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

*دکتر علیرضا سالک مقدم[I]
دکترفرزانه اوسطی آشتیانی[II]
دکتر علیرضا فیروز[III]
دکتر مریم دانش‌پژوه[IV]
دکتر یحیی دولتی[V]
پرویز علائی[VI]

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 هاپتنی 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 آلرژنها مسؤول بروز آلرژی روشی موسوم به PatchTest است. در این تحقیق با استفاده از ۲۳ آلرژن شناخته‌شده موجود در کیت Trolab معروف به "استاندارد اروپایی" بر روی ٤٦ بیمار مشکوک به بیماری تست پوستی انجام شد. پس از ٤٨ ساعت از بیماران cc ٥ 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 ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$) T, ($CD16^+/56^+$) NK, ($HLA\text{-}DR^+$) T CD14/45 و($CD19^+$) B کونژوگه 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، کلریدکبالت، دی کرومات پتاسیم و فرمالدئید بودند. همچنین براساس آنالیز آماری نتایج، سطح IgE در دو گروه

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 ایمنی شناسی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-30]

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 معنی‌دار نبود. سلولهای $B(CD19^+)$ با مختصری کاهش، تغییر معنی‌داری نداشتند. سلولهای $NK(CD16/56^+)$ و $T(HLA-DR^+)$ افزایش معنی‌داری 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 معنی‌دار بود ($p<0/05$). تعداد WBC در درماتیت تماسی آلرژیک و درصد ائوزینوفیلی در درماتیت آتوپیک افزایش معنی‌داری داشت. در مورد سایر متغیرها تغییرات معنی‌دار 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 بی‌نظیر است. این عضو باعث محافظت میزبان در مقابل تهاجم میکروارگانیسمها و آنتی‌ژنهای مختلف می‌گردد و اعمال متعددی چون کنترل درجه حرارت، حفظ تعادل مایعات، تامین حس و حفاظت از آثار زیانبار اشعه ماورای بنفش دارد [۱،۲،۳،۴و۵].

پوست همچنین یک بافت مهم هدف برای واکنشهای آلرژیک و خود ایمن می‌باشد. یکی از بیماریهای پوست درماتیت تماسی (Contact Dermatitis) است. این بیماری ۱۵-۴ درصد موارد بیماریهای پوست را شامل می‌گردد، که به صورت بیماری التهابی اگزماتو در اثر تماس با مواد محرک و آلرژنها محیطی بوجود می‌آید[۴و۶،۷]. از نظر بالینی بیماری به فرمهای حاد، تحت حاد و مزمن و با علایمی چون درد، سوزش، قرمزی، خارش، وزیکول، پاپول، پوسته‌ریزی و لیکنیفیکاسیون (Lichenification) همراه است[۷].

درماتیت تماسی نیمی از بیماریهای شغلی را شامل می‌گردد. ۸۰٪ موارد به صورت درماتیت تماسی تحریکی و در ۲۰٪ موارد به‌صورت درماتیت تماسی آلرژیک بروز می‌نماید[۵]. از نظر ماهیت، درماتیت تماسی نوع آلرژیک، واکنش افزایش حساسیت تاخیری نوع IV (Delayed type hypersensitivity, DTH) وابسته به سلولهای T است [۱،۲،۸،۹،۱۰و۱۱]. این واکنش در اثر تماس با غلظتهای حساس کننده آلرژنهای هاپتنیک (مولکولهای کوچک لیپوفیل با وزن مولکولی کمتر از ۱۰۰۰ دالتون) نفوذ کننده به پوست ایجاد می‌شود [۱۲]. درماتیت تماسی نوع تحریکی با مکانیسم غیر آلرژیک و در اثر غلظت‌های معینی از مواد محرک آزار دهنده پوست و بدون تماس قبلی بوجود می‌آید. براساس نتایج تحقیقات اخیر در زمینه ایمونولوژی و ایمونوپاتولوژی این بیماری، نقش سلولهای T در بروز درماتیت تماسی آلرژیک اثبات شده است [۱۳]. نیز دخالت سلولهای $T(CD8^+)$ و $T(CD4^+)$ دربیوپسی‌های پوستی بخوبی نشان داده شده است[۱۴،۱۵،۱۶و۱۷]. Kondo در سال ۱۹۹۶در 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 می‌کند و نقش سلولها و زیر گروههای لکوسیتی در این بیماران ناشناخته است[۸،۹]. 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

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-30]

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 ٤٦ بیمار مشکوک به درماتیت تماسی آلرژیک و نیز از ٣٦ نفر از افراد سالم فاقد هر گونه بیماری، به عنوان گروه شاهد نمونه برداری شد. بیماران مورد مطالعه از میان مراجعین به درمانگاههای تخصصی آلرژی 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 ـ بیماران مشکوک به درماتیت تماسی آلرژیک با استفاده از آلرژنهای کیت تجارتی Trolab ساخت آلمان که به عنوان "استاندارد اروپایی" نامیده می‌شود و حاوی ٢٣ آلرژن مختلف شناخته شده است مورد آزمایش قرار گرفتند[١٩]. نتایج پس از ٤٨ و ٧٢ ساعت خوانده شد و نوع آلرژن و نتایج حاصل از Patch Test در جدول مخصوص ثبت شد.

روش ELISA ـ ٤٨ ساعت بعد از Patch Test حدود 5cc خون وریدی افراد مورد مطالعه تهیه و جهت اندازه‌گیری سطح IgE حدود 3cc سرم از هر بیمار در لوله‌های هموليز جمع‌آوری شد و با استفاده از کیت "RADIM" ساخت کشور ایتالیا و دستگاه ELISA reader مورد بررسی و مقایسه قرار گرفتند.

فلوسیتومتری (Flowcytometry) ـ از بیماران و گروه کنترل 2cc خون تهیه شد و در داخل لوله‌های حاوی EDTA ریخته شد. ابتدا برروی تمام نمونه‌ها 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 مارکرهای 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 کونژوگه با FITC $HLA\text{-}DR^+$ $(CD16^+/56^+)$,$CD4^+$,$CD3^+$, (فلورسین ایزوتیوسیانات) وPE (فیکواریترین) استفاده شد[١٧،٢٠]. نتایج حاصل از آزمایشهای بیماران و گروه کنترل با استفاده از برنامه آماری SPSS مورد آنالیز قرار گرفت. در این آنالیز از آزمونهای F-Test یا آنالیز واریانس یک طرفه و Chi-Square (X^2) استفاده شد.

نتایج

١- از بین ٤٦ بیمار مشکوک به درماتیت تماسی PatchTest شدند، ٣٠ 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 ١٦ نفر که تست پوستی منفی داشتند، ٤ نفر با توجه به سطح IgE، معاینات بالینی، تاریخچه و پرسشنامه، به عنوان گروه درماتیت آتوپیک (AD) و ١٢ نفر دیگر تحت گروه درماتیت تماسی تحریکی (ICD) مورد مطالعه قرار گرفتند.

٢- شایعترین آلرژنها براساس نتایج PatchTest به ترتیب شامل نیکل، کلرید کبالت، دی کرومات پتاسیم و فرمالدئید بود (جدول شماره ١).

٣- از نظر سن با وجود این که بیشتر افراد تحت مطالعه در گروه سنی ٤٠-١٥ سال قرار داشتند اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

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

٥- 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 می‌شدند. از نظر شدت ضایعات، ١٩/٦٪ بیماران در مرحله حاد، ٥٨/٧٪ موارد در مرحله تحت حاد و ٢١/٧٪ در مرحله مزمن قرار داشتند. در این میان دستها با ٣٩/١٪ بیشترین موارد ابتلا را به خود اختصاص داده، نیز گاهی چند ناحیه تواماً گرفتار بودند. به عنوان مثال دستها و ساعد، که حدود ١٥٪ ضایعات را تشکیل می‌دادند (جدول شماره ٢).

٦- افزایش میانگین مقدار IgE تام سرم در گروه AD (٦٢٤/٥ ±٣١٢ IU/ml) درمقایسه با گروهACD (٩١/٧ ±١٦/٧ IU/ml) و گروه ICD (٩٤/٣ ± ٢٥/٨ IU/ml)، همچنین در مقایسه با گروه کنترل (٦٦/٥ ± ١١/٣ IU/ml) معنی دار بود ($p<0/001$).

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-30]

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

شماره آلرژن	نام آلرژن (استاندارد اروپائی)		تعداد بیماران مورد مطالعه مشکوک به ACD	تعداد موارد مثبت در ۳۰ نفر با تشخیص قطعی ACD	درصد
۱	Nickel-sulfate.6.H2o	٪۱	٤٦	n = ۹	۳۰
۲	Cobalt-Chloride	٪۱	"	n = ۸	۲٦/٦
۳	Formaldehyde	٪۱	"	n = ٦	۲۰
٤	Potasium-Dichromate	٪۰/۵	"	n = ٦	۲۰
۵	Thiuram. Mix	٪۱	"	n = ۵	۱٦/٦
٦	Wool - Alchol	٪۳۰	"	n = ۵	۱٦/٦
۷	Balsame of peru	٪۲۵	"	n = ۳	۱۰
۸	N-isopropyl-N-Phenyl-PPD	٪۰/۱	"	n = ۳	۱۰
۹	Parabn-mix	٪۱٦	"	n = ۳	۱۰
۱۰	Fragranc mix	٪۸	"	n = ۳	۱۰
۱۱	Clipquinol	٪۵	"	n = ۲	٦/٦
۱۲	Quaterium - 15	٪۱	"	n = ۲	٦/٦
۱۳	Neomycine - Sulphate	٪۲۰	"	n = ۱	۳/۳
۱٤	Parateriarybotyl - Phenol Formaldehyde - Resin	٪۱	"	n = ۱	۳/۳
۱۵	Epoxy Resin	٪۱	"	n = ۱	۳/۳
۱٦	Mereapto mix	٪۱	"	-	-
۱۷	Colophony	٪۵	"	-	-
۱۸	Benzocain	٪۵	"	-	-
۱۹	Paraphenylene diamin freebase		"	-	-
۲۰	5-chlora-Isotiazolin	٪۰/۰۱	"	-	-
۲۱	Mercaptobenzole	٪۲	"	-	-
۲۲	Sesquterpene, Lactone	٪۰/۱	"	-	-
۲۳	Primin	٪۰/۰۱	"	-	-

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

گروهها / پارامترهای ایمنی	کنترل n= ۳٦	بیماران (n= ٤٦) درماتیت تماسی آلرژیک(n=۳۰)	درماتیت تماسی تحریکی (n=۱۲)	درماتیت آتوپیک(n=٤)	نتیجه آماری
(CD3⁺)Tcells%*	۷۲/٤±۷/۳(۲۰۰۹±۳۹۳)	۷۵±۸/۲(۲۱۱۰±۳۸۵)	۷۳/۱±۸/۹(۲۱۰۹±۵۲۷)	۷٤±۱۰(۲۰۵۵±۳۸۵)	معنی دار نیست
(CD3⁺-CD4⁺)T%	٤٤/۲±۷/۹(۱۲٤۷±۲٤٤)	٤٦/۵±۷/۸(۱۲۰۸±۲۲۰)	٤۵/۹±٦/۸(۱۲۷٦±۳/۱۸)	٤۷/۲±٦/۲(۱۰۹۵±۲۲۰)	معنی دار نیست
(CD3⁺-CD8⁺)T%	۳۳/٦±٦/۳(۹۹۱±۱۹٤)	٤۱/۹±۷/٦(۱۲۰۳±۲۱۹)	۳۵/۲±۵/۷(۱۱۲۳±۲۸۰)	۲۸±۳/۸(۱۱۳۵±۲٦۵)	معنی دار نیست
(CD4.CD8)Ratio	۱/۵۰±۰/٤۷	۱/۱۵±۰/۳۵	۱/۲۲±۰/٤۵	۱/٦۳±۰/۵۲	معنی دار (p<۰/۰۵)
(CD3⁺-HLA-DR⁺)T%	۹±٦(۲۳۰±٤۵)	۱٦±۱۱/۵(۳۲۲±۵۸)	۱۱/٤±٤(۲۹٤±۷۳)	۱۱±۵/۵(۳۲۰±۵۹)	معنی دار (p<۰/۰۵)
(CD3⁻ - CD16/56⁺)NK%	۱٤/۷±۷/۸(٤۰۰±۷۸)	۲۰/٦±۸/۲(٤۷٤±۸٦)	۱٦/۳±۷/۲(٤۷٦±۱۱۹)	۱٦±۸(۵۲۹±۹۱)	معنی دار (p<۰/۰۵)
(CD3⁻ - CD19⁺)B%	۱۲/٦±۳/۱(۳۲۵±٦۳)	۱۰/۷±۳/۷(۲۸۰±۵۱)	۱۰/۸±۳/٤(۳۱۵±۷۹)	۱۳±٤/۵(۳۲٦±٦۸)	معنی دار نیست
Sum (T+B+NK)%	۱۰۰±۳/٤	۱۰۲±۱۱/۵	۹۹/٤±٤/٤	۱۰۳±۷/۵	معنی دار نیست
WBC. $10^3/mm^3$	٦/۵±۱/۵	۸/۰٦±۱/۹۹	۷/۷±۱/۹۹	٦/٦±۱/۵	معنی دار (p<۰/۰۵)
Eosinophils%	۲/۲±۰/٤	۳/۲±۰/٦	۲/۸±۰/۸	۵/۵±۲/۷	معنی دار (p<۰/۰۵)
Lymphocytes%	۳۵/٤±٦/۵	۳۸/۲±٦/۷	۳٦/۷±۷	۳۷/۷±۸/۲	معنی دار نیست
Total IgE (Iu/ml)	٦٦/۵±۱۱/۳	۹۱/۷±۱٦/۷	٦٤/۳±۲۵	٦۲٤±۳۱۲	معنی دار (p<۰/۰۵)

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

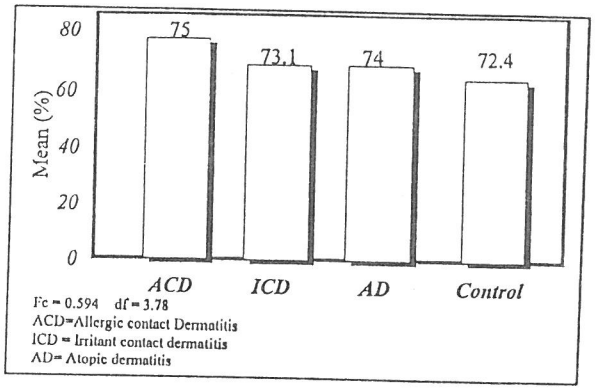
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-30]

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

۷- نـتایج حاصـل از آنالیز فلوسیتومتری با استفاده از نرم افزار Simulset و محدود کردن لنفوسیت‌ها در gate لنفوسیتی و اسـتفاده از نمودارهای سیتوگرام، (dotplot) و هیستوگرام به صـورت میـانگین درصـد و قـدر مطلق سلولها بدست آمد که نتایج آماری حاصل از آن بدین صورت بود.

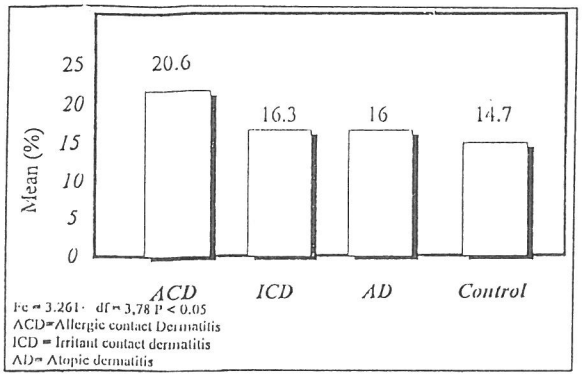
- سـلولهای ($T(CD3^+)$، $T(CD4^+)$ در گـروه درمـاتیت تماسی آلرژیک تغییرات چندانی نسبت به گروه کنترل نداشتند. در گـروه آتوپیـک سـطح ایـن سلولها اندکی بالاتر بود لیکن، معنی‌دار نبود (جدول شماره ۲).

- میـانگین درصـد سـلولهای ($T(CD8^+)$ در گروه ACD افـزایش و در گـروه AD کـاهش نشـان داد. بـا توجه به این تغییرات، نسبت سلولهای $CD4^+/CD8^+$ در گروه AD کاهش و درگـروه ACD افـزایش داشت کـه در هر دو مورد تغییرات معنی دار بود ($p< ۰/۰۵$) (جدول شماره۲)، (نمودار شماره۱).

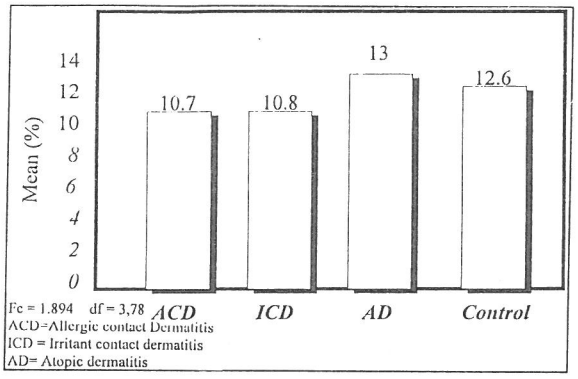


نمودار شماره ۱- معدل نسبت ($CD4^+/CD8^+$) در گروه کنترل و بیمار

سـلول‌های($T(HLA-DR^+)$و ($NK (CD16^+/56^+)$ در گـروه ACD افزایش داشتند، و این افزایش معنی دار بـود ($p<۰/۰۵$). میزان سـلولهای ($B(CD19^+)$ کـاهش مختصری نسبت به سطح شاهد داشـت ولی اختلاف معنی دار نبود (جدول شماره ۲)، (نمودار شماره ۲)، (نمودار شماره ۳).

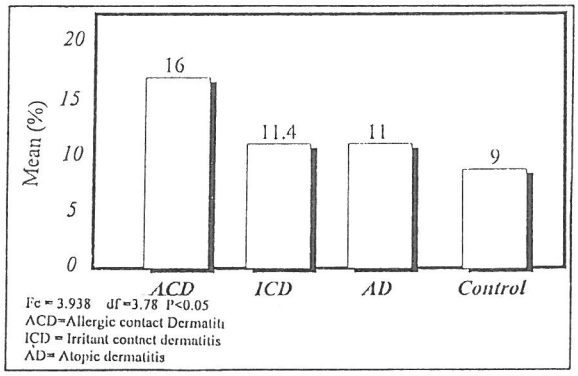


نمودار شماره۲- درصد سلولهای($NK(CD16^+/56^+)$ در گروه کنترل و بیمار



نمودار شماره۳- درصد سلولهای $B(CD19^+)$ در گروه کنترل و بیمار

- در تجـزیه و تحـلیل نـتایج در سه مرحله حاد و مزمن، سـطح سـلولهای NK در مرحله حاد بیماری و$T(HLA-DR^+)$ در تمـام مـراحل بیمـاری افـزایش داشت. خصوصاً در مرحله مـزمن بیماری که این افزایش معنی دار بود ($p<۰/۰۵$) (جدول شماره ۲) (نمودار شماره ٤).



نمودار شماره ۴- درصد سلولهای $T(HLA-DR^+)$ در گروه کنترل و بیمار

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-30]

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 شماره۲).

بحث

چنانچه اشاره شد پاسخ ایمنی در بیماری درماتیت تماسی آلرژیک براساس ایمنی سلولی می‌باشد. نتایج پژوهشهای انجام شده جهت بررسی سلولهای ایمنی و زیر گروههای 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 نمی تواند 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 آلرژی 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 نواحیی که در تماس مستقیم با مواد آلرژن بودند مثل دستها، صورت، پاها و بازو بیشتر دچار ضایعات بودند.

۳- میانگین مقادیرIgE سرم بیماران در گروه ACD و ICD 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.

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.

٤- 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 $T(HLA\text{-}DR^+)$ 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-γ, NF-α و IL-1 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-5, Il-6, IL-10, IL-13 و IL-4 بوده که باعث واکنش آلرژی 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 معنی‌داری را نشان داد.

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

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

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-30]

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 $CD8^+$ 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 $CD8^+$ cell-mediated delayed type hypersensitivity" J.allergy and clinical immunology; 1999; 103(2); PP: 192-199.

11- Belsito. D. V, "Allergic contact dermatitis", cutaneus medicine and surgery; 1993; vol: 1, chapter 119; PP: 1531-1542.

12- Bour. H, Horand. F, Krasteva. M, Nicolas . J.F, "Role of $CD4^+$ T cells and of the $CD4^+$ molecule in contact sensitivity" J. invest Dermatol, 1997; 108(5); PP: 811-812.

13- Ohta .K, Yamashita .N. "Apoptosis of eosinophils and lymphocytes in allergic inflamation" 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, Farichild. R.L "Development of effector $CD8^+$ T cells in contact hypersensitivity occurs independently of $CD4^+$ 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 $CD8^+$ 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.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-30]

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 [I] F. Osati-Ashtiani Ph.D [II] A. Firooz MD [III]
M. Danesh pazhooh MD [IV] Y. Dowlati MD [V] P. Alaei [VI]

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 Europen srandard 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, ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$) T, ($CD\ 16^+$ / $CD\ 56^+$) NK, (HLA - DR^+) T and ($CD19^+$) 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 ($CD3^+$) and ($CD4^+$) T-cell subset showed nonsignificant change compared to control group ($CD8^+$) T-cell subsets showed some increase and total B-cells ($CD19^+$) some decrease which were nonsignificant.

*I) Associate professor of Immunlogy, 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.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-30]

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 $16^{+}/56^{+}$) and (HLA-DR^{+}) 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**

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-09-30]