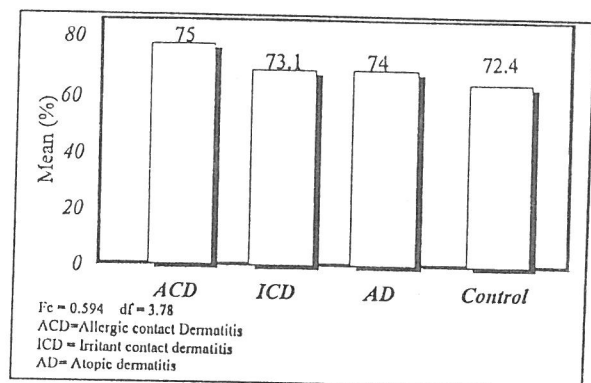
نمودار شماره ۴- درصد سلولهای T(HLA-DR<sup>+</sup>) در گروه کنترل و بیمار

این مقدار در گروه درماتیت آتوپیک ۸-۱۰ برابر سطح گروه شاهد بود (جدول شماره ۲).

۷- نتایج حاصل از آنالیز فلوسیتومتری با استفاده از نرم افزار Simulset و محدود کردن لنفوسیت‌ها در gate لنفوسیتی و استفاده از نمودارهای سیتوگرام، (dotplot) و هیستوگرام به صورت میانگین درصد و قدر مطلق سلولها بدست آمد که نتایج آماری حاصل از آن بدین صورت بود.

- سلولهای T(CD4<sup>+</sup>), T(CD3<sup>+</sup>) در گروه درماتیت تماسی آلرژیک تغییرات چندانی نسبت به گروه کنترل نداشتند. در گروه آتوپیک سطح این سلولها اندکی بالاتر بود لیکن، معنی دار نبود (جدول شماره ۲).

- میانگین درصد سلولهای T(CD8<sup>+</sup>) در گروه ACD افزایش و در گروه AD کاهش نشان داد. با توجه به این تغییرات، نسبت سلولهای CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> در گروه AD کاهش و در گروه ACD افزایش داشت که در هر دو مورد تغییرات معنی دار بود ( $p < 0/05$ ) (جدول شماره ۲)، (نمودار شماره ۱).



نمودار شماره ۱- معدل نسبت (CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>) در گروه کنترل و بیمار

سلولهای T(HLA-DR<sup>+</sup>) و NK(CD16<sup>+</sup>/56<sup>+</sup>) در گروه ACD افزایش داشتند، و این افزایش معنی دار بود ( $p < 0/05$ ). میزان سلولهای B(CD19<sup>+</sup>) کاهش مختصری نسبت به سطح شاهد داشت ولی اختلاف معنی دار نبود (جدول شماره ۲)، (نمودار شماره ۲)، (نمودار شماره ۳).

بعلاوه، سطح IgE در گروه ICD از ACD بالاتر بود. این مسأله می‌تواند تایید کننده گزارشاتی باشد که بیان می‌کنند بیماران با سابقه آتوپیک در دوران کودکی، شانس بیشتری جهت ابتلا به درماتیت تماسی تحریکی در سنین بالاتر دارند.

۴- در میانگین درصد سلولهای  $T(CD3^+)$  و  $T(CD4^+)$  تغییر قابل توجهی وجود نداشت لیکن در میانگین درصد  $T(CD8^+)$  افزایش وجود داشت که این امر باعث کاهش نسبت سلولهای  $CD4^+/CD8^+$  در گروه درماتیت تماسی آلرژیک نسبت به گروه کنترل می‌باشد.

میانگین سلولهای  $T(HLA-DR^+)$  و  $NK(CD16+/56^+)$  در بیماران مبتلا به درماتیت تماسی آلرژیک افزایش نشان داد که نشان دهنده فعال بودن سلولهای T و درگیری سیستم ایمنی سلولی در بیماران است. کاهش سلولهای  $B(CD19^+)$  بیانگر کاهش فعالیت سیستم ایمنی هومورال و یا کاهش فعالیت سلولهای T کمکی نوع ۲ ( $Th2$ ) می‌باشد. در بیماران با درماتیت تماسی آلرژیک افزایش میزان  $IFN-\gamma$ ،  $IL-1$  و  $NF-\alpha$  باعث فعالیت سلولهای T کمکی نوع یک ( $Th1$ ) و دخالت ایمنی سلولی (CMI) در بیماران گردیده است. برعکس در گروه بیماران آتوپیک، بالا بودن سطح IgE و تعداد سلولهای  $T(CD4^+)$  مبنی بر فعال بودن سلولهای ( $Th2$ ) و تولید سایتوکینهای  $IL-4$ ،  $IL-5$ ،  $IL-6$ ،  $IL-10$ ،  $IL-13$  و کاهش واکنش آلرژیک نوع یک و فعال شدن سیستم ایمنی هومورال گردیده است.  $IL-5$  باعث تحریک تمایز و افزایش ائوزینوفیلها می‌شود. افزایش  $IL-5$  در بیماران آتوپیک افزایش معنی داری را نشان داد.

در مجموع، نتایج این مطالعات دال بر درگیری سیستم ایمنی سلولی (CMI) در بیماران ACD و افزایش اختصاصی سلولهای  $T(HLA-DR^+)$  و  $NK(CD16+/56^+)$  بود.

افزایش معنی دار سلولهای  $NK(CD16+/56^+)$ ، که تنها در این پژوهش گزارش گردید، از نظر توجیه فیزیوپاتولوژی می‌تواند بدلیل فعال بودن مسیر  $Th-1$  در مبتلایان به درماتیت تماسی و تولید لنفوکینهای اختصاصی این مسیر باشد که موجب تولید سلولهای NK گردیده است.

۸- در آزمایش CBC و افتراق سلولها، میانگین تعداد WBC در گروه ACD بالا بوده درصد ائوزینوفیلها در گروه AD افزایش معنی دار داشت ( $p < 0.05$ ). در سایر پارامترها تغییرات معنی داری نبود (جدول شماره ۲).

## بحث

چنانچه اشاره شد پاسخ ایمنی در بیماری درماتیت تماسی آلرژیک براساس ایمنی سلولی می‌باشد. نتایج پژوهشهای انجام شده جهت بررسی سلولهای ایمنی و زیرگروههای آن در این بیماران ضد و نقیض می‌باشد. این پژوهش با توجه به این تناقضها و این که بیماری مذکور از شایعترین بیماریهای پوستی در کشور ایران است، صورت گرفت. براساس نتایج به دست آمده مهمترین یافته‌ها بدین قرار است:

- ۱- نتایج آزمون Patch Test - که روش ساده و مفید جهت تشخیص نوع ماده آلرژن حساسیت‌زا در بیماران است- نشان داد که شیوع آلرژنها در این پژوهش، با اندکی تفاوت مشابه سایر گزارشها است. این تفاوت نیز امر قابل قبولی است زیرا نوع آلرژنهای تماسی می‌تواند از کشوری به کشور دیگر متفاوت باشد.
- ۲- نتایج نشان داد که سن افراد نمی‌تواند در نتایج به دست آمده تاثیر داشته باشد، لیکن از نظر جنس در تمام گروههای بیمار، زنان بیشتر از مردان دچار ضایعات بودند. این مطلب مبین آن است که زنان یا بیشتر از مردان در معرض آلرژنهای تماسی بودند و یا این که به ضایعات حساستر بوده و مراجعات بیشتری به درمانگاههای پوست و آلرژیک داشتند. از نظر شغلی درماتیت تماسی تحریکی کاملاً وابسته به شغل بود. بطوری که ضایعات در زنان خانه‌دار بیشتر از سایر مشاغل مورد مطالعه بود. مکان ضایعات نشان داد نواحی که در تماس مستقیم با مواد آلرژن بودند مثل دستها، صورت، پاها و بازو بیشتر دچار ضایعات بودند.

۳- میانگین مقادیر IgE سرم بیماران در گروه ICD و ACD نزدیک به سطح کنترل یا اندکی بالاتر بود. ولی در گروه AD ۱۰-۸ برابر سطح کنترل بود که تایید کننده زمینه ژنتیکی آتوپیک و فعال بودن سیستم ایمنی هومورال است.

- 13- Ohta .K, Yamashita .N. "Apoptosis of eosinophils and lymphocytes in allergic inflammation" J. Allergy clin immunol; 1999; 104(1); PP: 14-21.
- 14- Weltzien .H.U, Moulon.C, Martin .S, Padovan. E, Hartmann. U, Kohler. J "T cell immune responses to haptens, structural models for allergic and autoimmune reactions" J Toxicol; 1996; 107(2); PP: 141-151.
- 15- Xu. Hui, Banerjee. A, Dilulio. N. A, Fairchild. R.L "Development of effector CD8<sup>+</sup> T cells in contact hypersensitivity occurs independently of CD4<sup>+</sup> T Cells" J Immunol; 1997; 158 (10); PP: 4721-4728.
- 16- Parks. D. R, Lanier. L.L, Herzenberg. L.A "Flowcytometry and fluorescence activated cell sorting" Fundamental Immunology; 1995; PP: 29.1-29.21.
- 17- Kehren. J, Desvignes. C, Krasteva. M, Ducluzeau. M.T " Cytotoxicity is mandatory for CD8<sup>+</sup> T cell mediated contact hypersensitivity" J. Exp -Med; 1999; 189(5); PP: 779-786.
- 18- Adams. R.M, "Recent advances in contact dermatitis", Ann-Allergy; 1991; 67 (6); PP: 552-566.
- 19- Gronau. U, Herman. H.K "The trolab guide to patch testing" Ulrich granau, west Germany; 1987; PP: 1-68.
- 20- Fleisher.T.A, Marli.G.E, "Flowcytometry" in: Rich RD., Fleisher T.A., Schwartz BD, et al. Clinical immunology Principles and practico; 1st edition; Mos by-year Book, inc.; Chapter 141; 1995; PP: 2110-2123.

#### تقدیر و تشکر

از تمامی اساتید و همکاران محترم بویژه سرکار خانم فاطمه حسینی و جناب آقای محسن غلمان که در تهیه و اجرای این طرح پژوهشی ما را یاری نموده اند تشکر نموده توفیق روزافزونشان را از خداوند متعال خواستاریم.

#### منابع

- 1- Donald.v. Belsito,"Contact dermatitis" in: Irwin M. Freedbery, Arthur Z.Eisen, klaus wolff, et al. Fitz patric derma-in general medicine; 5 th edition; Chapter 122; Mc Grow Hill; New york; 1999; PP: 1447-1461.
- 2- Ghohestani.R.F, Francios. J "New insights in pathophysiology of contact hypersensitivity" Iran J dermatol; 1998; 1(2); PP: 50-56.
- 3- Fox. R. W, "Allergic skin diseases" J Florida, Med. Assoc; 1996; 83(6); PP: 394-397.
- 4- Donald. Y.M.Leung, Diaz. L.A, Deleo. V, Soter. N.A, "Allergic and immunologic skin disorders" JAMA; 1997; 278(22); PP: 1914-1923.
- 5- Beltrani. V.S, Beltrani. V.P, "Contact dermatitis" Ann-Allergy, Asthma, Immunol; 1997; 78(2); PP: 160-173.
- 6- Marlene. D "Cytokines in allergic contact dermatitis" J Current probl Dermatol 1997; 9(1); PP: 1-32.
- 7- Grabbe. S, Schwartz. T "Immunoregulatory mechanisms involved in elicitation of allergic contact hypersensitivity" Immunology today; 1998; 19(1); PP: 37-43.
- 8- Xu. Hui, Dilulio. N.A, Fairchild. RL "T cell Populations primed by hapten sensitization in cantact sensitivity are distinguished by polarized patterns of cytokine production" J Exp Med; 1996; 183(3); PP: 1001 -1012.
- 9- Moulon. C, wild.D, Dormoy. A, weltzien H.U "MHC-dependent and independent activation of human nickel - specific CD8<sup>+</sup> cytotoxic T cells from allergic donors" J Inves dermatol; 1998; 111 (4); PP: 360-366.
- 10- Kalish. R.S, Askenase. P.W "Molecular mechanisms of CD8<sup>+</sup> cell-mediated delayed type hypersensitivity" J.allergy and clinical immunology; 1999; 103(2); PP: 192-199.
- 11- Belsito. D. V, "Allergic contact dermatitis", cutaneous medicine and surgery; 1993; vol: 1, chapter 119; PP: 1531-1542.
- 12- Bour. H, Horand. F, Krasteva. M, Nicolas . J.F, "Role of CD4<sup>+</sup> T cells and of the CD4<sup>+</sup> molecule in contact sensitivity" J. invest Dermatol, 1997; 108(5); PP: 811-812.

# IMMUNOPHENOTYPIC EVALUATION OF PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTE SUBGROUPS IN PATIENTS WITH ALLERGIC CONTACT DERMATITIS COMPARED WITH OTHER DERMATITIS AND NORMAL INDIVIDUALS

\*A.R. Salek moghaddam MD&Ph.D<sup>I</sup> F. Osati-Ashtiani Ph.D<sup>II</sup> A. Firooz MD<sup>III</sup>  
M. Danesh pazhooh MD<sup>IV</sup> Y. Dowlati MD<sup>V</sup> P. Alaei<sup>VI</sup>

## ABSTRACT

Contact dermatitis is seen in two forms of allergic contact dermatitis (ACD) with 20% and irritant contact dermatitis (ICD) with 80% Frequency.

This disease is manifested in three forms of acute, sub-acute, and chronic, characterized by pain, itching, vesicle, swelling, papul, lichenification and oozing.

ACD or contact hypersensitivity (CHS) in an eczematous dermatitis which is regarded as T - cell mediated delayed - type hypersensitivity (DTH) reaction, caused by exposure to some substances. Those substances act as haptenic allergens.

The role of T- Lymphocyte subsets has been clearly shown in the pathogenesis of this disease, However, results from different studies on blood samples are contraversial in this regard. This project aimed at a broader study on distribution of different lymphocyte subsets in peripheral blood of patients with CHS compared with other types of dermatitis and normal individuals.

Patch - Test is generally required to identify the specific allergen(s). In this study, we used European standard patch test kit (Trolab) with 23 allergens, tested 46 patients and 36 control healthy individuals. Forty - eight hours later, 5 ml peripheral blood sample was obtained from the patient and control groups.

Serum total IgE of patient and control groups with ELISA were assessed.

Peripheral blood samples were stained with mAbs (IMK-Plus Kit) Conjugated with FITC and PE, such as; CD 14/45, (CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>) T, (CD 16<sup>+</sup> / CD 56<sup>+</sup>) NK, (HLA - DR<sup>+</sup>) T and (CD19<sup>+</sup>) B, and analyzed on FACS-Calibur (Becton Dickinson Company) Flowcytometry.

The results of patch-Test revealed that the most frequent positive reactions were due to nickel - sulphate, cobalt choride, potasium dichromat and formaldehyde.

The results of serum total IgE in ACD and ICD showed nonsignificant difference from control group. In patients with atopic dermatitis total IgE was 8 to 10 times greater than serum IgE in control group (P<0.001).

Mean percent, total T-cells (CD3<sup>+</sup>) and (CD4<sup>+</sup>) T-cell subset showed nonsignificant change compared to control group (CD8<sup>+</sup>) T-cell subsets showed some increase and total B-cells (CD19<sup>+</sup>) some decrease which were nonsignificant.

---

I) Associate professor of Immunology, Basic Sciences center, Hemmat express way, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran (\*Corresponding author)

II) Assistant Professor of Immunology, Basic Sciences center, Hemmat express way, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Iran. Tehran.

III) Assistant Professor of Dermatology, Research center of dermatology, Tehran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.

IV) Assistant Professor of Dermatology, Razzi hosipital, Tehran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.

V) Professor of Dermatology, Head of research center of Dermatology, Tehran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.

VI) MS in Immunology, Basic Sciences center, Hemmat express way, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.



CD4/CD8 ratio significantly decreased in ACD patients, but showed significant increase in AD patients with Pvalue of < 0.05.

As opposed to total T-Lymphocytes, NK cells (CD 16<sup>+</sup>/56<sup>+</sup>) and (HLA-DR<sup>+</sup>) T-Cells increased significantly (P<0.05).

Total number of WBC significantly increased in ACD group compared to control group (P<0.05). In addition, mean percent eosinophil in AD group showed significant increase (P<0.05), comparing with control Individuals.

The results of this study indicate the involvement of cell - mediated immunity, specially activated T-cells and increased NK cells in this disease.

**Key Words:** 1) Allergic contact Dermatitis      2) Irritable contact dermatitis(ICD)  
3) Atopic Dermatitis (AD)                      4) Cell mediated Immunity (CMI)  
5) Patch Test