مطالعه درصد سلولهای کشنده طبیعی در بیماران لیشمانیوز جلدی قبل و بعد از درمان

*[۱]دکتر مسعود مهاجری، [۲]دکتر سید علی اکبر شمسیان، [۳]دکترمحمد تقی شاکری، [۴]دکتر حمیدرضا بیدخوری، [۵]دکتر محمود محمودی

چکیده

هدف

سازمان جهانی بهداشت لیشمانیوز را به عنوان یک مشکل بهداشتی در سطح جهان معرفی کرده است. این بیماری در ایران شیوع فراوانی داشته و شهر مشهد از کانونهای مهم آلودگی در کشور ما محسوب می شود.

با توجه به وجود پاسخهای متفاوت افراد به عفونت لیشمانیوز پوستی و پیش آگهی متفاوت افراد در سیر درمان و همین طور احتمال تأثیرگذاری میزان سلولهای کشندهٔ طبیعی (Natural Killer Cells) در پیش آگهی سیر بیماری و بهبودی، نقش سلولهای کشندهٔ طبیعی از طریق بررسی درصد سلولهای دارای مارکر CD_{16+56} به روش فلوسیتومتری در گروههای مختلف مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش کار

در این مطالعه تحلیلی آینده نگر، که از شهریور ۱۳۸۰ تا آبان ۱۳۸۱ در بیمارستان قائم(عج) مشهد و پژوهشکدهٔ بوعلی دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شده است، از ۳۶ بیماری که تشخیص لیشمانیوز جلدی در مورد آن ها مسجل شده بود، قبل و بعد از درمان، وهمچنین گروه کنترل، نمونه خون محیطی تهیه شد. از بین این بیماران، ۷ بیمار به دلایل مختلف از مطالعه حذف شدند و ۲۹ بیمار تا پایان مطالعه با ما همکاری داشتند. در این مطالعه از آنتی‌بادی مونوکلونال CD_{16+56}^{+} محصول کمپانی IQ products هلند برای ارزیابی درصد سلولهای کشندهٔ طبیعی استفاده شده است.

نتایج

تفاوت درصد سلولهای کشندهٔ طبیعی در بیماران مورد مطالعه و گروه کنترل اختلاف معنی داری را نشان می داد (p= ۰/۰۱). همچنین تفاوت درصد این سلولها، در بیمارانی که پس از اولین دورهٔ درمان به آن پاسخ داده بودند، با گروه کنترل (p = ۰/۰۲)، و بیمارانی که پس از گذشت یک ماه از پایان دورهٔ درمان پاسخی به درمان نداده بودند (p = ۰/۰۴) ، معنی دار بود.

همچنین در مطالعهٔ حاضر، تفاوت درصد سلولهای کشندهٔ طبیعی در کل بیماران قبل و بعد از درمان معنی دار نبود. عدم تفاوت معنی دار درصد سلولهای کشندهٔ طبیعی قبل و بعد از درمان در بیماران پاسخ داده به اولین دورهٔ درمانی و کسانی که به اولین دورهٔ درمان پاسخ ندادند، صادق بود.

نتیجه گیری

این موضوع مؤید این نکتهٔ مهم است که تعداد کم سلولهای کشندهٔ طبیعی در افراد مبتلا به لیشمانیوز جلدی می تواند زمینه را برای ابتلای این افراد فراهم آورد و همچنین این نتایج نشان می‌دهد گلوکانتیم تاثیری بر درصد این سلولها ندارد.

کلمات کلیدی: سلولهای کشنده طبیعی، فلوسایتومتری، لیشمانیوز جلدی.

۱- دانشیار گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، بیمارستان قائم(عج)، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۵۱۱-۸۰۱۲٤۰٦، Mohajery83@yahoo.com

۲- استادیار گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، بیمارستان قائم (عج)، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۳- استادیار گروه پزشکی اجتماعی و بهداشت، بیمارستان قائم (عج)، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

٤- پزشک عمومی

۵- دانشیار گروه ایمونولوژی، مرکز تحقیقات ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

لیشمانیوز های پوستی، پوستی- مخاطی و احشایی به وسیله گونه های مختلف انگل لیشمانیا ایجاد می شوند و سالیانه میلیون ها نفر را در سراسر جهان آلوده می کنند (۱). بیش از ۹۰ درصد موارد لیشمانیوز جلدی در ایران، افغانستان، سوریه، عربستان سعودی، برزیل و پرو اتفاق می افتد (۲).

هر دو شکل جلدی و احشایی لیشمانیوز در نقاط مختلف ایران به صورت اندمیک وجود دارند (۳، ۴). در سال ۲۰۰۲ شیوع ناگهانی لیشمانیوز پوستی در شمال شرق ایران و مشهد اتفاق افتاد که تشخیص حدود ۴۹۰۰ مورد از نظر بالینی یا آزمایشگاهی مورد تایید قرار گرفت. در مطالعه ای که توسط حجاران و همکاران در این منطقه انجام شده است ۹۴/۲٪ از موارد مورد بررسی، لیشمانیا تروپیکا بوده است (۵). مطالعه دیگری که توسط حدیقی و همکاران در مشهد صورت پذیرفت، نشان داد مقاومت اولیه نسبت به گلوکانتیم در گونه لیشمانیا تروپیکا در ایران شیوع بالایی دارد (۶).

پاسخ اصلی بدن برای مقاومت دربرابر عفونت لیشمانیوز، ایمنی با واسطهٔ سلولی است. در این نوع از ایمنی، سلولهای Tیاور و سایتوکاینهای حاصل آن (به خصوص اینترفرون گاما) نقش اصلی را در فعال کردن ماکروفاژها و تقویت قابلیت تخریبی آن ها به عهده دارند.

با توجه به نقش ایمنی ذاتی به خصوص سلولهای کشندهٔ طبیعی در محدودکردن بیماریهای انگلی و از جمله لیشمانیوز و همچنین موقعیت خاص اپیدمیولوژیک شهر مشهد در مناطق اندمیک این بیماری، بر آن شدیم تا درصد این سلولها را در بیماران مبتلا به لیشمانیوز پوستی قبل و بعد از درمان به روش فلوسایتومتری مورد مطالعه و تحلیل قرار دهیم.

مواد و روش کار

جامعهٔ آماری مورد مطالعه: جامعهٔ آماری در این مطالعه که یک کارآزمایی بالینی شاهددار (Control Clinical Trial) بود شامل ۳۶ نفر از بیمارانی بود که برای اولین بار دچار ضایعهٔ لیشمانیوز جلدی شده و بیماری آن ها با روشهای معمول تشخیص لیشمانیوز جلدی تایید شده بود ولی دارو دریافت نکرده بودند. علاوه بر آن ها ۲۳ نفر از افراد خانوادهٔ این بیماران که تاکنون به این بیماری مبتلا نشده بودند، به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. به طورکلی در این پژوهش۳ گروه مورد بررسی قرار گرفتند:

الف) بیماران مبتلا به لیشمانیوزی که پس از اولین دورهٔ درمان از نظر بالینی و از نظر آزمایشگاهی به درمان پاسخ داده بودند.

ب) بیماران مبتلا به لیشمانیوزی که پس از بررسی به عمل آمده پس از یک ماه از اولین دورهٔ درمان نه از نظر بالینی و نه از نظر آزمایشگاهی به درمان پاسخ نداده بودند.

ج) گروه شاهد که شامل کسانی بود که علیرغم زندگی در منطقهٔ اندمیک و در خانوادهٔ بیماران مبتلا در طول عمر خود به لیشمانیوز جلدی مبتلا نشده بودند و از نظر بیماریهای زمینه ای و تضعیف کننده ایمنی نیز مورد بررسی قرار گرفته و سالم بودند.

نمونه گیری و روش انجام آزمایشات: با توجه به علائم بالینی بیماری لیشمانیوز جلدی، پس از تشخیص اولیه توسط متخصصین بیماریهای پوست، بیماران به آزمایشگاه انگل شناسی بیمارستان قائم(عج) و آزمایشگاه مرکزی جهاد دانشگاهی مشهد در فاصله زمانی اسفند ۸۰ تا آبان ۸۱ ارجاع داده می شدند و در آنجا آزمایشات انگل شناسی برای تایید بیماری (آزمایش مستقیم از ضایعه) به عمل می آمد. تلاش بر این بود که بیماران از مناطق مختلف سطح شهر مشهد انتخاب شوند تا نتایج قابل تعمیم به بیماران کل شهر باشد.

در این بررسی از روش نمونه گیری غیراحتمالی و آسان استفاده شد. تمامی نمونه ها از نظر HIV و HTLV1 بررسی و بیماران از نظر مصرف داروهای سرکوب کنندهٔ ایمنی کنترل شدند و برای هر بیمار یک فرم معاینهٔ فیزیکی و پرسشنامه تکمیل شد.

همه بیماران قبل از ورود به مطالعه در جریان سیر پژوهش قرارگرفتند و از ایشان رضایت نامه کتبی اخذ شد. در این بررسی معاهده هلسینکی در مورد رعایت اخلاق پزشکی در تحقیقات رعایت شده است. به منظور نمونه گیری از همه افراد مورد مطالعه در محل آزمایشگاه حدود ۱۰ میلی لیتر خون وریدی گرفته می شد و بلافاصله ۴/۵ میلی لیتر به لوله های

Archive of SID

www.SID.ir

درپیچ دار استریل حاوی ۰/۵ میلی لیتر مادهٔ ضدانعقاد EDTA (ملح دی پتاسیم) و مقداری نیز به لوله های سانتریفوژ به منظور جداسازی سرم برای انجام آزمایشات HTLV1 و HIV منتقل می شد. باقیمانده سرم تهیه شده نیز در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد برای مطالعات احتمالی بعدی نگهداری می شد. لولهٔ اول بلافاصله برای انجام آزمایشات فلوسایتومتری به پژوهشکدهٔ بوعلی فرستاده می شد و آزمایشات مربوط با هماهنگی قبلی به‌انجام می رسید. قسمتی از سرم جدا شدهٔ بیماران برای انجام آزمایشات HTLV1و HIV به آزمایشگاه مرکزی جهاد دانشگاهی ارسال می شد. در این تحقیق از دستگاه فلوسایتومتری Facs Cilibur ساخت شرکت BD کشور آمریکا که در پژوهشکدهٔ بوعلی مستقر می باشد و همچنین آنتی‌بادیهای منوکلونال کونژوگه اختصاصی Antibody CD_{16+56}^{+} ساخت شرکت IQ product هلند برای اندازه گیری تعداد سلولهای مورد نظر استفاده شد.

جهت آماده‌سازی سلولها برای فلوسایتومتری به ۱۰۰ µL خون حاوی ماده ضد انعقاد، ۲۰ µL آنتی بادی مونوکلونال کونژوگه با ماده فلورسنت (آنتی بادی ضد مارکر مورد نظر) اضافه کرده و پس از مخلوط نمودن محتویات لوله، به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق و به دور از نور مستقیم انکوبه می شد. در این مدت اگر در سطح سلولها آنتی ژن مورد نظر وجود داشته باشد به آنتی بادی مونوکلونال کونژوگه متصل می شود. سپس جهت حذف تداخل گلبولهای قرمز در مراحل کار، این گلبولها با افزودن ۲ میلی لیتر محلول FACS Lyse به هر لوله و انکوباسیون آن ها به مدت ۱۰ دقیقه همولیز می‌شد (محلول FACS Lyse جهت لیز نمودن گلبولهای قرمز خون افزوده می شود و رعایت زمان ۱۰ دقیقه جهت حصول نتیجه دقیق اهمیت بسیار دارد زیرا افزایش زمان مذکور موجب لیز و صدمه لنفوسیتها نیز خواهد شد). در این انکوباسیون نیز لازم بود که لوله ها دور از نور قرار گیرند. پس ازگذشت زمان ۱۰ دقیقه، لوله‌ها را به مدت ۵ دقیقه در دور g ۳۰۰ سانتریفوژ نموده و محلول فوقانی دور ریخته می شد. سپس به هر لوله ۲ میلی لیتر محلول PBS (pH= ۷/۲) اضافه نموده و سلولها مجددا با سانتریفوژ در دور g ۳۰۰ به مدت ۵ دقیقه شستشو داده می شد تا با این عمل ذرات لیز شده گلبولهای قرمز و آنتی بادیهای مونوکلونال کونژوگه متصل نشده به لنفوسیت ها خارج شوند. جهت افزایش کیفیت کار عمل شستشو را یک بار دیگر تکرار نموده و در پایان عمل شستشو پس از دور ریختن محلول فوقانی لوله‌ها، به هر لوله ۰/۵ میلی لیتر محلول PBS اضافه می‌شد. پس از مخلوط نمودن محتویات لوله ها، نمونه حداکثر در طی ۱تا۲ ساعت با فلوسایتومتر بررسی می شد. در این مرحله سلولها نشانه گذاری می شوند.

در ادامه لایه لنفوسیت ها توسط یک پیپت پاستور به دقت و به آرامی برداشته و در یک لوله جداگانه ریخته و آن ها را با ۲ میلی لیتر محلول PBS (یا بافر Hank's) شستشو می شد. عمل شستشو ۳ بار تکرار می شد تا کلیه مواد و پروتئین های اضافی خارج شوند. پس از آنکه تعداد لنفوسیت ها به ۵×۱۰^{۶} سلول در هر میلی‌لیتر رسید، از آن به جای خون تام جهت انجام آزمایش فلوسایتومتری استفاده می شد.

پیگیری بیماران: پس از نمونه گیری از بیماران، آن ها به درمانگاه پوست بیمارستان قائم(عج) هدایت شده و توسط متخصصین بیماریهای پوست مورد درمان قرار گرفتند. آمپولهای گلوکانتیم مورد نیاز که قبلا از مرکز بهداشت استان تهیه شده بود، به صورت رایگان در اختیار درمانگاه پوست برای درمان بیماران قرار داده شده بود. لازم به ذکر است آمپولهای گلوکانتیم ۱۵۰۰ میلی گرمی حاوی ۴۰۵ میلی گرم مادهٔ مؤثر می باشد (۷). این دارو توسط اساتید متخصص دانشگاه علوم پزشکی مشهد به میزان ۲۰ میلی گرم ماده مؤثر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن روزانه و به مدت ۲۰ روز تجویز می شد. یک ماه پس از اتمام دورهٔ درمان، بیماران مجددا به آزمایشگاه بیمارستان قائم (عج) مراجعه می کردند و در صورت عدم مراجعهٔ به موقع بیماران برای نمونه گیری و بررسی ضایعه، به منازل آن ها مراجعه می شد و زخمها از نظر وجود جسم لیشمن مورد بررسی قرار می گرفت. در این مرحله نیز مجددا از بیماران برای انجام آزمایشات فلوسایتومتری نمونه گیری به عمل می آمد.

محاسبات آماری: پس از حصول اطمینان از صحت اطلاعات، جهت تجزیه و تحلیل داده ها از برنامه آماری SPSS 10 استفاده گردید. سپس با به کارگیری آزمونهای آماری t در مقایسهٔ دو جامعهٔ مستقل و آنالیز واریانس و آزمون استقلال $\chi 2$ به تجزیه و تحلیل اطلاعات پرداخته شد. در این مطالعه در انجام آزمون های آماری سطح معنی دار بودن به دلیل تعداد کم نمونه ها و مقایسه با مطالعات مشابه قبلی حداکثر ۱۰ درصد در نظر گرفته شده است.

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج

همانطور که اشاره شد، در این مطالعه درصد سلولهای کشنده طبیعی که از زیر گروه های لنفوسیتی هستند در ۳۶ بیمار مبتلا به لیشمانیوز جلدی قبل و بعد از درمان با داروی انتخابی این بیماری یعنی گلوکانتیم به روش فلوسایتومتری مورد بررسی قرار گرفت.

از ۳۶ بیماری که مورد مطالعه قرار گرفتند، ۲۹ بیمار تا پایان مطالعه با ما همکاری داشتند و ۷ نفر به دلایل مختلف از مطالعه حذف شدند. تست HTLV1 مثبت ، عوارض جانبی دارو شامل کهیر، درد عضلانی، قرمزی منتشر، زخمی شدن محل تزریق، درمان ناقص و مهاجرت را می توان از این دلایل نام برد.

از تعداد ۲۹ بیمار یاد شده، ۲۲ بیمار پس از یک دورهٔ درمان از نظر بالینی یا از نظر آزمایشگاهی و یا از هر دو نظر بهبودی نشان دادند درحالی که ۷ نفر نه از نظر بالینی و نه از نظر آزمایشگاهی به اولین دورهٔ درمان انجام شده پاسخ ندادند. از ۲۹ بیماری که در کل مراحل مطالعه شرکت داشتند ، درصد سلولهای کشنده طبیعی در ۲۷ بیمار قابل گزارش دهی و بهره برداری بود. میانگین درصد سلولها در کل بیماران ۱۰/۶۲ بود و در بیماران پاسخ دهنده به اولین دورهٔ درمان (گروه یک) ۱۰/۵ و در کسانی که به اولین دورهٔ درمان پاسخ ندادند (گروه دو) ۱۱ بود.

در این بررسی با توجه به نتایج آزمون t مقایسهٔ درصد سلولهای NK قبل از درمان در کل بیماران در مقایسه با افراد نرمال (گروه شاهد) اختلاف معنی‌داری نشان می‌دهد ($p<۰/۰۰۱$) (جدول ۱). این اختلاف معنی دار در مقایسه با گروه شاهد در بیماران گروه یک با $p= ۰/۰۰۲$ و در بیماران گروه دو با $p= ۰/۰۰۴$ نیز مشاهده می شود. همچنین در مطالعهٔ ما مقایسه ای که بین درصد سلولهای دارای مارکر CD_{16+56} در بیماران گروه یک و دو قبل و بعد از درمان انجام شد اختلاف معنی داری مشاهده نشد (جدول ۲).

جدول ۱: نتایج مقایسهٔ درصد سلولهای کشنده طبیعی (NK) قبل از درمان در بیماران مورد مطالعه و گروه شاهد.

گروههای مورد بررسی	تعداد	میانگین در صد NK cells	انحراف معیار	میانگین خطای انحراف معیار
بیماران	۲۹	۱۰/۶۲	٤/۳۸	۰/۸۱
گروه شاهد	۲۳	۱۸/۸۷	۹/۷۰	۲/۰۲

* اختلاف بین دو گروه از نظر آماری معنی دار می باشد. $p < ۰/۰۰۱$ و $t = ۳/۷۸۵$

جدول ۲: نتایج مقایسهٔ درصد سلولهای کشنده طبیعی (NK) قبل و بعد از درمان در بیماران دو گروه مورد مطالعه.

گروههای مورد بررسی	NK cells	میانگین در صد	تعداد	انحراف معیار	میانگین خطای انحراف معیار
گروه یک	CD_{16+56} قبل از درمان	۱۰/۵۳	۲۰	٤/۷۳	۱/۰٦
	CD_{16+56} بعد از درمان	۱۰/۱۵		٤/۷۰	۱/۰۵
گروه دو	CD_{16+56} قبل از درمان	۱۱/۰۰	۷	۳/۸۳	۱/٤۵
	CD_{16+56} بعد از درمان	۱۲/۷۱		٤/۹۹	۱/۸۹

آزمون t زوج نمونه ای: گروه یک: $\chi 2 = ۰/۷۳۵$ و $t = ۰/۳٤۳$ ، گروه دو : $\chi 2 = ۰/۲٦٤$ و $t = ۱/۳۳۱$

Archive of SID
www.SID.ir

بحث و نتیجه گیری

سلولهای کشندهٔ طبیعی (NK) زیرمجموعه ای از لنفوسیتها می باشند که ارتباط دقیق تکاملی بین این سلولها و لنفوسیتهای Tو B مشخص نشده است. این سلولها به صورت سلولهای بزرگ دارای گرانولهای آزوفیلیک (LGL) دیده می شوند. در افراد طبیعی ۱۰ تا ۱۵ درصد لنفوسیتهای خون محیطی و تا ۲ درصد لنفوسیتهای طحال را تشکیل می دهند (۸).

هرچند مهمترین نقش این سلولها به طور طبیعی دفاع در برابر عفونتهای ویروسی می باشد، بررسی نقش آن ها در پیش آگهی سیر بیماری و بهبودی لیشمانیوز جلدی هدف این مطالعه است. مطالعات متعددی در خصوص مکانیسم فعالیت سلولهای NK در برابر انگل لیشمانیا انجام شده است که نتایج مختلفی را نشان می دهد و در ادامه به چند مورد اشاره می‌شود.

سلولهای کشندهٔ طبیعی ۲۴ ساعت بعد از عفونت در محل ظاهر شده که این تجمع را با ترشح کموکاین IP-10 که باعث تحریک فعالیت سلولهای NK و افزایش میزان کشندگی آن ها برای پارازیتها می شود، مرتبط دانسته اند. مطالعه ای که توسط مولر و همکارانش در دانشگاه علوم پزشکی لوبک آلمان انجام شد، پیشنهادکنندهٔ آن است که چه در مرحلهٔ مهاجرت سلولها و چه در مرحلهٔ فعالیت در برابر انگلهای لیشمانیا، نقش فاکتور کموتاکتیک در برخورد اولیه با انگل مؤثر است (۹). IL-12 تحریک‌کنندهٔ ترشح IFN-γ است و از این طریق در محدودکردن فعالیت انگلهایی چون لیشمانیا موثر می باشد. در مطالعه ای که توسط نیلن و همکاران در انستیتوکارولینسکا سوئد انجام شده است، ثابت شده که سلولهای NK به تنهایی و بدون واسطه IL-12 قادر به تحریک ترشح IFN-γ می باشند درنتیجه در مهار گسترش عفونت لیشمانیوز مؤثر می باشد(۱۰). در تحقیق آزمایشگاهی دیگری که توسط کرک پاتریک و همکارانش در دانشگاه پنسیلوانیا انجام شده است، مشخص شده است که سلولهای کشندهٔ طبیعی در انهدام انگل لیشمانیا دونوانی در موشها مؤثرند (۱۱).

همچنین ریدل و همکاران از انستیتو پاستور فرانسه در مطالعه ای جداگانه به نقش احتمالی سلولهای NK در کنترل انتشار عفونت انگلی لیشمانیوز در نوع جلدی پی برده اند. این گروه با استفاده از روشهای ایمونوپراکسیداز و آنتی بادیهای مونوکلونال، پاسخ ایمنی در نمونه برداریهایی از پوست را ارزیابی نموده اند که در این نمونه برداریها درصد سلولهای NK به طور معنی داری بالا بوده است (۱۲).

در مطالعه ای که توسط کریماماشو و همکاران در مرکز کنترل بیماریهای عفونی استکهلم انجام شده است؛ نقش ایمنی ذاتی (اولیه) و ایمنی اکتسابی در کنترل لیشمانیوز ناشی از لیشمانیا اتیوپیکا در مناطق اندمیک مورد توجه واقع شده است. بخش قابل توجهی از ایمنی ذاتی که مهمترین نقش را ایفا کرده است، سلولهای CD_{16+56}^{+} یا همان سلولهای کشندهٔ طبیعی بوده‌اند. در این مطالعه که در منطقهٔ اندمیک اتیوپی انجام شده است، سه گروه مورد مطالعه قرار گرفته‌اند: گروه اول، کسانی بوده‌اند که با وجود زندگی در منطقهٔ اندمیک هیچ شواهدی از ابتلای قبلی یا فعلی به لیشمانیوز اتیوپیکا نداشته‌اند. گروه دوم، بیماران با ضایعهٔ فعال جلدی لیشمانیوز و گروه سوم بیماران بهبودیافته بوده اند. نتایج حاکی از آن است که پرولیفراسیون سلولهای کشندهٔ طبیعی در واکنش به لیشمانیا اتیوپیکا در بهبودی و حفاظت در برابر لیشمانیوز جلدی (اتیوپیکا) دخالت دارند (۱۳).

در مطالعه حاضر که شرح آن در بخش نتایج آمده است، تفاوت درصد سلولهای CD_{16+56}^{+} در بین کلیهٔ بیماران و گروه شاهد معنی‌دار بود، که این مؤید آن است که تعداد کم سلولهای NK در افراد مبتلا به لیشمانیوز جلدی می‌تواند زمینه را برای ابتلای این افراد فراهم آورد ($p = ۰/۰۰۱$). درصد کمتر سلولهای NK در بیماران گروه یک با $p= ۰/۰۰۱$ و در بیماران گروه دو با $p= ۰/۰۰۴$ تایید‌کننده نتیجه قبل است. اما برخلاف مطالعه‌ای که کریماماشو و همکاران انجام داده بودند، با توجه به اینکه تعداد سلولهای NK قبل و بعد از درمان در کل بیماران، بیماران پاسخ دهنده به دورهٔ اول درمان و کسانی که به اولین دورهٔ درمان پاسخی نداده اند، تفاوت معنی داری در مطالعهٔ ما ندارد، نمی توان براساس این مطالعه نقشی برای سلولهای NK در بهبودی بیماران مبتلا به لیشمانیوز جلدی درنظر گرفت.

این واقعیت که در مناطق اندمیک ایران و اتیوپی گونه های متفاوتی از لیشمانیا شایع است ، با توجه به اینکه علاوه بر سیستم ایمنی افراد، گونهٔ انگل لیشمانیا نیز در پاسخ آن ها به بیماری مؤثر است، می تواند توجیه کنندهٔ تفاوت نتایج در دو مطالعه باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

References

1. Murray H. W., Berman J., Davies C. R., *et al.*, 2005, Advances in leishmaniasis, Lancet, 366:1561-1577.
2. World Health Organization (Updated 2002): Division of control of tropical diseases. Leishmaniasis control home page. www.who.Int / health – topics / leishmaniasis. htm.
3. Nadim A., Javadian E., Seyedi-Rashti M., Epidemiology of leishmaniasis in Iran, In: Ardehali S., Rezaie H. R., Nadim A., (eds.), Leishmania Parasite and Leishmaniasis, second ed., Tehran, Iran University Press, 1994, 178-180.
4. Mohebali M., Javadian E., Yeghoobi-Ershadi M. R., *et al.*, 2004, Characterization of leishmania infection in rodents from endemic areas of the Islamic Republic of Iran, East Mediterr. Health J., 10:591-599.
5. Hajjaran H., Mohebali M., Razavi M. R., *et al.*, 2004, Identification of Leishmania species isolated from human cutaneous leishmaniasis in Mashhad city using random amplified polymorphic DNA (RAPD-PCR), Iran J. Public Health, 33:8-15.
6. Hadighi R., Mohebali M., Boucher P., *et al.*, 2006, Unresponsiveness to glucantime treatment in Iranian cutaneous leishmaniasis due to drug-resistant *Leishmania tropica* parasites, PLoS Med. 3(5):162.
7. Pearson R. D., Sousa A. Q., Jeronimo S. M., Cutaneous and mucosal leishmaniasis in: Gerald L., Mandell J. E., Bennet R. D., (eds), Mandell, Douglas and Bennet's Principles of Infections Disease 5th ed., Vol 5, Philadelphia, Churchill Livingston, 2000, 2830 – 41.
8. Abbas A. K., Lichtman A. H., Pober J. S., Cellular and Molecular Immunology, 5th ed., W. B. Saunders, 2003, 4-9.
9. Muller K., Van Zandbergen G., Hansen B., *et al.*, 2001, Chemokines, natural killer cells and granulocytes in the early course of *lieshmania major* infection in mice, Med. Microbiol. Immunol. (Berl.), 190: 73-76.
10. Nylen S., Maasho K, Soderstorm K., *et al.*, 2003, Live Leishmania promostigotes can directly activate primary human natural killer cells to produce interferon–gamma, Clin. Exp. Immunol., 131: 457–67.
11. Kirkpatrick C. E., Farrell J. P., Warner J. F., *et al.*, 1985, Participation of natural killer cells in the recovery of mice from visceral leishmaniasis, Cell. Immunol. A2 (1): 163-17.
12. Ridel P. R., Estere P., Dedet J. P., *et al.*, 1988, Killer cells in human cutaneous leishmaniasis, Trans. Ro. Soc. Trop. Med. Hyg., 82: 223-226.
13. Maasho K., Sanchez F., Schurr E., *et al.*, 1998, Indications of the protective role of natural killer cells in human cutaneous leishmaniasis in an area of endemicity, Infect. Immun., 66: 2698-2704.

Archive of SID

www.SID.ir