

# بررسی و تعیین میزان سلولهای کشنده طبیعی (NK) در خون محیطی افراد سالم در گروههای سنی ۱۸ تا ۶۰ سال در دانشگاه علوم پزشکی ایران

## چکیده

سلولهای کشنده طبیعی (Natural killer cell=NK) با واسطه سیتوتوکسیسیته می‌توانند اهداف خود را بدون وجود آنتی‌ژنهای سازگار نسجی (Major histocompatibility complex=MHC) شناسایی کنند. سلولهای کشنده طبیعی اولین خط دفاعی در از بین بردن سلولهای سرطانی و سلولهای آلوده به ویروس می‌باشند. با توجه به اهمیت سلولهای کشنده طبیعی، این مطالعه با هدف بررسی و تعیین میزان این سلولها (NK) با نشانه  $CD_{16}^{+} + CD_{56}^{+}$  در خون محیطی افراد سالم انجام شد. بدین ترتیب که نمونه‌های خون محیطی از ۵۰۰ داوطلب زن و مرد در گروههای سنی ۱۸-۶۰ سال جمع‌آوری گردید. برای آنالیز نمونه‌ها از روش فلوسایتومتری و آنتی‌بادی مونوکلونال دو رنگی  $CD_{16}^{+} + CD_{56}^{+}$  ضد سلولهای کشنده طبیعی (NK) استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل نتایج، آزمونهای آماری و نرم‌افزار SPSS به کار برده شدند. میانگین سلولهای NK با نشانه  $CD_{16}^{+} + CD_{56}^{+}$  در آقایان  $150.93 \pm 7/02$  و در خانمها برابر با  $130.30 \pm 50.89$  به دست آمد ( $P < 0/05$ ). میانگین میزان سلولهای کشنده طبیعی در گروههای مختلف سنی بدون در نظر گرفتن جنس با کمترین میزان در گروه سنی ۲۱ تا ۴۰ ساله دیده شد که در مقایسه با گروه سنی ۵۱ تا ۶۰ ساله اختلاف معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0/001$ ). بررسی و تعیین سلولهای کشنده طبیعی در خون محیطی نشان دهنده اهمیت جنس، سن و نژاد در ارزیابی و عملکرد سیستم ایمنی می‌باشد. بنابراین از نتایج این مطالعه می‌توان در آزمایشگاههای کشور و مراکز تحقیقاتی جهت ارزیابی بیماریهای عفونی، سرطانها و سایر بیماریها استفاده نمود.

## \*دکتر کبری انتظامی I

## میترا خضرائی II

کلیدواژه‌ها: ۱- افراد سالم ۲- سلولهای کشنده طبیعی ۳- فلوسایتومتری

## مقدمه

میزان این سلولها در مقابله با عفونتها، سرطانها و بسیاری از بیماریهای دیگر نقش اساسی دارد. بنابراین می‌توان با استفاده از آزمایشهای اختصاصی جهت تعیین این سلولها، امکان تشخیص و چگونگی پیشرفت بیماری را فراهم کرد که از نظر بالینی اهمیت زیادی دارد (۴ و ۵).

سلولهای کشنده طبیعی (NK) بخشی از ایمنی ذاتی می‌باشند که عملکرد سیتوتوکسیسیته طبیعی دارند و توسط آن قادر هستند بعضی از سلولهای توموری را از

سلولهای لنفوسیت از مهمترین سلولهای ایمنی بدن می‌باشند که براساس عمل بیولوژیکی به ۳ گروه اصلی (لنفوسیت T، B و NK) تقسیم می‌شوند (۱).

سلولهای کشنده طبیعی (NK) از نظر فنوتیپی از سلولهای لنفوسیت T و B قابل تشخیص هستند بدین ترتیب که فاقد کمپلکس  $CD_{28}^{+} TCR$  (T cell receptor) یا ایمونوگلوبولین سطحی بوده اما نشانه‌های سطحی  $CD_{16}^{+} + CD_{56}^{+}$  را نشان می‌دهند (۲ و ۳).

این مطالعه تحت حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام شده است (شماره ثبت: ۲۲۹) و در ششمین کنگره ایمنی‌شناسی (ایمونولوژی) در تهران سال ۱۳۸۱ ارائه گردیده است.

I) استادیار گروه ایمنی‌شناسی (ایمونولوژی)، مرکز علوم پایه، گروه ایمنی‌شناسی و میکروبی‌شناسی، بزرگراه شهید همت، تهران (\*مؤلف مسئول).

II) کارشناس شیمی محض، بخش میکروبی‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران.

سنی (کودکان، نوجوانان، جوانان و سالمندان) در دو جنس، چندین بار صورت گیرد تا بتوان از مجموع نتایج به دست آمده با روش مشابه، به مقادیر مرجع قابل اعتمادی برای جامعه ایران دست یافت.

### روش بررسی

این مطالعه توصیفی، روی ۵۰۰ داوطلب سالم که بطور تصادفی از میان دانشجویان رشته‌های مختلف، کارمندان و اساتید دانشکده‌ها و بیمارستانهای مختلف وابسته به دانشگاه علوم پزشکی ایران انتخاب شده بودند، انجام شد. ۲۴۱ نفر از این داوطلبان مرد و ۲۵۹ نفر زن بودند و در محدوده سنی ۶۰-۱۸ سال قرار داشتند. در این بررسی افراد در ۴ گروه سنی ۱۸ تا ۳۰ سال (۱۹۳ نفر)، ۳۱ تا ۴۰ سال (۱۴۰ نفر)، ۴۱ تا ۵۰ سال (۱۰۶ نفر) و ۵۱ تا ۶۰ سال (۵۸ نفر) قرار گرفتند. در ابتدا افراد داوطلب پرسش‌نامه‌ای را شامل سوالاتی در مورد سن، جنس، نژاد و بطور کلی وضعیت سلامتی آنها (از نظر ابتلا به بیماریهای عفونی و سایر بیماریها در مدت ۲ ماه قبل از بررسی) کامل می‌کردند. شاخص انتخاب افراد سالم پر کردن پرسش‌نامه (ضمیمه می‌باشد) و انجام آزمایش خون (شمارش گلبولهای سفید و قرمز خون، تعیین درصد لکوسیتها، اندازه‌گیری هموگلوبین و هماتوکریت خون) توسط کارشناس بوده است. افرادی که با توجه به پاسخهای پرسش‌نامه و نتایج آزمایش CBC مشکوک بودند، از مطالعه حذف می‌شدند.

نمونه‌های خون محیطی به میزان ۲ میلی‌لیتر از ورید داوطلبان هر روز صبح در حدود ساعت ۹-۱۱ گرفته می‌شد زیرا براساس تحقیقات صورت گرفته تعداد سلولهای کشنده طبیعی (NK) ریتم روزانه دارد (۱۴). این مطالعه روی افراد سالم انجام شد بنابراین از گروه کنترل استفاده نشده است. قبل از گرفتن خون جهت رعایت نکات اخلاقی از داوطلبان رضایت‌نامه گرفته می‌شد. برای تعیین میزان سلولهای کشنده طبیعی و گردآوری اطلاعات و تجزیه و تحلیل آنها از نرم‌افزارهای نصب شده به دستگاه فلو سائتومتری (روش مطالعه) استفاده گردید.

بین ببردند. توانایی سلولهای کشنده طبیعی (NK) برای تخریب سلولهای توموری تحت تاثیر سایتوکینها نظیر عامل نکروز دهنده تومور (Tumor Necrosis Factor=TNF) اینترلوکین ۲ (IL-۲)، اینترفرون‌ها (IFNs) و اینترلوکین ۱۲ (IL-۱۲) افزایش می‌یابد، بنابراین نقش این سلولها در ایمنی تومور وابسته به تحریک همزمان آنها با سلولهای لنفوسیت و ماکروفاژهایی می‌باشد که این سایتوکینها را ترشح می‌کنند (۸-۶). پاسخ این سلولها محدود به مولکولهای سازگار نسجی (MHC) نمی‌باشد (۹) زیرا سلولهای کشنده طبیعی گیرنده‌های مختلفی (NK<sub>R</sub>) را با عملکردهای متفاوت در جهت فعال سازی یا مهارکنندگی از خود نشان می‌دهند که تعادل بین پیامهای آنها، فعالیت سلولهای کشنده طبیعی (NK) را تنظیم می‌کند (۱۰).

براساس مطالعات انجام شده در دنیا ثابت شده است که در نژادهای مختلف سلولهای ایمنی متفاوت بوده و در ابتلا به بیماریهای مختلف نیز واکنشهای متفاوتی را از خود نشان می‌دهند بطور مثال تعداد سلولهای کشنده طبیعی (NK) در نژاد چینی در مقایسه با نژادهای دیگر بیشتر می‌باشد (۱۱ و ۱۲). با توجه به متغیر بودن این سلولها در جوامع مختلف و تاثیر تنوع نژاد روی آنها، تعیین مقادیر مرجع برای هر جامعه ضروری به نظر می‌رسد. اثرات سن و جنس نیز روی سلولهای کشنده طبیعی (NK) در بعضی از جوامع گزارش شده است (۱۳). با توجه به اهمیت سلولهای کشنده طبیعی (NK) و عملکرد آنها در سیستم ایمنی، دانستن میزان طبیعی آنها در افراد سالم و در گروههای سنی متفاوت در هر جامعه می‌تواند منبع مفیدی برای تشخیص بیماریهای مختلف باشد (با توجه به اینکه پاسخ افراد مختلف به بیماریهای هر جامعه متفاوت می‌باشد). با توجه به مطالب ذکر شده، این مطالعه با هدف تعیین و بررسی میزان سلولهای کشنده طبیعی (NK) خون محیطی افراد سالم در گروههای سنی ۶۰-۱۸ سال در دانشگاه علوم پزشکی ایران به تفکیک جنس و با استفاده از روش فلو سائتومتری انجام شد. لازم به توضیح است که چنین تحقیقاتی باید در سطح گسترده و در گروههای مختلف

## نتایج

شمارش سلولهای کشنده طبیعی (NK) روی ۵۰۰ نمونه خون محیطی از داوطلبان سالم صورت گرفت که نتایج به دست آمده بدین شرح می‌باشد: نتایج حاصل از بررسی و تعیین میانگین میزان سلولهای کشنده طبیعی (NK) با نشانه  $CD_{16}^+ + CD_{56}^+$  برحسب جنس و بدون در نظر گرفتن سن، نشان‌دهنده تفاوت در میزان این سلولها در دو جنس مرد و زن بوده است. همان طور که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود، میانگین سلولهای کشنده طبیعی (NK) در مردان  $15/93$  با انحراف استاندارد  $7/02$  بود در حالی که این میزان در خانمها  $13/30$  با انحراف استاندارد  $5/89$  به دست آمد ( $P \leq 0/05$ ). بنابراین اختلاف بین میزان سلولهای کشنده طبیعی در دو جنس معنی‌دار می‌باشد.

## جدول شماره ۱- میانگین سلولهای کشنده طبیعی

(NK  $CD_{16}^+ + CD_{56}^+$ ) در افراد مورد مطالعه بر حسب جنس

جنس	تعداد	میانگین	انحراف معیار
مرد	۲۴۱	۱۵/۹۳	۷/۰۲
زن	۲۵۹	۱۳/۳۰	۵/۸۹
جمع	۵۰۰	۱۴/۵۷	۶/۵۹

نتیجه آزمون: میزان سلولهای NK در خون محیطی داوطلبان (مرد و زن) توسط تکنیک فلوسایتومتری تعیین گردید. در محاسبه آماری بالاترین میانگین میزان سلولهای مذکور در مردان ( $15/93 \pm 7/02$ ) مشاهده گردید و دارای اختلاف معنی‌داری ( $P \leq 0/05$ ) با میانگین میزان این سلولها در زنان ( $13/30 \pm 5/89$ ) می‌باشد.

بررسی میانگین سلولهای ایمنی مورد بحث در ارتباط با سن نشان دهنده تفاوت فراوانی در گروههای سنی مختلف بوده است (جدول شماره ۲) بطوری که از میان ۴ گروه سنی، بالاترین میانگین میزان سلولهای کشنده طبیعی (NK) با مارکر  $CD_{16}^+ + CD_{56}^+$ ، در گروه سنی ۶۰-۵۱ سال دیده شد ( $15/72 \pm 6/61$ ). گروه سنی ۴۰-۳۱ سال کمترین میزان میانگین این سلولها را دارا بوده است ( $13/97 \pm 6/85$ ). بنابراین اختلاف معنی‌داری در گروههای سنی متفاوت وجود داشت ( $P \leq 0/01$ ). بطور کلی گروههای سنی متفاوت در دو جنس مرد و زن در ارتباط با شمارش سلولهای

جهت آزمایش نمونه‌های خون از آنتی‌بادیهای مونوکلونال کونژوگه با رنگهای فلورسانس F.I.T.C (Fluorescein isothiocyanate) و PE (Phycoerythrin) که آنتی‌بادی  $CD_{16}^+ + CD_{56}^+ + PE$  / F.I.T.C /  $CD_{16}^+$  (نشانه سلولهای NK) نامیده می‌شود و نوع کیت IMK و ساخت شرکت DAKO و Becton Dickinson می‌باشد استفاده شد.  $IgG_1$  و  $IgG_2$  مخلوطی از آنتی‌بادیهای مونوکلونال کونژوگه با F.I.T.C و PE که از موش به دست آمده بود به عنوان کنترل منفی و حذف رنگ‌آمیزی غیراختصاصی به کار برده شد.

در صورت نیاز به نگهداری نمونه‌های خون محیطی از ثابت کننده‌ها استفاده می‌شد. اما بهتر است خون تازه به کار برده شود. برای هر نمونه، از لوله‌های فالتون ( $12 \times 75$  میلیمتر) علامت‌گذاری شده استفاده گردید بدین ترتیب که میزان ۱۰۰ لاند (میکرولیتر) از خون محیطی به لوله حاوی ماده ضد انعقاد، هپارین یا EDTA (Ethylenediamine tetra acetic acide) اضافه می‌شد و پس از اضافه کردن ۲۰ میکرولیتر از آنتی‌بادی مونوکلونال اختصاصی به هر نمونه و مخلوط کردن آنها، لوله‌های حاوی نمونه به مدت ۳۰-۲۵ دقیقه در حرارت آزمایشگاه و مکان تاریک قرار داده می‌شد.

در مرحله بعد محلول رقیق شده لیزینگ به هر یک از لوله‌ها اضافه و به مدت ۳ ثانیه محتویات داخل لوله با هم مخلوط می‌شد و بعد از ۲ نوبت شستشو، بررسی صورت می‌گرفت. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها (تعیین و شمارش سلولها NK در ارتباط با سن و جنس) با استفاده از آزمونهای میانگین  $\pm$  انحراف معیار، t-student و ANOVA و به کارگیری نرم‌افزار SPSS انجام شد و از نظر آماری اختلاف یا عدم اختلاف آنها محاسبه گردید. میزان  $P \leq 0/01$  و  $P \leq 0/05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد. مقیاس سنجش متغیرها، برای سلولهای NK و سن کمی و برای جنس اسمی در نظر گرفته شد. برای جلوگیری از ایجاد اختلال در نتایج از بررسی نمونه‌های مشکوک خودداری گردید.

میزان سلولهای NK در چینی‌ها بیش از قفقازی‌ها بوده و اختلاف معنی‌داری بین آنها وجود دارد ( $P < 0.05$ ) (۱۱ و ۱۲). مردان ایرانی در مقایسه با مردان اهل عربستان سعودی سلولهای NK بیشتری دارند و در این رابطه اختلاف، معنی‌دار می‌باشد ( $P < 0.05$ ). قفقازی‌ها نسبت به عربهای عربستان سعودی میزان بالاتری از سلولهای NK را دارا هستند (۱۷). مطالعه‌ای که روی فیلیپینی‌ها و ایتالیایی‌ها به عنوان نژاد آسیایی و اروپایی انجام شد، نشان داد که میانگین شمارش سلولهای کشنده طبیعی در فیلیپینی‌ها بالاتر از ایتالیایی‌ها است ( $P < 0.01$ ) (۱۸).

بطور کلی براساس مطالعات انجام شده می‌توان گفت که آسیایی‌ها نسبت به سایر نژادها دارای میزان بالاتری از سلولهای NK هستند بنابراین میزان پاسخ ایمنی‌شان به سلولهای آلوده به ویروس و تومورها متفاوت می‌باشد که این مسئله احتیاج به بررسی و تحقیق جداگانه دارد. بالاترین میانگین درصد سلولهای کشنده طبیعی (NK) در گروه سنی ۶۰-۵۱ سال و کمترین میزان این سلولها در گروه سنی ۴۰-۳۱ سال وجود داشت (جدول شماره ۲).

نتایج این پژوهش روی سلولهای کشنده طبیعی نشان داد که میزان این سلولها همراه با افزایش سن تغییر می‌کند و در واقع بین گروههای سنی ده ساله اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید ( $P < 0.01$ ) و نتایج حاصل از بررسیهای دیگر (۱۵) نیز تائید کننده نتایج این بررسی می‌باشد. در صورتی که بتوان نتایج حاصل از تعداد داوطلبان (۵۰۰ نمونه) را به عنوان سهم کوچکی از نژاد ایرانی در نظر گرفت، می‌توان تاثیر نژاد را در میزان سلولهای کشنده طبیعی مشاهده کرد. همچنین باید گفت که سن و جنس با در نظر گرفتن نژاد در شمارش سلولهای مورد بررسی موثر هستند.

باید به این نکته اشاره کرد که چنانچه ایرانی‌ها آسیایی محسوب گردند دارای تفاوتی با سایر نژادهای آسیایی و همچنین سایر نژادها هستند. بنابراین تعیین و شمارش سلولهای کشنده طبیعی (یکی از مهمترین سلولهای ایمنی) در افراد سالم هر نژادی، با استفاده از روش فلوسایتومتری نه

کشنده طبیعی (NK) مطالعه و بررسی شد و میانگین و انحراف استاندارد ( $SD \pm$ ) سلولهای نامبرده تعیین گردید.

#### جدول شماره ۲- میانگین سلولهای کشنده طبیعی

(NK  $CD_{16}^+ CD_{57}^+$ ) در افراد مورد مطالعه بر حسب سن

سن	تعداد	میانگین	انحراف معیار
۱۸-۳۰	۱۹۴	۱۴/۷۸	۶/۶۲
۳۱-۴۰	۱۴۰	۱۳/۹۷	۶/۵۸
۴۱-۵۰	۱۰۷	۱۴/۴۲	۶/۱۱
۵۱-۶۰	۵۹	۱۵/۷۲	۶/۶۱
جمع	۵۰۰	۱۴/۵۸	۶/۵۸

نتیجه آزمون: با استفاده از تکنیک فلوسایتومتری میزان سلولهای کشنده طبیعی (NK) خون محیطی از گروههای سنی متفاوت (۱۸ تا ۶۰ ساله) تعیین گردید. حداکثر میانگین میزان سلولهای NK ( $15.72 \pm 6.61$ ) در گروه سنی ۶۰-۵۱ سال و حداقل میزان این سلولها ( $13.97 \pm 6.58$ ) در گروه سن ۴۰-۳۱ سال با اختلاف معنی‌داری ( $P < 0.01$ ) مشاهده گردید.

#### بحث

در این مطالعه از روش فلوسایتومتری و آنتی‌بادیهای مونوکلونال جهت شمارش و بررسی سلولهای کشنده طبیعی (NK) استفاده شد. همان طور که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود میانگین درصد سلولهای کشنده طبیعی در مردان بیش از زنان می‌باشد ( $P < 0.05$ ). با توجه به اینکه وظیفه سلولهای (NK) از بین بردن سلولهای سرطانی است، می‌توان این مسئله را مطرح کرد که به علت اختلاف در میزان سلولهای NK ابتلا به سرطان در زنان بیش از مردان می‌باشد. البته این مطلب نیاز به مطالعه وسیعی دارد. نتایج این مطالعه توسط محققان کشورهای دیگر روی نژادهای مختلف آسیایی و غیرآسیایی و با تعداد نمونه کمتر، با تاثیر نژاد در میزان شمارش سلولها تائید و گزارش شده است (۱۵ و ۱۶). در نژادهای مختلف نیز میزان متفاوتی از سلولهای NK مشاهده می‌گردد. بطور مثال میزان سلولهای کشنده طبیعی در کل داوطلبان این مطالعه ( $14.57 \pm 6.52$ ) بیش از سلولهای NK در جمعیت قفقازی‌ها ( $14 \pm 6.1$ ) بوده و اختلاف آنها معنی‌دار می‌باشد ( $P < 0.01$ ). از سوی دیگر

10- Lanier LL., NK cell receptors. *Annu. Rev. Immunol*, 1998, 16: 359-393.

11- Reichert T., Debruyere M., Deneys V., Ttermant, lydyard P., Yukschapel H., et al. Lymphocyte subset reference ranges in adult caucasians, *clin immunol immunopathol*, 1991, Aug, 60(2): 190-208.

12- Dhaliwal JS., Balasubramanian T., Quek CK., Gill HK., Nasuruddin B. Reference ranges for lymphocyte subsets in a defined malaysian population, *Singapore Med J.*, 1995 Jun, 36(3): 288-91.

13- Choong ML., Ton SH., Cheong SK., Influence of race, age, and sex on the lymphocyte subsets in peripheral blood of healthy malaysian adults, *Ann Clin Biochem*, 1995, 32: 532-9.

14- Levi FA., Canon C., Blum JP., Reinberg A., Mathe G. Large amplitude circadian rhythm in helper: Suppressor ratio of peripheral blood lymphocyte, *Lancet*, 1983, 11: 462-3.

15- Lighart GJ., Vanvlockhoven PC., schuite HR., Hijmans W. The expanded null cell compartment in aging: Increase in the number of Natural killer and changes in T-cell and NK cell subsets in human blood, *Immunol*, 1993, 59: 353-60.

16- Haward RR., Fasano CS., Freyl J., Miller CM. Reference intervals of lymphocyte subsets in Asian and non-asian populations, *Cytometry*, 1996, 26: 231-232.

17-Shahabuddin S., Quantitative, differences in CD8+ lymphocytes, CD4/CD8 ratio, NK cells, and HLA-DR(+)-activated T cells of racially deffernce male populations, *Clin Immunol Immunopathol*, 1995 may, 75(2): 168-70.

18- Pasqualetti D., Chirardin A., Cafolla A., Biffoni M., Coluzzi S., Vaglio A., et al. Lymphocyte T subsets and Natural killer cells in Italian and philippino blood donors, *Vox Sang*, 2003 Jan, 84(1): 68-72.

تنها در تشخیص بیماریها بلکه در ارزیابی و پاسخ به درمان بیماریها موثر و لازم به نظر می‌رسد(۷).

#### تقدیر و تشکر

بدین وسیله از همکاریهای صمیمانه دکتر سهیلا ارض‌پیما در انجام این پروژه قدردانی می‌گردد.

#### منابع

1- Abbas AK., Lichtman AH., Pober JS. General properties of immune responses. *Cellular and molecular immunology*, 4 th ed., Philadelphia, W.Bsaunders, 2000, PP: 3-16.

2- Loo CK., Quach HT., Gallo J. Diagnosis of Natural killer cell(NK) lymphoma by cytology and flowcytometric immunophenotypic, *Acta cytol*, 2002, 46(5): 877-82.

3- Abbas AK., Lichtman AH., Pober JS. Antigen receptors and accessory molecules of T lymphocytes. *Cellular and molecular immunology*, 3 th ed., Philadelphia, WBSaunders company, 1997, PP: 17-20.

4- Quintanilla Martinez L., Franklin JL., Guerrero I., Krenacs L., Naresh KN., Rama.Rao C., et al. Histological and immunophenotypic profile of nasal NK/T cell hymphomas from peru, *Hum pathol*, 1999 July, 30(7): 849-55.

5- Ling TC., Harris M., Craven NM. Epstein-Barr virus-positive blastoid nasal/Natural killer cell lymphoma in a caucasian, *Br J Dermatol*, 2002 April, 146(4): 700-3.

6- Gaal K., Sun NC., Hernandez AM., Arber DA. Sinonasal NK/T cell lymphomas in the united states, *Am.J.Surg.Pathol*, 2000 Nov, 24(11): 1511-17.

7- Ginarte M., Abalde MT., Peteiro C., Fraga M., Alonso N., Toribio J., Blastoid NK cell leukemia/hymphoma with cutaneous involvement, *Dermatology*, 2000, 201(3):268-71.

8- Trincerhi G. Cytokines acting on or secreted by macrophages during interacellular infection, *curr.opin.immunol*, 1997, 9: 7-25.

9- Rolstad B., Seaman WE. NK cells and recognition of MHC class I Molecules: New perspectives and challenges in immunology, *scand.J.Immunol*, 1998, 47: 412-5.

**STUDY & DETERMINATION OF NATURAL KILLER CELLS IN THE PERIPHERAL BLOOD OF HEALTHY POPULATION OF IRAN UNIVERSITY OF MEDICAL SCIENCES WITHIN DIFFERENT AGE GROUP(18-60 YEARS)**

*I* *II*  
\*K. Entezami, PhD M. Khazrae, BS

**ABSTRACT**

Natural killer(NK) cells are defined as effector cells that have the capacity of spontaneous cytotoxicity toward various target cells and are not major histocompatibility complex(MHC) restricted. NK cells are the first line of immune system defence and serve in surveillance of certain tumor and virus-infected cells. The aim of this study was to determine CD16++CD56+ marker(NK cells) in healthy Iranian population. Peripheral blood samples of 500 male and female subjects, from different age group(18-60 years), were obtained. Flowcytometry technique with dual color monoclonal antibodies (CD16++CD56+) against NK cells was used to analyse the samples. Statistical analysis was done through SPSS software. The mean of CD16+CD56+ was found to be 15.93±7.02 for male and 13.30±5.89 for female population(P<0.05). The mean ranges of NK cells in different age group in the combined population were significantly less in the subjects aged 31-40 years as compared with subjects aged 50-60 years(P<0.001). Study and determination of NK cells in the peripheral blood indicates that sex, age and race should be a consideration in the evaluation of the immune system. Therefore, the results of the present study can be used in Iran laboratories and research centers to evaluate infectious diseases, tumors and other diseases.

**Key Words:** 1) Normal population 2) Natural killer cells 3) Flowcytometry

*This study is conducted under financial support of undersecretary research of Iran University of Medical Sciences.(No:239). It is also presented in the 6th Congress of Immunology in Tehran(2002).*

**I)** Assistant Professor of Immunology, Basic Sciences Center. Immunology Department, Hemmat Highway, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran. (\*Corresponding author)

**II)** BS in Chemistry, Microbiology Section of Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.