مجله علمی سازمان نظام پزشکی جمهوری اسلامی ایران، دوره ۲۷، شماره ٤، زمستان ۱۳۸۸: ٤٥٥-٤٤٩

● **مقاله تحقیقی** کد مقاله: ۰۴۳

تأثیر مصرف سیگار بر سلول‌های کشنده طبیعی (NK) خون محیطی

دکتر کبری . ز . انتظامی ۱*
دکتر حسن خوش‌چشمان ۲
پریوش دانش ۳

۱- دانشیار گروه ایمونولوژی دانشگاه علوم پزشکی ایران
۲- پزشک عمومی، پژوهشگر
۳- کارشناس علوم آزمایشگاهی، پژوهشگر

* **نشانی نویسنده مسؤول:** تهران، اتوبان همت، دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده علوم پایه پزشکی، بخش ایمونولوژی

تلفن: ۰۲۱-۲۲۰۹۳۲۵۳ و ۰۲۱-۸۸۰۵۸٦۵۲

نشانی الکترونیکی: entezami189@yahoo.com

چکیده

زمینه: مصرف سیگار در میزان شمارش سلول‌های سفید خون (W.B.C) و سلول‌های کشنده طبیعی (NK) انسان و حیوانات تأثیرگذار می‌باشد. سلول‌های کشنده طبیعی (NK) قسمتی از ایمنی ذاتی و اولین خط دفاعی سیستم ایمنی در مقابله با انواعی از تومورها و سلول‌های آلوده به ویروس می‌باشد.

هدف از این مطالعه بررسی اثر استفاده دائم از سیگار روی $CD16^{+} + CD56^{+}$ سلول‌های کشنده طبیعی (NK) خون محیطی در جمعیت داوطلب سالم ایرانی، در گروه‌های سنی ٦۰-۱۸ سال می‌باشد.

روش کار: جمعیت مورد مطالعه شامل ۳۵ مرد سیگاری که به طور دائم سیگار مصرف می‌کردند و ٤۰ مرد غیر سیگاری می‌باشند. نمونه‌های خون محیطی لخته نشده توسط آنتی‌بادی‌های مونوکلونال ضد $CD16^{+} + CD56^{+}$ سلول‌های NK رنگ‌آمیزی و سپس نمونه‌ها توسط فلوسایتومتری جهت بروز و شمارش مارکرهای ذکر شده بررسی و یافته‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS آنالیز گردید.

یافته‌ها: سیگاری‌ها به طور معنی‌داری دارای میزان کمتری از سلول‌های NK، $CD16^{+} + CD56^{+}$ در مقایسه با افراد غیر سیگاری که هرگز نکشیده بودند داشتند ($P \leq ۰/۰۱$). همین‌طور سلول‌های NK در افراد سیگاری در گروه سنی ٤۰-۱۸ سال و در مقایسه با افراد سیگاری گروه سنی ٦۰-٤۱ کاهش داشتند ($P < ۰/۰۱$).

نتیجه‌گیری: ۱- مصرف سیگار با توجه به فعالیت سلول‌های NK، احتمالاً در جوان‌ها بیشتر از سنین بالا مؤثر می‌باشد.

۲- کمبود کمی سلول‌های NK در این جمعیت کمک به افزایش ریسک بدخیمی‌ها و عفونت‌های ویروسی می‌کند.

واژگان کلیدی: افراد سالم سیگاری، سلول‌های کشنده طبیعی (NK)، فلوسایتومتری

تاریخ دریافت مقاله: ۸۷/۱۰/۱ تاریخ اصلاح نهایی: ۸۸/۱۱/۱۳ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۸/۵/۵

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

مصرف سیگار باعث تضعیف و تغییرات در سیستم و پاسخ‌های ایمنی می‌گردد. ریسک عفونت‌ها را افزایش می‌دهد و باعث بیماری‌های مختلف از جمله سرطان‌ها، بیماری‌های قلبی و ریوی و در نتیجه کاهش پاسخ ایمنی و نهایتاً منجر به مرگ بسیاری از افراد می‌گردد [۳-۱]. در سیگار بیش از ۵۰ نوع کارسینوژن مشخص گردیده که به بروز بیماری‌های مختلف کمک می‌کند [۴].

مصرف سیگار باعث بالا بودن میزان سلول‌های سفید خون (WBC) و افزایش شمارش لنفوسیت‌های در گردش می‌گردد [۵]، سیگار باعث کاهش فعالیت سلول‌های کشنده طبیعی (NK) می‌شود سلول‌های NK نقش دفاعی دارند و باعث انهدام انواعی از سلول‌های سرطانی و سلول‌های آلوده به ویروس می‌گردد [۶]. به‌طور کلی، لنفوسیت‌ها مهم‌ترین سلول‌های ایمنی بدن می‌باشند که بر اساس عمل بیولوژیکی به سه گروه اصلی (لنفوسیت B,T و NK) تقسیم می‌شوند. سلول‌های کشنده طبیعی (NK)، سلول‌های مورد بررسی در این پژوهش از نظر فنوتیپی از سلول‌های لنفوسیت T و B قابل تشخیص هستند، بدین ترتیب که فاقد کمپلکس $CD3^+$ TCR (T cell receptor) یا ایمونوگلوبولین سطحی بوده اما مارکرهای سطحی $CD16^+ + CD56^+$ را نشان می‌دهد [۷]. سلول‌های کشنده طبیعی (NK) به عنوان اجزای سیستم ایمنی ذاتی در نظر گرفته می‌شوند و عملکرد سایتوتوکسیسیته طبیعی دارند. میزان سلول‌های مختلف ایمنی در افراد سیگاری با توجه به گروه‌های سنی و نوع جنس در نژادهای مختلف توسط بسیاری از محققان بررسی و تعیین شده است [۵و۸]. از نتایج به دست آمده با توجه به نژادهای مختلف در دنیا ثابت شده است که میزان سلول‌های ایمنی در افراد با نژادهای مختلف متفاوت می‌باشد که در نتیجه در ابتلاء به بیماری‌های مختلف نیز واکنش‌های متفاوتی را از خود نشان می‌دهند، به طور مثال تعداد سلول‌های کشنده طبیعی (NK) در نژاد چینی در مقایسه با نژادهای دیگر بیشتر است [۱۰و۹]، که احتمال ابتلاء به نوعی از سرطان‌ها در این نژاد متفاوت از سایر نژادها می‌باشد. بنابراین می‌توان با استفاده از تکنیک فلوسایتومتری و آزمایش‌های اختصاصی امکان تشخیص و چگونگی تغییرات سلول‌های NK را در افراد سیگاری و غیر سیگاری فراهم کرد، زیرا از نظر بالینی اهمیت زیادی دارد و می‌تواند باعث پیشگیری از بیماری‌های مختلف در نتیجه مصرف سیگار گردد. با توجه به مطالب ذکر شده، انجام این مطالعه با هدف تعیین و بررسی میزان سلول‌های کشنده طبیعی (NK) خون محیطی داوطلبان سالم در گروه‌های سنی متفاوت ۶۰-۱۸ سال در دو گروه سیگاری و غیر سیگاری و با استفاده از روش فلوسایتومتری در دانشگاه علوم پزشکی ایران ضروری به نظر رسید.

مواد و روش‌ها

این مطالعه روی خون محیطی ۷۵ داوطلب مرد سالم در دو گروه ۳۵ نفر سیگاری و ۴۰ نفر غیر سیگاری با گروه‌های سنی متفاوت ۶۰-۱۸ سال جهت بررسی میزان سلول‌های کشنده طبیعی (NK) در افراد ذکر شده در دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام گرفت. قبل از اقدام به خونگیری ابتدا هدف و نحوه انجام پژوهش به کلیه داوطلبان توضیح داده شد سپس پرسش نامه‌هایی در اختیار داوطلبین قرار دادیم تا اطلاعات اولیه در مورد سن، جنس، نژاد، محل زندگی، وضعیت تغذیه، مصرف سیگار، دارو (هر نوع دارو، الکل)، وضعیت سلامتی از نظر ابتلاء به بیماری‌های عفونی و سایر بیماری‌ها در مدت دو ماه قبل از بررسی کامل کنند، جهت رعایت اخلاقی از داوطلبان رضایت نامه دریافت گردید.

بر اساس گروه‌بندی، نمونه‌های خون محیطی به میزان ۲ میلی‌لیتر از ورید داوطلبان هر روز صبح بین ساعت ۱۱-۹ گرفته می‌شد، زیرا بر اساس تحقیقات صورت گرفته یک ریتم شبانه‌روزی در تعداد سلول‌های لنفوسیت و سلول‌های کشنده طبیعی (NK) وجود دارد [۱۱].

ابتدا برای تأیید سلامتی و تعیین فاکتورهای هماتولوژی افراد مورد بررسی، آزمایش کامل (CBC) یا آزمایش خون بر روی میزان معینی از نمونه‌های خون توسط کارشناس انجام گرفت. افرادی که با توجه به پاسخ‌های پرسش‌نامه و نتایج آزمایش C.B.C مشکوک بودند، از مطالعه حذف می‌شدند. برای آزمایش نمونه‌های خون از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال کونژوگه با رنگ‌های فلورسانس F.I.T.C (Fluorescein isothiocyanate) و PE (Phycoerythrin) که آنتی‌بادی - $CD3^+$ FITC/$CD16^+ + CD56^+$ + PE (نشانه‌های سلول‌های NK) نامیده می‌شوند استفاده گردید. کنترل شامل IgG1 و IgG2 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 غیر اختصاصی به کار برده شد. آنتی‌بادی‌های ذکر شده از نوع کیت IMK-Lymphocyte و از شرکت Bcton Dickinson استفاده گردید. به منظور جلوگیری از انعقاد خون برای هر نمونه داخل لوله‌های فالکون (۱۲×۷۵ میلی‌متر) و

Archive of SID
www.SID.ir

علامت‌گذاری شده ۲۵۰ میکرولیتر EDTA (Ethylenediamine tetra -acetic acid) درصد ریختم. سپس ۱۰۰ لاندا (میکرولیتر) از خون محیطی به هریک از لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد اضافه و پس از آن ۲۰ میکرولیتر از آنتی‌بادی مونوکلونال اختصاصی به هر نمونه اضافه نمودیم و بعد از مخلوط کردن، لوله‌های حاوی نمونه به مدت ۳۰ دقیقه در حرارت آزمایشگاه و در مکان تاریک قرار داده شده تا آنتی‌بادی‌های مونوکلونال (Fluorochrome-Labelled-antibodies) به صورت اختصاصی به سطح سلول‌های مربوطه متصل گردد. سپس، محلول رقیق شده لیزینگ به هر یک از لوله‌ها اضافه و به مدت ۳ ثانیه محتویات لوله مخلوط و بعد از ۲ نوبت شستشو بلافاصله جهت آنالیز توسط دستگاه فلوسایتومتری آماده گردید. اطلاعات در جداول تهیه شده ثبت و سپس وارد کامپیوتر شده و مورد آنالیز توصیفی قرار گرفت در ادامه با استفاده از آزمون‌های میانگین انحراف معیار (± SD) و Student's t-test و به منظور مقایسه میانگین‌ها از آزمون ANOA داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت، سپس نتایج آماری در سطح ($P < ۰/۰۵$) مقایسه شدند.

یافته‌ها

تأثیر سیگار بر روی سلول‌های کشنده طبیعی (NK) با مارکرهای $CD16^+ + CD56^+$ در افراد سیگاری و غیر سیگاری مورد ارزیابی قرار گرفت. در این مطالعه، از رنگ‌آمیزی ایمونوفلورسانس دو رنگی (dual color)، با استفاده از تکنیک فلوسایتومتری برای شمارش سلول‌های NK روی ۷۵ نمونه خون محیطی از داوطلبان سالم سیگاری و غیرسیگاری در سنین متفاوت استفاده گردید. تعیین افراد سیگاری براساس مصرف تعداد سیگار در روز و محاسبه آن در یک‌سال می‌باشد (استفاده بیشتر از ۵۰ پاکت و هر پاکت ۲۰ نخ سیگار در سال را به عنوان سیگاری سنگین یا عادتی در نظر گرفتیم [۱]. نتایج حاصل از میانگین میزان سلول‌های NK، $CD16^+ + CD56^+$ در دو گروه سیگاری و غیرسیگاری و بدون در نظر گرفتن سن آنها نشان‌دهنده تفاوت در میزان این سلول‌ها در دو گروه می‌باشد. همان‌طور که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود، میانگین سلول‌های کشنده طبیعی (NK) در مردان سیگاری ۱۴/۱۱ با انحراف استاندارد ۵/۸۷ ± بود در حالیکه این میزان در غیرسیگاری‌ها ۱۵/۸۶ با انحراف استاندارد ۶/۹۲ ± به دست آمده ($P \leq ۰/۰۰۱$). این نتایج نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میزان سلول‌های نامبرده در مردان سیگاری و غیرسیگاری می‌باشد. نتایج حاصل از شمارش سلول‌های کشنده طبیعی (NK) با مارکرهای $CD16^+ + CD56^+$ در خون محیطی دو گروه سیگاری و غیرسیگاری در ارتباط با گروه‌های سنی متفاوت در جدول شماره ۲ نشان‌دهنده تغییرات میزان سلول‌های NK می‌باشد. در افراد سیگاری و در گروه سنی ۴۰-۱۸ کاهش این سلول‌ها در مقایسه با غیرسیگاری‌ها مشاهده می‌گردد. در حالی که میانگین میزان این سلول‌ها در سیگاری‌ها ۶/۵۸ ± ۱۳/۵۰ می‌باشد. این کاهش در گروه سنی ۶۰-۴۱ سال در سیگاری‌ها برابر با ۶/۳۰ ± ۱۳/۰۵ به‌طور کلی کاهش سلول‌های NK در سیگاری ها در مقایسه با غیر سیگاری‌ها مشاهده می‌گردد.

با توجه به نتایج به دست آمده بالاترین میانگین میزان سلول‌های کشنده طبیعی (NK) با مارکرهای $CD16^+ + CD56^+$ در سیگاری‌ها در گروه سنی ۶۰-۴۱ سال دیده می‌شود. آزمون آماری نیز بیانگر اختلاف معنی‌داری در دور گروه سنی متفاوت می‌باشد ($P \leq ۰/۰۱$).

بحث و نتیجه‌گیری

استعمال دخانیات مهم‌ترین علت قابل پیشگیری مرگ در جهان شناخته شده است. دود ناشی از استعمال دخانیات نه تنها موجب زیان‌های جسمی و روحی در مصرف‌کنندگان می‌شود بلکه موجب آسیب رساندن به افراد در معرض این دود می‌گردد.

مصرف سیگار روی سلول‌های کشنده طبیعی (NK) خون محیطی افراد سالم در جدول ۱ نشان می‌دهد، میزان سلول‌های NK، $CD16^+ + CD56^+$ در دو گروه سیگاری و غیر سیگاری و با استفاده از آزمون آماری بیانگر اختلاف معنی‌دار میانگین در صد کاهش این سلولها می‌باشد ($P < ۰/۰۵$). عملکرد سلول‌های لنفوسیت T و NK باعث انهدام انواعی از سلول‌های بدخیم و عفونت‌های میکروبی به خصوص ویروسی می‌گردد [۱۲] لذا، کاهش این سلول‌ها در بدن و فراهم بودن سایر فاکتورهای دخیل در بیماری احتمال استعداد ابتلاء به بیماری‌ها را افزایش می‌دهد [۴]. محققان کشورهای مختلف مطالعات و آنالیزهای متفاوتی جهت تأثیر نژاد در میزان و شمارش سلول‌های مختلف ایمنی را در بیماری‌های مختلف در نژادهای آسیایی و غیر آسیایی انجام داده‌اند (۱۷-۱۳ و ۱۰). تأثیر نژاد در میزان، شمارش سلول‌های NK با توجه به فاکتورهای مختلف از جمله جنس و سن در افراد سیگاری و غیرسیگاری سالم در نژادهای مختلف متفاوت گزارش شده است (۸و۵). به عنوان مثال

Archive of SID

www.SID.ir

میزان سلول‌های کشنده طبیعی (NK) در چینی‌های نرمال غیر سیگاری بیش از قفقازها بوده (۱۰و۹) و اختلاف معنی‌داری بین آنها وجود دارد (۰/۰۵ > P). مردان ایرانی غیر سیگاری سالم در مقایسه با مردان اهل عربستان سعودی سلول‌های NK بیشتری دارند (۰/۰۵ > P)، در حالی که این تفاوت در دو گروه ذکر شده و سیگاری، کاهش سلول‌های کشنده طبیعی (NK) مشاهده می‌گردد [۱۸]. مطالعه‌ای که روی فیلیپینی‌ها و ایتالیایی‌ها به عنوان نژاد آسیایی و اروپایی انجام شده نشان می‌دهد که میانگین شمارش سلول‌های NK در فیلیپینی‌ها بالاتر از ایتالیایی می‌باشد (۰/۰۱ >P)، [۱۹]. براساس یافته‌های ذکر شده می‌توان گفت که آسیایی‌ها نسبت به سایر نژادها دارای میزان بالاتری از سلول‌های NK هستند که نشان‌دهنده میزان پاسخ ایمنی شان به سلول‌های آلوده به ویروس‌ها، تومورها و سایر بیماری‌ها در هر جامعه متفاوت می‌باشد که می‌طلبد مطالعات بیشتری صورت گیرد. نتایج گزارش شده در جدول ۱، کاهش میزان سلول‌های NK در سیگاری‌ها را نشان می‌دهد. که این میزان کاهش در مقایسه با نتایج مطالعات دیگر محققان قابل قیاس می‌باشد [۲۰و۱۸]. متأسفانه کاهش سلول‌های NK اثرات مخرب و طولانی روی سیستم ایمنی دارد، حتی سالیان بعد از ترک سیگار (۵-۲ سال) این تأثیر ادامه می‌یابد تا میزان سلول‌های NK در مقایسه با افرادی که هرگز سیگار مصرف نکرده‌اند به حالت طبیعی برگردد [۲۱و۲۲].

در جدول شماره ۲ مشاهده می‌گردد، سلول‌های کشنده طبیعی (NK) در ارتباط با گروه‌های سنی متفاوت تغییر می‌کند، و اختلاف معنی‌داری (۰/۰۱ > P) در ارتباط یا شمارش سلول‌های NK بین دو گروه سنی در افراد سیگاری و غیرسیگاری وجود دارد. که با دیگر مطالعات هماهنگی دارد [۲۳و۵].

با توجه به تعداد نمونه‌هایی که در این مطالعه در ارتباط با جنس (مذکر) و سن انجام شده، می‌توان به عنوان سهم کوچکی از ملیت ایرانی را در نظر گرفت که با مقایسه دیگر نژادها مورد بحث قرار گیرد. لازم به ذکر است که فاکتورهای متعددی می‌تواند باعث تغییر مکانیسم‌های تأثیر سیگار بر روی سیستم ایمنی قرار گیرد که در این صورت احتیاج به مطالعه گسترده‌تری دارد.

بر اساس اطلاعات موجود تاکنون این مطالعه در ایران انجام نشده است و حائز اهیمت می‌باشد زیرا سلول‌های کشنده طبیعی (NK) یکی از مهم‌ترین سلول‌های ایمنی بدن می‌باشد. بنابراین با استفاده از تکنیک‌های اختصاصی و حساس به طور مثال فلوسایتومتری [۲۵و۲۴]، جهت تعیین میزان و شمارش سلول‌های ایمنی از جمله سلول‌های NK در هر نژادی لازم به نظر می‌رسد، زیرا در تشخیص بیماری‌ها و ارزیابی و پاسخ به درمان بیماری‌ها مؤثر و مفید می‌باشد.

با توجه به مطالعات وسیعی که روی مضرات و اثرات منفی سیگار روی کلیه دستگاه‌های بدن انجام شده به نظر می‌رسد که باید به خاطر اهمیت موضوع در زمینه آموزش سلامت، پیشگیری و شرایط اقتصادی برای میزان آگاهی افراد جامعه فعالیت جدی‌تری صورت گیرد و برنامه‌های آموزشی از سطح دبستان و دبیرستان آغاز گردد، زیرا با بهره‌گیری بهتر و مفیدتر سلامت جامعه و جلوگیری از به هدر رفتن منابع مالی و ارزی به مملکت کمک می‌نماید. در این راستا مطبوعات ملی و رسانه‌های کشور وظایف بسیار مهمی به عهده دارند.

Archive of SID

www.SID.ir

مراجع

1- Lidia Arcavi, Neal L. Benowit Z, Cigarette smoking and infection. Arch Intern Med 2004; 164:2206-2216.

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

3- Wynder EL, Muscat JE .The changing epidemiology of smoking and lung cancer histology. Environ Health persfect 1995; 103 supple 8:143-8.

4- Hoffmann D, Hoffmann I.The changing cigarette, 1950-1995. J Toxicol Environ Health 1997; 50 (4): 307-64.

5- Tollerud DJ, Clark JW, Brown LM, Neuland Cy, etal. Association of cigarette smoking with decreased numbers of circulating natural killer cells. Am Rev Respir Dis 1989; 139 (1): 194-8.

6- Ling TC, Harris M, Craven NM. Epstein-Barr virus -Positive blastoid nasal/ Natural killer cell Lymphoma in a Caucasian. Brit J Dermatol 2002; 146 (4): 700-30.

7- Abbas Ak, Lichtman A. Cellular and Molecular Immunology. 5th ed. Philadelphia: Elsevier saunders. 2005; 16-39.

8- Uppal SS, Verma S, Dhot PS. Normal values of CD4 and CD8 Lymphocyte subsets in healthy Indian adults and the effects of sex, age, ethnicity and smoking. Cytometry B Clin Cyto 2003; 52 (1): 32-6.

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

10- Reichert T, Debruyere M, Deneys V, etal. Lymphocyte subset reference ranges in adult Caucasian. Clin immunol immunopathol 1991; 60 (2): 190-208.

11- 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.

12- Al Majid FM, Abba AA. Immunophenotypic characterisation of peripheral T Lymphocytes in pulmonary. JPGM 2008; 54 (1) 7-11.

13- Howard RR, Fasano CS, Frey L, Miller CM. Reference intervals of CD3, CD4, CD8, CD4/CD8 ratio and absolute CD4 values in Asian and Non-Asian Population. Cytometry 1996; 26: 231-232.

14- Jeffrey Laurence MD. T-cell subsets in health, infectious disease, and idiopathic CD4+ T Lymphocytopenia. Annals of internal medicine 1993; 119 (1): 55-62.

15- White side TL, Herberman RB. The role of NK cells in human diseases. Clin Immunol Immunopathol. 1989; 53: 1-23.

16- Amadori A, Zamarchi R, Chieco-Bianchi L. CD4: CD8 ratio and HIV infection: The Tap-and-drain Lypothesis. Immunol Today 1996; 17 (9): 414-417.

17- Srivastava ED, Barton JR, Mahony So, Phillips DI, Willams GT, ferguson N and Rhodes J. Smoking Humoral immunity and ulcerative colitis. Gut 1991; 32 (9): 1016-1019.

18- Shahabuddin S. Quantitative differences in CD8+ Lymphocytes, CD4/CD8 ratio, NK cells, and HLA-DR (+)-activated T cells of racially different male populations. Clin Immunol Immunopathol, 1995; 75 (2): 168-70.

19- Pasqualetti D, Chirardin A, Cafolla A, Biffoni M, Coluzi S, vaglio A, etal. Lymphocyte T subsets and Natural killer cells in Italian and philippino blood donors, Vox Sang. 2003; 84 (1): 68-72.

Archive of SID

www.SID.ir

20- Tollerud DJ, Brown LM, Blattner WA, Mann DL, Pankiw-trost L, Hoover RN. T cell subsets in healthy black smokers and nonsmokers. Evidence for ethnic group as an important response modifier. Am Rev Respir Dis 1991; 144 (3 pt 1): 612-6.

21- Ioka A, Nakamura M, Shirokawa N, kinoshita T, Masui S, Imai K, Nakachi K, oshima A. Natural killer activity and its changes among participants in a smoking cessation intervention program-a prospective pilot study of 6 months duration. J Epidemiol 2001; 11 (5): 238-42.

22- Tait RY, Hulse GK, waterreus A, et al. Effectiveness of a smoking cessation intervention in older adults. Addiction 2007; 102 (1): 148-55.

23- Shivani M chirawar, Naeem Khan, yltracey chan, Laxman Nayak and paul AH Moss. Ageing is associated with a decline in peripheral blood CD56 bright NK cells. Immunity & Ageing 2006; 3:10.

24- Horan PK, slezak SE, poste G. Improved flowcytometric analysis of leukocyte subsets, stimultaneous identification of five cell subsets using two color immunofluorescence. Proc. Narl. Acad. Sci. USA, 1986; 83: 8361-5.

25- Kubota K, Makino M. Application and usefulness of flowcytometry in the haematology laboratory. Rinsho Byori. 1991; 39 (2): 167-72.

26- Al-Jabri AA, Al-Shukaili AK, Al-Rasdi ZT, Ganguly SS. Reference ranges for Lymphocyte Subsets in healthy adult male omanis. Saudi Med J 2008; 29 (3): 409-12.

27- Laurence J.T-cell subsets in healthy, infectious disease, and idiopathic CD4+ T lymphocytopenia. Ann Intern Med. 1993; 119(1): 55-62.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار و سلول‌های کشنده طبیعی ($CD16^+ + CD56^+$ NK) در دور گروه سیگاری و غیرسیگاری (P < ./.۵)					
گروه	جنس	تعداد- نفر	میانگین	انحراف معیار	P.Value
سیگاری	مذکر	۳۵	۱۴/۱۱	۵/۸۷	۰/۰۰۱
غیرسیگاری	مذکر	۴۰	۱۵/۸۶	۶/۹۲	
جمع کل	مذکر	۷۵	۱۵/۰۳	۶/۴۵	

نتیجه آزمون: ارتباط بین سیگار و میزان سلول‌های کشنده طبیعی خون محیطی داوطلبان سیگاری و غیرسیگاری توسط تکنیک فلوسایتومتری تعیین و دارای اختلاف معنی‌داری ($P \leq ۰/۰۰۱$) می‌باشد.

جدول ۲: میانگین میزان سلول‌های کشنده طبیعی ($CD16^+ + CD56^+$ NK) در سیگاری‌ها و غیرسیگاری‌ها بر حسب سن				
گروه	سن	تعداد	میانگین	انحراف معیار
سیگاری	۱۸-۴۰	۲۰	۱۳/۵۰	۶/۵۸
	۴۱-۶۰	۱۵	۱۵/۰۳	۶/۳۰
غیر سیگاری	۱۸-۴۰	۲۲	۱۵/۱۸	۶/۱۱
	۴۱-۶۰	۱۸	۱۶/۵۳	۶/۶۱
جمع کل		۷۵	۱۴/۸۳	۶/۳۵

با استفاده از تکنیک فلوسایتومتری میزان سلول‌های کشنده طبیعی NK با مارکرهای $C16^+ + CD56^+$ خون محیطی داوطلبان در سیگاری و غیرسیگاری در گروه‌های مختلف سنی ۱۸ تا ۶۰ ساله تعیین گردید. کاهش سلول‌های NK در گروه سنی ۴۰-۱۸ سال در مقایسه با گروه سنی ۶۰-۴۱ ساله سیگاری اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد ($P \leq ۰/۰۱$).

Archive of SID

www.SID.ir