مقاله پژوهشی

تغییرات کمی لنفوسیت‌های $T\ CD_{29}^{+}$ و سلول‌های NK در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید در مقایسه با افراد سالم

دکتر مهری غفوریان بروجردنیا[۱]، دکتر محمد سعید سراج[۲]، دکتر الهه جهانبخش[۳]

تاریخ دریافت: ۸۸/۱/۲۸ تاریخ پذیرش: ۸۸/۸/۲۷

چکیده

پیش زمینه و هدف: آرتریت روماتوئید نوعی بیماری التهابی است که همچنان علت آن ناشناخته است. ممکن است در ایجاد بیماری پاسخ‌های ایمونولوژیکی نقش داشته باشد. هدف از مطالعه حاضر مقایسه لنفوسیت‌های $T\ CD^{+}_{29}$ و سلول‌های NK در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید و افراد غیر بیمار و سالم می‌باشد.

مواد و روش کار: در این تحقیق ۲۵ بیمار که فقط به آرتریت روماتوئید مبتلا هستند (گروه آزمایش) و ۲۵ نفر از افراد سالم (گروه شاهد) مورد آزمایش قرار گرفتند. نمونه خون محیطی از هر دوگروه بعد از لیز گلبول‌های قرمز با آنتی بادی برعلیه لنفوسیت T (CD_3)، مارکر فعالیت دیررس (CD_{29})، سلول NK (CD_{56})رنگ آمیزی شدند و سپس با دستگاه فلوسیتومتری درصد جمعیت‌های مختلف لنفوسیتی مشخص گردید. داده با آزمون T- test مورد آنالیز و مقایسه قرار گرفتند.

یافته‌ها: اختلاف معنی‌داری بین میانگین درصد لنفوسیت‌های CD^{+}_{29} و سلو ل‌های NK در گروه آزمایش نسبت به گروه شاهد مشاهده شد ($p < 0.05$). جمعیت لنفوسیت‌های $CD_3^{+}T$ و لنفوسیت‌های $T\ CD^{+}_{29}$ و دربین گروه شاهد و گروه آزمایش اختلاف معنی‌داری را نشان نداد.

بحث و نتیجه گیری: به‌نظر می‌رسد فعالیت و افزایش لنفوسیت‌هایCD_{29}^{+} و سلول‌های NK منجر به تولید سایتوکاین‌های التهابی می‌شود که در بروز بیماری و شدد آن در تخریب غضروف و فرسودگی استخوان تاثیر می‌گذارد. مطالعات بیشتری لازم است تا نقش لنفوسیت‌های T و سلول‌های NK در بیماران آرتریت روماتوئید و ارتباط آن با تظاهرات کلینیکی و شدد بیماری روشن‌تر شود.

کلید واژه‌ها: آرتریت روماتوئید، فلوسیتومتری، لنفوسیت‌های$T\ CD^{+}_{29}$، سلول‌های NK

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و یکم، شماره اول، ص ٦٧-٦١، بهار ۱۳۸۹

آدرس مکاتبه: اهواز، دانشگاه پزشکی جندی شاپور، گروه ایمونولوژی دانشکده پزشکی، صندوق پستی ۱۸۹، مرکز تحقیقات هموگلوبینوپاتی و تالاسمی بیمارستان شفاء اهواز تلفن:۳۷۳۸۲۲۵-۰۶۱۱

Email: Mehri_Ghafourian@yahoo.com

مقدمه

آرتریت روماتوئید (RA) نوعی بیماری مزمن التهابی با درگیری چندین دستگاه بدن است که علت آن هنوز ناشناخته می باشد. اصولاً این بیماری مفاصل اندام‌ها و به ویژه انگشتان را گرفتار می‌کند. با پیشرفت بیماری، مفاصل بزرگ بیشتر گرفتار می شوند. تخریب غضروف مفصلی و التهاب سینوویوم از مشخصات اصلی آرتریت روماتوئید محسوب می‌شوند. این ضایعات دارای نمای مورفولوژیک یک واکنش ایمنی موضعی می باشند (۱). شیوع بیماری آرتریت روماتوئید در کل جمعیت تقریباً ۱ درصد می‌باشد و زنان سه برابر مردان به این بیماری مبتلا می‌شوند (۲). واکنش‌های ایمنی هومورال و سلولی، هردو ممکن است در ایجاد ضایعات بیماری نقش داشته باشند. سلول‌های $CD4^{+}T$، لنفوسیت‌های B فعال

[۱] دانشیار گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز (نویسنده مسئول)

[۲] استادیار گروه داخلی، بیمارستان گلستان، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز

[۳] الهه جهانبخش، دکترای عمومی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز

شده و پلاسما سل‌ها را می‌توان در سینوویوم ملتهب یافت (۳). سایتوکاین‌های متعددی از جمله IFNγ, TNF, IL-8, IL-1 را در مایع سینوویال این بیماران یافته اند (۴). تصور می‌شود این سایتوکاین‌ها سلول‌های سینوویال مقیم را فعال می‌نمایند تا به تولید آنزیم‌های هیدرولیتیکی نظیر کلاژناز و متالوپروتئیناز بپردازند، این آنزیم‌ها موجب تخریب غضروف‌ها، رباط‌ها و تاندون‌های مفصلی می‌گردند. بسیاری از سایتوکاین‌هایی که گمان می‌رود نقشی در آغاز تخریب مفصلی ایفا کنند، احتمالاً در اثر فعال شدن موضعی سلول‌های T و ماکروفاژها تولید می‌شوند (۳).

ویژگی سلول‌های T ایجاد کنندی آرتریت و نیز ماهیت آنتی ژن (یا آنتی ژن‌های) آغاز کنندی پاسخ تاکنون ناشناخته مانده است. تعداد قابل توجهی سلول T، در مایع مفصلی بیماران یافت شده اند. اما نقش پاتوژنیک این زیر گروه از سلول‌های T نیز همانند عملکرد فیزیولوژیک آن‌ها مجهول مانده است. لنفوسیت‌های T بدنبال فعال شدن، آنتی ژن‌های فعالیت مانند HLA-DR و CD29 را در سطح خود بارز می‌کنند (۳). گزارشاتی گوناگونی مبنی بر تغییرات این مارکرها در سطح لنفوسیت‌های T به‌دنبال درمان در دسترس می‌باشد (۷-۶). تغییرات سلول‌های NK در خون محیطی و مایع مفصلی بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید نیز گزارش شده است. این سلول‌ها با ترشح اینترفرون در دفاع مقابل عفونت‌های ویروسی نقش دارند (۲،۸).

جهت بیشتر روشن شدن پاسخ‌های ایمونولوژیکی در بیماری آرتریت روماتوئید مطالعه حاضر قصد دارد تغییرات کمی لنفوسیت‌های $T\,CD_{29}^{+}$ و سلول‌های NK بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید در مقایسه با افراد سالم به کمک فن فلوسیتومتری مورد بررسی قرار دهد.

مواد و روش کار

گروه آزمون شامل ۲۵ بیمار مبتلا به آرتریت روماتوئید از بین بیماران مراجعه کننده به درمانگاه تخصصی روماتولوژی که بیماری آنها زیر نظر پزشک تائید شده بود و هنوز درمان جهت آنان شروع نشده بود، به‌طور تصادفی انتخاب گردید. گروه شاهد نیز شامل ۲۵ نفر از افراد غیربیمار جامعه بودند که از لحاظ متغیرهای زمینه ای نظیر سن، جنس مشابه گروه آزمون بودند وعدم ابتلا به بیماری‌هایی که سیستم ایمنی بدن آن‌ها را تغییر دهد یکی از شرایط مهم انتخاب آن‌ها در نظر گرفته شده بود. تعداد نمونه از رابطه $n = \frac{(z_{\alpha/2} + z_{\beta})\sigma^2}{\Delta^2}$ با توجه به دامنه تغییرات لنفوسیت‌های T و سلول‌های NK در افراد سالم بدست آمده است (۳). لازم بذکر است که این تعداد نمونه ازبین حدود ۲۰۰ بیمارکه به‌مدت یک ماه به بیمارستان مراجعه می‌کردند با استفاده از اعداد تصادفی تولید شده توسط نرم افزارMinitab بدست آمد.

همه بیماران و افراد سالم با رضایت نلمه در پروژه شرکت کردند. ۲ سی سی نمونه خون از هر دو گروه گرفته شد و بلافاصله بعد از لیز گلبول‌های قرمز لکوسیت‌ها با آنتی بادی‌های مونوکلونال کنژوگه به مواد فلورسنتی بر علیه CD_{29}، CD_3 و CD_{56} (ساخت شرکت Dako کشور دانمارک) رنگ آمیزی شدند و سپس با دستگاه فلوسیتومتری Dickenson Becton آمریکا آنالیز و میزان لنفوسیت‌های T، سلول‌های NK، لنفوسیت‌های CD_{29}^{+} و لنفوسیت‌های T که مارکر CD29 (لنفوسیت CD_{29}^{+} T) را بیان می‌کردند (متغیرهای تحقیق) در حوضه لنفوسیتی مشخص گردید. لازم به ذکر است متغیرها از نوع کمی پیوسته و با مقیاس در صد بدست آمدند. بررسی آماری داده‌ها و مقایسه متغیرهای ایمنی گروه آزمایش و کنترل با استفاده از آزمون T-test و نرم افزار Minitab نسخه ۱۳ صورت گرفت. لازم به ذکر است برای معنی‌دار بودن آزمون سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شده است.

یافته‌ها

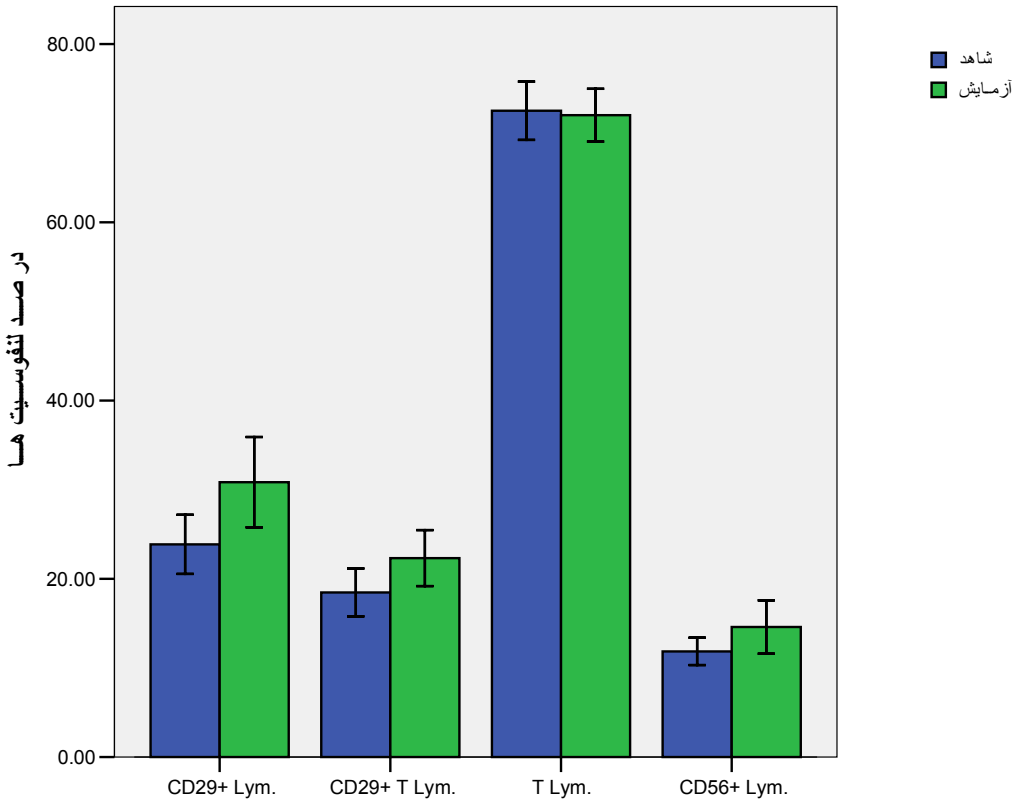
در جدول (۱) میانگین درصد جمعیت لنفوسیت‌های مختلف همراه با ۲ انحراف استاندارد میانگین در دو گروه آزمایش (بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید) و گروه شاهد (افراد سالم) نشان داده شده است.

مقایسه کل لنفوسیت‌های CD^{+}_{29} در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید و افراد سالم نشان داد که لنفوسیت‌های CD_{29}^{+} در بیماران نسبت به افراد سالم افزایش قابل توجهی داشته است ($p = 0.031$). جمعیت لنفوسیت‌های $CD_{29}^{+}T$ در گروه آزمایش نسبت به گروه شاهد نیز افزایش نشان داده است ولی اختلاف معنی‌دار نبود ($p = 0.091$).

آزمون مقایسه جمعیت لنفوسیت‌های CD_3^{+} T در گروه آزمایش و گروه شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($p=0.508$). مقایسه جمعیت لنفوسیت‌های CD_{56}^{+} (سلول‌های NK) در گروه آزمایش و شاهد نشان داد که لنفوسیت‌های CD_{56}^{+} در گروه آزمایش نسبت به گروه شاهد افزایش چشمگیری داشته است ($p = 0.011$). انواع جمعیت لنفوسیتی در بیماران و افراد سالم در نمودار زیر نیز نشان داده شده است.

جدول شماره (۱): مقایسه جمعیت لنفوسیت‌های مختلف در گروه آزمایش (بیماران آرتریت روماتوئید) و گروه شاهد (افراد سالم)

انواع جمعبت لنفوسیتی (متغیرها)	گروه	میانگین ± ۲ انحراف استاندارد میانگین
لنفوسیت‌های CD_{29}^{+}	شاهد	۲۴/ ۶۸ ± ۲ (۱/۶)
	آزمایش	۳۰/ ۹ ± ۲ (۲/۴)
لنفوسیت‌های CD_{29}^{+} T	شاهد	۱۹/ ۲۷ ± ۲ (۱/۶)
	آزمایش	۲۳/ ۲۳ ± ۲ (۱/۷)
لنفوسیت‌های T	شاهد	۷۱/ ۴۱ ± ۲ (۱/۸)
	آزمایش	۶۹/۴۱ ± ۲ (۱/۹)
لنفوسیت‌های CD_{56}^{+} (سلول‌های NK)	شاهد	۱۱/۶۸ ± ۲ (۰/۷۴)
	آزمایش	۱۵/۷۴ ± ۲ (۱/۴)



مقایسه انواع لنفوسیت ها در گروه آزمایش و گروه شاهد

بحث و نتیجه گیری

اگر چه پاتوژنز بیماری آرتریت روماتوئید به‌طور کامل شناخته نشده است و لیکن مهاجرت سلول‌های ایمنی از خون بداخل غشائ سینویال، تغییراتی در فنوتایپ، تعداد و عملکرد سلول‌های موجود در سینویال در این بیماری مشخص شده است. بافت‌های سینویال اولین هدف بیماری التهابی آرتریت روماتوئید می‌باشد. هنگامی‌که بیماری آرتریت روماتوئید شروع می‌شود بافت‌های سینویال سراسر بدن محلی برای کمپلکسی از واکنش‌های سلول‌های مختلف ایمنی از جمله لنفوسیت‌های T، B cells، ماکروفاژها و نیز سلو لهای سینوویوم می‌شود (۲). جمعیت

لنفوسیت‌های T CD+3 عمده سلول‌های تک هسته دای در این منطقه را تشکیل می‌دهند که زیر جمعیت لنفوسیت‌های $CD4^{+}$ نسبت به جمعیت لنفوسیت‌های $CD8^{+}$ غلبه دارد. این سلول‌ها در نزدیکی ماکروفاژها و سلول‌های دندریتیک HLADR+ هستند. اهمیت واکنش متقابل سلول‌های T با ماکروفاژها در تولید سایتوکاین‌های روماتیسمی گزارش شده است (۹). جمعیت کوچکی از لنفوسیت‌های T را لنفوسیت‌های T گاما دلتا تشکیل می‌دهند که نقش آن‌ها هنوز در بیماری آرتریت روماتوئید مشخص نشده است (۱). سلول‌های NK در سینوویوم تشخیص داده شده و دخالت آن در بیماری آرتریت روماتوئید مورد توجه است (۱۰).

جهت روشن‌تر شدن مکانیزم‌های ایمونولوژیکی در بیماری آرتریت روماتوئید مطالعه حاضر بدلیل محدودیتی که در گرفتن مایع مفصلی داشت، چند مارکر لنفوسیتی شامل CD3, CD29, CD56 را بر روی خون بیماران آرتریت روماتوئید با فن فلوسیتومتری مورد بررسی قرار داد. این فن نقش مهمی در تحلیل پروسه‌های ایمنولوژیکی بیماری آرتریت روماتوئید می‌تواند ایفا کند (۱۱). شاخص آنتی ژنی CD_{29} به وفور بر سطح لکوسیت‌ها و سلول‌های غیرخونی یافت می‌شود و میانجی اتصال سلول‌ها به ماتریکس خارج سلولی و نیز VCAM-1 اندوتلیوم می‌شوند. CD_{29} به احتمال زیاد یکی از پروتئین‌های سطحی اصلی می‌باشد که در لانه گزینی لنفوسیت‌ها در اندوتلیوم جایگاه‌های محیطی التهاب مانند سینویوم در آرتریت روماتوئید نقش دارد. پروتئین CD29 در ساختمان مارکر فعالیت دیررس[1] شرکت می‌کند. این مارکر دو تا چهار هفته پس از تحریک مکرر سلول‌های T، بر سطح این سلول‌ها ظاهر می‌شود (۳).

در مطالعه حاضر جمعیت لنفوسیت‌های T و لنفوسیت‌های T که مارکر CD29 رابیان می‌کردند، در خون محیطی بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید در مقایسه با افراد سالم اختلاف قابل توجهی را نشان نداد، ولیکن جمعیت لنفوسیت‌های CD_{29}^{+} و سلول‌های CD56 افزایش چشمگیری را نشان داد. مطالعات مشابه تغییر نکردن لنفوسیت‌های T و زیر جمعیت‌های آن شامل سلول‌های $CD4^{+}$ و $CD8^{+}$ در خون بیماران آرتریت روماتوئید و افزایش کم لنفوسیت‌های $CD29^{+}T$ در زمان حاد بیماری را نیز گزارش کرده‌اند (۱۲). در راستای تحقیق حاضر در مطالعه ای بر روی سلول‌های تک هسته ای خون محیطی با استفاده از فلوسایتومتری در بیماران آرتریت روماتوئید نشان داده شد که تعداد سلول‌های $CD_4^{+}\ CD_{29}^{+}$ و سلول‌های $CD_8^{+}\ CD_{56}^{+}$ نسبت به افراد نرمال افزایش دارد (۸). افزایش بیان CD29 و HLA-DR بر روی لنفوسیت‌های T مایع سینوویال نسبت به خون محیطی در بیماران مبتلا به آرتریت نوجوانان نیز گزارش شده است (۱۳). لنفوسیت‌های T تنظیمی که با مارکر $CD4^{+}CD25^{+}FoxP3^{+}$ مشخص می‌شوند به‌طور قابل توجهی در مایع سینویال در مقایسه با خون محیطی بیماران آرتریت روماتوئید و افراد سالم افزایش نشان می‌یابد. به‌نظر می‌رسد رسپتورهای کموکاینی در سطح این لنفوسیت‌ها در مهاجرت و لانه گزینی آن‌ها از جریان خون به مایع سینویال نقش داشته باشد (۱۴). تقییرات لنفوسیت‌های T تنظیمی در خون محیطی بیماران اتوایمیون از جمله بیماری آرتریت روماتوئید و ارتباط آن با شدت بیماری گزارش شده است (۱۵).

کاهش جمعیت لنفوسیتی $CD29^{+}$ در بیماران آرتریت روماتوئید بعد ازدرمان با متوتروکسات مشاهده شده است که پیشنهاد می‌کند این تغییر با محدود شدن فعالیت سلول‌های $CD4^{+}$ غیر طبیعی رابطه مستقیم دارد و در نتیجه مهاجرت لنفوسیت‌ها را به سینوویوم ملتهب کاهش می‌دهد (۱۲). مدارک مستندی در دسترس است که نقش عمده سلو ل‌های $CD4^{+}$ T را در آغاز نمودن و حرکت دهنده التهاب روماتیسمی نشان می‌دهد (16). CD29 در سطح سلول‌های $CD4^{+}$ نمایی از یک فنوتایپ حافظه ای می‌باشد. افزایش جمعیت $CD4^{+}CD29^{+}$ در مایع سینوویوم بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید در مقایسه با افراد سالم گزارش شده است (۱۷). افزایش نسبت سلول-های $CD4^{+}CD29^{+}/CD4^{+}CD29^{-}$ به $CD8^{+}CD29^{+}/CD8^{+}CD29^{-}$ در بیماران آرتریت روماتوئید در مقایسه با گروه شاهد نشان داده شده است (۱۸). لنفوسیت‌های CD4+T عمدتا به سلول‌های TH1 که سایتوکاین‌های پیش التهابی مانند IFNγ و TNFα را تولید می‌کنند، تمایز می‌یابند. این سایتوکاین‌ها با تاثیر بر روی سایر سلول‌های ایمنی از جمله ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها نقش مهمی در صدمه بافتی ایجاد می‌کنند و مسئول بسیاری ازتظاهرات آرتریت روماتوئید فعال می‌باشند (۱).

مطالعات اخیر دخالت سلول‌های NK را در بیماری آرتریت روماتوئید مورد توجه قرار داده است. سلول‌های NK از سلول‌های پیش ساز خونی CD34+ منشائ می‌شوند و با روش فلوسیتومتری با بیان و عدم بیان CD56 و CD16 بعنوان سلول‌های بالغ، سلول‌های تنظیم ایمنی و سلول‌های سایتوتوکسیک مطرح هستند که در التهابات مفصلی نقش دارند(۲۰،۱۹،۱۰). افزایش سلول‌های NK در خون محیطی بیماران آرتریت روماتوئید در این تحقیق و دیگر مطالعات مشابه نشان داده شده است (۸). این افزایش ممکن است در پاتوژنز بیماری آرتریت روماتوئید از طریق سایتوتوکسیسیتی با دخالت پرفورین وگر آنزیم و تولید

[1] very late activation

سایتوکاین‌ها نیز نقش داشته باشد. اینترلوکین ۱۵ سبب گسترش و فعالیت سلول‌های NK می‌شود. افزایش اینترلوکین ۱۵ در سرم و سینویوم مفاصل در میان بیماران آرتریت روماتوئید تشخیص داده شده است. (۲۱،۲۰). سلول‌های NK فعال شده می‌توانند به‌عنوان سلول‌های عرضه کننده سوپر آنتی ژن سبب تحریک غیراختصاصی لنفوسیت‌های T شوند (۲۲). کاهش سلول‌های NK در نوجوانان مبتلا به آرتریت روماتوئید گزارش شده است(۲۳). در بیماری روماتوئید سیستمیک نوجونان کاهش سایتوتوکسیتی سلول‌های NK نیز گزارش شده است (۲۴). اخیراً فعال شدن سلول‌های NK که مارکر CD54 را بیان می‌کردند و ارتباط آن با پاسخ‌های کلینیکی در بیماران آرتریت روماتوئید نشان داده شده است (۲۵). جمعیت کوچکی از لنفوسیت‌ها را در خون محیطی سلول‌های NKT تشکیل می‌دهد این سلول‌ها دارای هر دو مارکر سطحی $CD56^+CD3^+$ را دارا می باشند (۳). در مطالعه ای بر خلاف تحقیق حاضر نشان داده شد تعداد سلول‌های NK در خون محیطی بیماران آرتریت روماتوئید در مقایسه با افراد سالم اختلاف قابل توجهی ندارد ولیکن تعداد سلول‌های NKT کاهش می‌یابد که به مطالعات بیشتری در این راستا نیاز دارد (۲۶).

با توجه به نتایج بدست آمده به‌نظر می‌رسد که لنفوسیت‌های فعال شده که عمدتاً لنفوسیت T می‌باشد و سلول‌های NK در روند بیماری آرتریت روماتوئید نقش مهمی دارند چرا که اکثر سایتوکاین‌هایی که باعث بروز و شدت این بیماری درروند تخریب غضروف و استخوان می‌شوند به وسیلی لنفوسیت *T* فعال شده و سلو ل‌های NK ترشح می‌شوند (۲۸،۲۷). این یافته‌ها دلالت بر آن دارند که بیماری آرتریت روماتوئید رویدادی است که با واسطه پاسخ‌های ایمونولوژیکی صورت می‌گیرد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از سرکار خانم راشین بیک پوریان جهت همکاری در آزمایشات فلوسیتومتری حاضر تشکر و قدردانی می‌شود. همچنین از سرکار خانم الهه جهانبخش که متحمل هزینه آزمایشات جهت پایان نامه خود شدند تشکر می‌شود.

References:

1. Lipsky PE. Rheumatoid arthritis. In: Fauci AS, Braunwald E, Editors. Harrison's principal of internal medicine. 17thEd. New York: McGraw Hill Medical; 2008. P.2083-92.
2. Simms RW. Rheumatoid athritis. In: Andreoli TE, Carpenter CJ, Editors. Cecil essentials of medicine. 7th Ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2007. P.804-12.
3. Abbas A, Lichtman AH, Pillai S. Cellular and molecular immunology. 6th Ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2007. P. 419-41.
4. Mullazehi M, Mathsson L, Lampa J, Ronnelid J. Surface-bound anti-type II collagen-containing immune complexes induce production of tumor necrosis factor alpha, interleukin-1beta, and interleukin-8 from peripheral blood monocytes via Fc gamma receptor IIA: a potential pathophysiologic mechanism for humoral anti-type II collagen immunity in arthritis. Arthritis Rheum 2006; 54(6):1759-71.
5. Lacki JK, Mackiewicz SH. The effect of immunosuppressive drugs on expression of surface antigens of lymphocytes in patients with rheumatoid arthritis. Pol Arch Med Wewn 1997; 97(2): 134-43.
6. Lacki JK, Schochat T, Sobieska M, Leszczynski P, Wiktorowicz K, Mackiewicz U. Immunological studies in patients with rheumatoid arthritis treated with methotrexate or cyclophosphamide. Z Rheumatol 1994; 53(2):76-82.
7. Hidaka T, Suzuki K, Matsuki Y. Changes in CD4+T lymphocytes subsets in circulating blood and synovial fluid following filtration leukocytapheresis therapy in patients with rheumatoid arthritis. Ther Apher 1999; 3(2):178-85.
8. Markeijevic J, Marusic M, Uzarevic B. T cell subset composition in remission phase of systemic connective tissue diseases. J Clin Lab Immunol 1991; 35(1): 33-9.
9. Brennan FM, Foey AD, Feldmann M. The importance of T cell interactions with macrophages in rheumatoid cytokine production. Curr Top Micribiol Immunol 2006; 305: 177-94.

10. Namkawa T, Snyder MR, Yen JH, Goehring BE, Leibson PJ, Weyand CM, et al. Killer cell activationreceptors function as costimulatory molecules on CD4/CD28null T cells clonally expanded in rheumtoi arthritis. J Immunol 2000; 165:1138-45.
11. Lewis DE, Barron KS, Miller GP, Rich RR. Multiparameter analysis of human lymphocyte subpopulations using flow cytometry. Surv Synth Pathol Res 1985; 4(3): 234-47.
12. Lacki JK, Korzowska I, Mackiewicz SH. Quantitative changes in peripheral blood lymphocytes in erosive rheumatoid arthritis patients treated with methotrexate correlation with disease activity. J Investig Allergol Clin Immunol 1999; 9(2):96-100.
13. Silverman ED, Isacovies B, Pestche D, Laxer RM. Synovial fluid cells in juvenile arthritis: evidence of selective T cell migration to inflamed tissue. Clin Exp Immunol 1993; 91(1): 90-5.
14. Jiao Z, Wang W, Jia R, Li J, You H, Chen L, et al. Accumulation of FoxP3-expressing CD4+ CD25+ T cells with distinct chemokine receptors in synovial fluid of patients with active rheumatoid arthritis. Scand J Rheumatol 2007; 36(6): 428-33.
15. Sempere-Ortells JM, Pérez-García V, Marín-Alberca G, Peris-Pertusa A, Benito JM, Marco FM, et al. Quantification and phenotype of regulatory T cells in rheumatoid arthritis according to disease activity score-28. Autoimmun 2009; 42(8):636-45.
16. Skapenko A, Lipsy PE, Schulze-Koops H. T cell activation as starter and motor of rheumatic inflammation. Curr Top Microbiol Immunol 2006; 305: 95-211.
17. Cush JJ, Pietschmann P, Oppenheimer-Marks N, Lipsky PE. The intrinsic migratory capacity of memory T cells contributes to their accumulation in rheumatoid synovium. Arthritis Rheum 1992; 35(12): 1434-44.
18. Mertens AV, de Clerck LS, Moens MM, Bridts CH, Stevens WJ. Lymphocyte activation status, expression of adhesion molecules and adhesion to human endothelium in rheumatoid arthritis relationship to disease activity. Res Iimmunol 1994; 145(2): 101-8.
19. Groh V, Bruhl A, EI-Gabalawy H, Nelson JL, Spies T. Stimulation of T cell auto reactivity by anomalous expression of NKG2D and its MIC lagans in rheumatoid arthritis. Proc Nalt Acad Sci U SA 2003:100: 945-57.
20. Cooper MA, Fehniger TA, Caligiuri MA. The biology of human natural killer-cell subsets. Trends Immunol 2004; 25: 47-52.
21. Mendes R, Browelow KW, Westby M, Galea-Lauri J, Smith IE, O'Brien ME, et al. Flow cytometric isolation of cytokine production by CD3-CD56+NK cells and CD3+CD56+NK-T cells in whole blood. Cytometry 2000; 39: 72-8.
22. D'Orazio JA, Stein- Streileni J. Human natural killer (NK) cells present taphylcoccal entrotoxin B (SEB) to T lymphocytes. Clin Exp Immunol 1996; 104:366-73.
23. Wouters CHP, Ceuppens JL, Stevens EAM. Different circulating lymphocyte profiles in patients with different subtypes of juvenil idiopathic arthritis. Clin Exp Rheumatol 2002; 20: 239-48.
24. Villanueva J, Lee S, Giannini EH, Graham T, Passo MH, Filipovich A, et al. Natural killer cell dysfunction is a distinguishing feature of systemic onset juvenile rheumatoid arthritis and macrophages activation syndrome. Arthritis Res Ther 2005; 7: 30-7.
25. Lurati A, Marrazza G, Re KA, Scarpellini M. Relation ship between NK cells activation and clinical response in rheumatoid arthritis treated with rituximab. Int Biomed Sci 2009; 5(2): 92-5.
26. Yanagihara Y, Shiozawa K, Takai M, Kyogoku M, Shiozawa S. Natural killer (NK) T cells are

arthritis: evidence for activation by T cells. Ann Rheum Dis 2005; 64(10):1436-42.

28. Dalbeth N, Gundle R, Davies RJ, Lee YC, McMichael AJ, Callan MF. CD56bright NK cells are enriched at inflammatory sites and can engage with monocytes in a reciprocal program of activation. J Immunol 2004; 173(10): 6418-26.

significantly decreased in the peripheral blood of patients with rheumatoid (RA). Clin Exp Immunol 2000; 118:131-6.

27. Iking-Konert C, Ostendorf B, Sander O, Jost M, Wagner C. Trans differentiation of polymorphonuclear neutrophils to dendritic-like cells at the site of inflammation in rheumatoid