

مقایسه سطح سیتوکاین های IL-5، IL-10، IL-12 و IL-18 مترشحه از سلول های

PBMC در بیماران مبتلا به لیشمانیوز پوستی بهبود یافته و غیر بهبود یافته

دکتر مسعود مهاجری*، دکتر سیدعلی اکبر شمسیان**، دکتر حسین نهرانیان***، دکتر محمود محمودی****
دکتر سیدمحمدجواد یزدان پناه*****، دکتر فرهاد فتحی مقدم*****، مریم شاهی*****

دریافت: ۸۸/۷/۲۸، پذیرش: ۸۸/۱۰/۷

چکیده:

مقدمه و هدف: لیشمانیوز یک مشکل مهم بهداشتی در سراسر جهان از جمله کشور ما ایران می باشد. ضایعات پوستی عموماً خود بهبود یافته اند اما اشکال غیر بهبود یافته لیشمانیوز پوستی نیز اخیراً افزایش یافته است. القای پاسخ سلولهای نوع T-helper (Th1) به مقاومت در برابر بیماری کمک می کند در حالیکه پاسخ های (Th2) T-helper type2 باعث حساسیت در برابر بیماری می شود. با ارزیابی سیتوکاین های (IL-5)، (IL-10)، (IL-12) و (IL-18) مترشحه از سلول های مونونوکلئر خون محیطی (PBMC) در بیماران لیشمانیوز پوستی بهبود یافته و غیر بهبود یافته، نقش این سیتوکاینها را در بهبود بیماران بررسی می کنیم. **روش کار:** سطح سیتوکاین های مترشحه از سلولهای PBMC در ۶۰ نفر از بیماران بهبود یافته و غیربهبود یافته و گروه کنترل درمانگاه شماره یک آب و برق و بیمارستان قائم مشهد در سال ۱۳۸۵ پس از تحریک با آنتی ژن لیشمانیا ماژور و میتوژن در محیط *in vitro* توسط روش الیزا و استفاده از کیت های صنعتی ارزیابی شد.

نتایج: سلول های PBMC افراد بهبود یافته، IL-12 را با غلظت $236/55 \pm 38/00$ و بیش از بیماران غیربهبود یافته ترشح کردند ($p < 0/05$) در حالیکه در بیماران غیربهبود یافته IL-5 ($52/16 \pm 65/21$ pg/ml) و IL-10 ($30/19 \pm 18/73$ pg/ml) بیش از بیماران بهبود یافته ترشح شدند ($p < 0/05$). همچنین دریافتیم IL-18 در بیماران غیربهبود یافته با غلظت $433/02 \pm 225/30$ pg/ml به طور معنی داری بیش از افراد بهبود یافته ترشح می شود ($p = 0/03$).

نتیجه نهایی: با توجه به نتایج بدست آمده می توان نتیجه گرفت که IL-12 در افراد بهبود یافته نسبت به افراد غیر بهبود یافته بیشتر ترشح می شود ولی IL-18 که باعث افزایش ترشح IL-12 و فعالیت سلول های Th1 می شود در مواقعی که ترشح IL-12 کاهش می یابد، در افراد غیر بهبود یافته بیشتر ترشح می شود و در آنها باعث القاء پاسخ های Th2 و پیشرفت بیماری می شود.

کلید واژه ها: سیتوکاین ها / لیشمانیوز پوستی / ضایعات پوستی

مقدمه:

بیماری پوستی گسترده و غیر بهبود یافته ظهور نماید (۲). این بیماری به عنوان یک مشکل بهداشتی مهم در ایران می باشد تا حدی که حدود ۷۰ درصد از ساکنین بعضی مناطق کشور نشانی از زخم لیشمانیوز در گذشته را با

لیشمانیوز پوستی با زخم و جراحات در محل عفونت بروز می کند (۱). لیشمانیوز پوستی می تواند به صورت یک جراحی پوستی خود بهبود یافته تا زخم های یک

* دانشیار گروه انگل شناسی و قارچ شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد (MohajeryM@mums.ac.ir)

** استادیار جهاد دانشگاهی واحد مشهد

*** استادیار بخش انگل شناسی انستیتو پاستور ایران

**** استاد مرکز تحقیقات ایمنولوژی پژوهشکده بوعلی مشهد

***** دانشیار گروه پوست دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

***** مربی پژوهشی جهاد دانشگاهی واحد مشهد

***** کارشناس ارشد انگل شناسی

موارد مثبت از مطالعه حذف گردیدند. بیماران در ۲ گروه بهبود یابنده و غیر بهبود یابنده با یکدیگر و گروه کنترل مقایسه شدند. گروه اول شامل ۲۰ نفر از افرادی بود که بیماری آنها توسط لیشمانین تست و اسمیر مستقیم از ضایعه تشخیص داده شده بود و به اولین دوره درمان با گلوکانتیم پاسخ داده بودند و حداکثر پس از یک ماه از اتمام دوره درمان از نظر کلینیکی و آزمایشگاهی علائمی نداشتند (گروه بیماران بهبود یابنده). گروه دوم شامل ۲۰ نفر از افرادی می شد که بیماری آنها توسط لیشمانین تست و اسمیر مستقیم از ضایعه تشخیص داده شده بود و پس از چندین دوره درمانی (حداقل ۳ دوره) و گذشت یک ماه از آخرین دوره درمانی به درمان پاسخ نداده بودند (گروه غیر بهبود یابنده). روش های درمانی گلوکانتیم شامل درمان های موضعی و سیستمیک است، برای زخم های بدون التهاب و تازه از درمان موضعی و جهت درمان افرادی که زخم های متعدد دارند و یا زخم ها در محل هایی که امکان درمان موضعی وجود ندارد واقع شده اند از درمان سیستمیک استفاده می شود (۸).

جهت درمان موضعی با توجه به اندازه زخم گلوکانتیم به وسیله سرنگ انسولین در اطراف ضایعه یک بار در هفته به مدت ۱۰-۷ هفته تزریق می گردد. در درمان سیستمیک ۲۰ mg/kg گلوکانتیم روزانه به مدت ۲۰ روز تجویز می شود (۹).

گروه کنترل شامل ۲۰ نفر از افرادی بود که تا کنون به بیماری لیشمانیوز مبتلا نشده بودند و نتیجه لیشمانین تست آنها منفی بود. این افراد حداقل امکان از خانواده های افراد مورد مطالعه بودند تا شرایط یکسانی از نظر تغذیه و محیط زندگی بین گروه ها برقرار باشد.

جهت جداسازی سلولهای PBMC (Peripheral blood

mononuclear cells)، خون حاوی EDTA همراه فایکول به مدت ۳۰ دقیقه با دور rpm ۳۰۰۰ سانتریفوژ شد سپس لایه سلولهای PBMC توسط سمپلر جدا شدند. سلولهای PBMC بوسیله فسفات بافر سالین (Phosphate-(PBS) buffered saline، ۲ بار جهت خالص سازی شستشو داده شدند. سپس سلولهای زنده توسط رنگ تریبان بلو شمارش شدند. تعداد 10^6 عدد سلول در حجم ۱ ml محیط RPMI-1640 حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گوساله غیرفعال شده و ۱۰۰۰۰ u/ml محلول پنی سیلین و ۱۰۰۰۰ $\mu\text{g/ml}$ محلول استرپتومایسین داخل پلیتهای ۱۲ خانه ای کشت

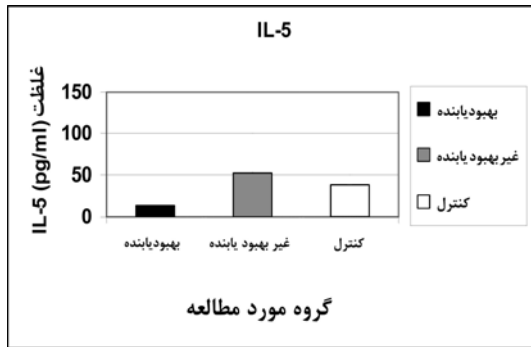
خود دارند ولی درمان مطلوب برای این بیماری هنوز شناخته نشده است (۳). ترکیبات پنج ظرفیتی آنتی موان رژیم دارویی خط اول درمان لیشمانیوز محسوب می شوند، این داروها معمولاً در ۷۰-۸۵ درصد موارد مؤثر هستند البته در صورتی که دوز کافی به بیمار داده شود (۳). مقاومت دارویی به صورت یک مسئله مهم بهداشت عمومی درآمده است این مسئله خصوصاً در انواع آنترپونوتیک که توسط گونه‌هایی مثل لیشمانیا دونووانی و لیشمانیا تروپیک ایجاد می‌شوند، اهمیت بیشتری دارد (۴). گفته شده است عفونت پیش رونده به اختلال در پاسخ های اختصاصی Th1 در برابر انگل لیشمانیا و نقص در تولید IFN- γ مربوط می باشد (۵). لنفوسیت های Th1CD4^+ ماکروفاژها را در جهت کنترل انگلهای داخل سلولی فعال می کنند و در مقابل لنفوسیت های Th2 CD4^+ در پیشرفت و گسترش بیماری نقش دارند (۴،۶). IFN- γ که از سلولهای Th1 ترشح می شود ماکروفاژها را فعال می کند در حالی که غلظت های زیاد IL-4 سیتوکاین شاخص زیر گروه Th2 از فعال شدن ماکروفاژها جلوگیری می کند (۷). اثر القا کنندگی Th1، اینترفرون گاما، همچنین به طور غیر مستقیم به واسطه فعال نمودن بیگانه‌خوارهای تک هسته ای برای تولید IL-12 می باشد زیرا IL-12 سیتوکاین اصلی القا کننده Th1 است (۷).

وجود بیماری لیشمانیوز پوستی یا سالک در خراسان بویژه شهر مشهد و گزارش بروز مقاومت به درمان در برخی افراد و نقش کلیدی سیتوکاینها در تعیین سرنوشت عفونت ما را برآن داشت تا با بررسی ترشح سیتوکاینهای مترشحه از سلولهای Th1 و Th2 در بیماران بهبود یابنده و غیربهبود یابنده روشی مطلوب برای درمان این بیماران بیابیم.

روش کار:

افراد مورد مطالعه از میان بیماران مراجعه کننده به درمانگاه شماره یک آب و برق و بیمارستان قائم مشهد در فاصله زمانی آبان ۱۳۸۵ تا اسفند ۱۳۸۵ انتخاب شدند. از افراد داوطلب که جهت شرکت در مطالعه فرم رضایت نامه را تکمیل نمودند نمونه خون گرفته شد. در این مطالعه معاهده هلسینکی در مورد اخلاق پزشکی در تحقیقات رعایت گردید. افراد مورد مطالعه از نظر عدم ابتلا به بیماریهای انگلی روده ای، دیابت، ویروس HTLV-1 و (Human immunodeficiency virus) HIV (Human T-Cell Lymphotropic Virus) بررسی شدند و

نتایج نشان داد که IL-5 در گروه بهبود یافته نسبت به گروه غیر بهبود یافته به طور معنی داری کمتر ترشح شده بود ($p=0/001$). ولی تفاوت میزان ترشح IL-5 بین گروه غیر بهبود یافته و گروه کنترل معنی دار نبود. در حالیکه در گروه کنترل نسبت به گروه بهبود یافته این اینترلوکین افزایش معنی داری نشان داد ($P=0/029$) (نمودار ۱).



نمودار ۱: مقایسه میانگین غلظت IL-5 ترشح شده در بیماران بهبود یافته و غیر بهبود یافته لیشمانیوز پوستی در مقایسه با گروه کنترل

IL-10 در گروه بهبود یافته نسبت به گروه غیر بهبود یافته به شکل معنی داری کمتر ترشح شده بود ($p<0/0001$). ولی تفاوت میزان ترشح IL-10 بین گروه غیر بهبود یافته و گروه کنترل معنی دار نبود. در گروه کنترل نیز IL-10 نسبت به گروه بهبود یافته افزایش معنی داری داشت ($p=0/001$) (نمودار ۲).

جدول ۱: مقایسه غلظت سیتوکاین های ترشح شده (pg/ml) در بیماران مبتلا به لیشمانیوز پوستی بهبود یافته، غیر

بهبود یافته و گروه کنترل مورد مطالعه

سیتوکاین	گروه بهبود یافته	گروه غیر بهبود یافته	گروه کنترل	مقایسه چندگانه گروهها	ارزش P
IL-10	۹/۴۷±۶/۵۶	۳۰/۱۹±۱۸/۷۳	۲۸/۴۹±۱۸/۵۸	۲و۱	۰/۰۰۰۱ ۰/۰۰۱ ۰/۹۳۷
IL-12	۲۳۶/۵۵ ±۲۸/۰۰	۱۹۳/۵۲±۷۳/۴۳	۲۴۹/۳۶±۳۶/۸۱	۲و۱ ۳و۱ ۳و۲	۰/۰۳۱ ۰/۷۲۰ ۰/۰۰۴
IL-4	۴/۲۹±۳/۳۸	۱۰/۴۳±۵/۶۸	۱۰/۱۱±۹/۵۱	۲و۱ ۳و۱ ۳و۲	۰/۰۰۰۱ ۰/۰۱۹ ۰/۱۱۷
IL-5	۱۲/۷۸±۶/۶۳	۵۲/۱۴±۶۵/۲۱	۳۹/۰۳±۵۰/۳۳	۲و۱ ۳و۱ ۳و۲	۰/۰۰۱ ۰/۰۲۹ ۰/۲۹۸
IL-18	۲۷۰/۵۷±۱۰۶/۹۴	۴۳۳/۰۲±۲۲۵/۳۰	۲۶۷/۳۴±۹۸/۸۳	۲و۱ ۳و۱ ۳و۲	۰/۰۰۳ ۰/۲۷۹ ۰/۰۰۴
IFN-γ	۶۱۳/۲۲±۲۱۶/۹۹	۳۷۷/۲۹±۳۳۴/۳۴	۸۲۳/۲۳±۳۰۲/۵۷	۲و۱ ۳و۱ ۳و۲	۰/۰۳۳ ۰/۰۶۴ ۰/۰۰۰۱

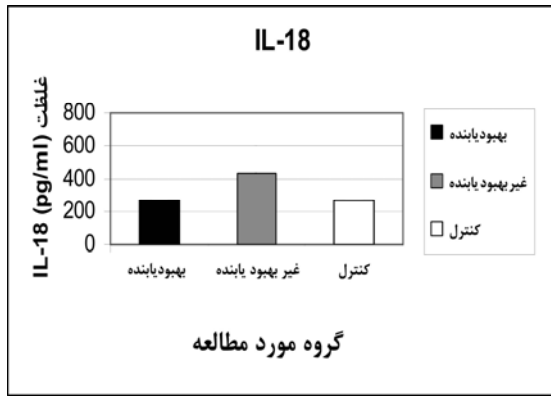
شدند. سلولهای PBMC توسط $10 \mu\text{g/ml}$ فیتوهماگلوتینین (PHA) و $41/5 \mu\text{g/ml}$ آنتی ژن لیشمانیا (L. Major MRHO/IR/75/ER) اهدایی بخش انگل شناسی انستیتو پاستور ایران، تحریک شدند و پلیتها به مدت ۴۸ ساعت داخل انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد تحت دی اکسید کربن ۵٪ قرار گرفتند. پس از گذشت مدت زمان لازم برای کشت سوپرناتانت از محیط کشت جدا شد و داخل میکروتیوبهای ۰/۵ میلی لیتری داخل فریزر -70°C نگهداری گردید.

پس از تکمیل نمونه ها، آزمایشات الیزا با استفاده از کیت های تشخیصی IL-5، IL-10 و IL-12 ساخت کمپانی بیوسورس (Biosource) بلژیک و IL-18 ساخت کمپانی بندرمد (Bendermed) اتریش روی سوپرناتانت نگهداری شده در فریزر، جهت اندازه گیری سیتوکاینهای IL-5، IL-18، IL-12 و IL-10 انجام شد.

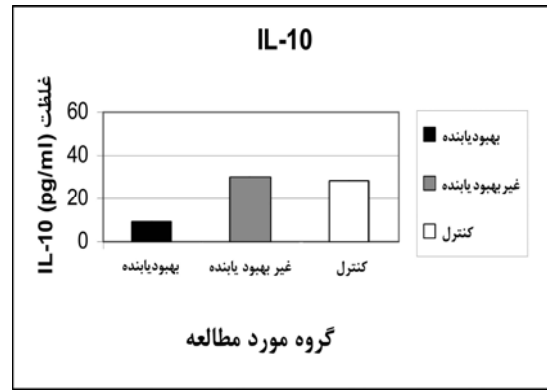
مقایسه مقادیر اینترلوکین ها در گروههای مورد مطالعه با تجزیه تحلیل اطلاعات بوسیله آزمونهای آنالیز واریانس، کروسکال والیس و من ویتنی در نرم افزار spss 12 انجام شد. در بررسی های انجام شده $p<0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج:

سطح سیتوکاینهای IL-5، IL-10، IL-18 و IL-12 داخل سوپرناتانت در سه گروه مورد مطالعه اندازه گیری شد که نتایج آن در جدول ۱ مشاهده می شود.



نمودار ۴: مقایسه میانگین غلظت IL-18 ترشح شده در بیماران بهبود یابنده و غیر بهبود یابنده لیشمانیوز پوستی در مقایسه با گروه کنترل



نمودار ۲: مقایسه میانگین غلظت IL-10 ترشح شده در بیماران بهبود یابنده و غیر بهبود یابنده لیشمانیوز پوستی در مقایسه با گروه کنترل

بحث:

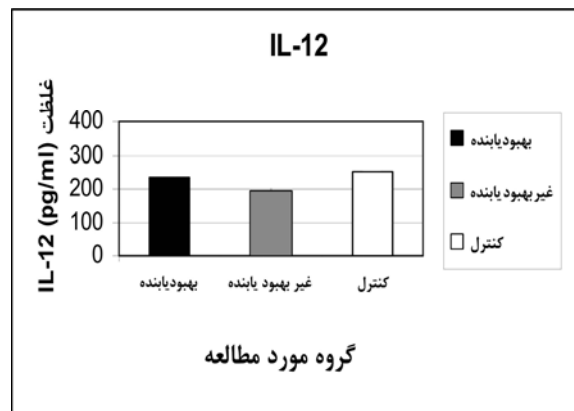
مطالعات محدودی در زمینه مقایسه ترشح سیتوکاینها در انسان های مبتلا به سالک بهبود یابنده و غیر بهبود یابنده انجام شده است و بیشتر مطالعات در این رابطه در مدل های حیوانی بوده است. در مدل های آزمایشی پاسخ های سلولی نوع Th1 در ارتباط با محافظت در برابر انگل لیشمانیا و فعالیت پاسخ Th2 در ارتباط با پیشرفت بیماری است (۵). موش بهترین الگوی تجربی برای نشان دادن نقش سلول های Th1 و Th2 در مقاومت یا حساسیت میزبان در مقابل عفونت با انگل لیشمانیا مآزور بوده است (۱۰).

در مطالعه حاضر مشخص شد که پاسخ ایمنی افراد در گروه های مورد مطالعه خصوصاً گروه بهبود یابنده و غیر بهبود یابنده لیشمانیوز پوستی تفاوت عمده ای با هم دارد.

ترشح IL-12 که ایمنی سلولی را افزایش می دهد در گروه بهبود یابنده نسبت به گروه غیر بهبود یابنده افزایش معنی داری نشان داد. در گروه کنترل نیز نسبت به گروه غیر بهبود یابنده این افزایش معنی دار بود. ولی ترشح IL-12 در گروه بهبود یابنده و گروه کنترل تفاوت معنی داری را نشان نداد.

IL-12 ایمنی سلولی را به وسیله پیشرفت در تمایز سلولهای TCD4⁺ به زیر گروه Th1 افزایش می دهد (۶،۱۱). نقش IL-12 در فعال کردن سلول های NK منجر به فعال شدن ماکروفاژها می شود زیرا باعث افزایش تولید IFN- γ از سلول های NK می شود همچنین IL-12 به همراه IL-18 اثر بیشتری در تحریک تولید IFN- γ بوسیله

IL-12 در گروه بهبود یابنده نسبت به گروه غیر بهبود یابنده افزایش معنی داری را نشان داد ($p=0/031$). این سیتوکاین در گروه کنترل نیز نسبت به گروه غیر بهبود یابنده افزایش نشان داد ($p=0/004$) ولی ترشح IL-12 در گروه بهبود یابنده و گروه کنترل تفاوت معنی داری را نشان نداد (نمودار ۳).



نمودار ۳: مقایسه میانگین غلظت IL-12 ترشح شده در بیماران بهبود یابنده و غیر بهبود یابنده لیشمانیوز پوستی در مقایسه با گروه کنترل

IL-18 در گروه بهبود یابنده نسبت به گروه غیر بهبود یابنده به صورت معنی داری کمتر ترشح شده بود ($p=0/003$) و در گروه کنترل نیز نسبت به گروه غیر بهبود یابنده کاهش معنی داری را نشان داد ($p=0/004$). میزان ترشح IL-18 در گروه بهبود یابنده و گروه کنترل تفاوت معنی داری را نشان نداد (نمودار ۴).

سلول‌های NK دارد (۱۲،۱۳).

مطالعه حبیبی و همکاران در سال ۲۰۰۱ در انستیتو رازی ایران بر روی لنفوسیت‌های بیماران مقاوم و حساس به درمان لیشمانیوز پوستی پس از تحریک با آنتی‌ژن نوترکیب gp63 و آنتی‌ژن محلول لیشمانیا با روش RT-PCR نشان داد که افزایش بیان ژن IL-4 و کاهش بیان ژن IL-12 و IFN- γ در افراد مقاوم به درمان وجود دارد (۱۴).

ترشح IL-10 در گروه غیر بهبود یافته نسبت به گروه بهبود یافته افزایش معنی داری را نشان داد. در گروه کنترل نسبت به گروه بهبود یافته نیز این افزایش معنی دار مشاهده شد. تفاوت معنی داری از نظر ترشح IL-10 در گروه غیر بهبود یافته و گروه کنترل مشاهده نشد. در مطالعه اندرسون و همکاران در سال ۲۰۰۷ در آمریکا بر روی سیتوکاین‌های مترشح در بیماران فرم مزمن لیشمانیوز پوستی نشان داده شد که این فرم بیماری با افزایش سطح IL-10 همراه است و آنها هم نتایج مشابه نتایج این مطالعه بدست آوردند (۱۵). اشکال غیر بهبود یافته لیشمانیازیس در انسان معمولاً با افزایش سطح IL-10 همراه است (۱۶). IL-10، تولید IL-12 را توسط ماکروفاژهای فعال و سلول‌های دندریتیک مهار می‌کند. IL-12 یک محرک ضروری در ترشح IFN- γ و القاگر واکنش‌های ایمنی ذاتی و سلولی در برابر انگل‌های درون سلولی از جمله لیشمانیا است و IL-10 در جهت فروتنی این واکنش‌ها عمل می‌کند. همچنین به دلیل نقش IL-10 در جلوگیری از بروز کمک محرک‌ها و مولکول‌های MHC کلاس II بر سطح ماکروفاژها و سلول‌های دندریتیک، IL-10 با مهار فعالیت سلول‌های T به واکنش‌های ایمنی وابسته به سلول پایان می‌دهد (۱۰) بنابراین با توجه به نتایجی که در رابطه با میزان کم ترشح IL-10 در گروه بهبود یافته این مطالعه بدست آمده است، می‌توان نتیجه گرفت که مهار ترشح IL-10 در افراد غیر بهبود یافته می‌تواند به بهبود ضایعات آنها کمک کند. در مطالعه اندرسون روی موش‌های مبتلا به عفونت مزمن لیشمانیوز پوستی نیز آن موش‌ها در غیاب IL-10 درمان شدند (۱۵).

در مطالعه حاضر ترشح IL-5 که فعالیت آن مکمل عملکرد IL-4 و IL-10 می‌باشد در گروه غیر بهبود یافته نسبت به گروه بهبود یافته افزایش معنی داری نشان داد. در گروه کنترل نیز نسبت به گروه بهبود یافته این افزایش

معنی دار بود. ترشح IL-5 در گروه غیر بهبود یافته و گروه کنترل تفاوت معنی داری را نشان نداد.

در مطالعه ای که راجرز و همکاران در سال ۲۰۰۴ در آمریکا روی پاسخ‌های سیتوکاینی انسان نسبت به لیشمانیا ماژور در مرحله اولیه مواجهه با انگل لیشمانیا در محیط *in vivo* انجام دادند، مشخص شد IFN- γ اصلی‌ترین سیتوکاینی است که در مرحله مقدماتی عفونت تولید می‌شود و ترشح آن با IL-10 و IL-12 تنظیم می‌شود ولی سطح پایینی از سیتوکاین‌های زیرگروه Th2 مثل IL-5 ترشح می‌شود (۱۷).

با توجه به اینکه گفته شده است IL-18 نقش مهمی در ایجاد پاسخ‌های Th1 با القاء تولید IFN- γ از سلول‌های T و سلول‌های NK به عهده دارد و در این مسیر به صورت سینرژیک با IL-12 عمل می‌کند، انتظار می‌رفت در افراد بهبود یافته میزان بیشتری از ترشح IL-18 را داشته باشیم ولی بر خلاف انتظار میانگین غلظت IL-18 ترشح شده در گروه غیر بهبود یافته نسبت به گروه بهبود یافته و گروه کنترل افزایش معنی داری نشان داد. گروه بهبود یافته و گروه کنترل از نظر ترشح IL-18 تفاوت معنی داری را نشان ندادند.

IL-18 باعث افزایش ترشح IL-12 می‌شود و IL-12 بیان رسپتور IL-18 را بر روی سلول‌های Th1 افزایش می‌دهد و این سلول‌ها را برای تأثیر IL-18 بر روی آنها حساس کند. این رسپتورها بر روی سلول‌های Th2 ایجاد نمی‌شوند ولی IL-18 در غیاب IL-12 تمایز سلول‌های TCD4⁺ را به سمت Th2 افزایش می‌دهد و همین‌طور باعث القاء IgE می‌شود به علاوه تولید IL-4 و آزدسازی هیستامین از بازوفیل‌ها و ماست‌سل‌ها را القاء می‌کند (۱۸). در حال حاضر کاهش تولید IL-12 در بیماران مقاوم به درمان یا بهبود نیافته لیشمانیوز پوستی محرز شده است (۱۹). بنابراین با استناد به نتایج مطالعه حاضر می‌توان گفت: احتمالاً در بیماران غیربهبود یافته لیشمانیوز پوستی که سطح IL-12 در آنها کاهش یافته است IL-18، باعث افزایش پاسخ‌های Th2 و افزایش شدت بیماری می‌شود.

مطالعه اوکوسو و همکاران که سال ۲۰۰۰ در توکیو انجام شد، نشان داد که IL-18 مسئول القاء پاسخ‌های Th1 نیست ولی در مقاومت میزبان به وسیله تحریک سلول‌های Th1 در تولید IFN- γ نقش دارد (۲۰).

6. Abol KA, Lichtman AH, Pober JS. Cellular and molecular Immunology. 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2000.
7. Abol KA. [Molecular and cellular immunology]. Translated by Mohamadali A, Mehri G.B, Hasan R. Mashhad: Jahad Daneshgahi, 2008(Persian).
8. Khan SJ, Muneeb S. Cutaneous leishmaniasis in Pakistan. *Dermatol Online J* 2005;11(1):4.
9. Markle WH, Makhoul K. Cutaneous leishmaniasis: recognition and treatment. *Am Fam Physician* 2004 Mar; 69(6):1455-60.
10. Abol KA. [Molecular and cellular immunology]. Translated by Arioshahin J, Mahdi M, Roghiyeh V, et al. Tehran: Farhang Library, 2007. (Persian)
11. Constantinescu CS, Hondowicz BD, Elloso MM, Wysocka M, Trinchieri G, Scott P. The role of IL-12 in the maintenance of an established Th1 immune response in experimental leishmaniasis. *Eur J Immunol* 1998 Jul;28(7):2227-33.
12. Gary S. Switch from a type 2 to type 1 T helper cell response and cure of established leishmania major infection in mice is induced by combined therapy with IL12 and pentostam. *Proc Natl Acad Sci* 1995 Apr; 92:3142-6.
13. Carrada G, Caneda C, Salaiza N, Delgado J, Ruix A, Sanchez B, et al. Monocyte cytokine and costimulatory molecule expression in patients infected with *Leishmania mexicana*. *Parasite Immunol* 2007;29(3): 117-126.
14. Habibi GR, Khamesipour A, McMaster WR, Mahboudi F. Cytokine gene expression in healing and non-healing cases of cutaneous leishmaniasis in response to in vitro stimulation with recombinant gp63 using semi-quantitative RT-PCR. *Scand J Immunol* 2001 Oct;54(4):414-20.
15. Anderson CF, Oukka M, Kuchroo VJ, Sacks D. CD4+CD25-Foxp3- Th1 cells are the source of IL-10-mediated immune suppression in chronic cutaneous leishmaniasis. *J Exp Med* 2007 Feb; 204(2):285-97.
16. Anderson CF, Oukka M, Kuchroo VJ, Sacks D. CD(+)CD25(-)Foxp3(-) Th1 cells are the source of IL-10-mediated immune suppression in chronic cutaneous leishmaniasis. *J Exp Med* 2007 Feb; 204(2): 285-97.
17. Rogers KA, Titus RG. The human cytokine response to leishmania major early after exposure to the parasite in vitro. *J Parasitol* 2004 Jun; 90(3):557-63.
18. Nakanishi K, Yoshimoto T, Tsutsui H, Okamura H. Interleukin-18 regulates both Th1 and Th2 responses. *Ann Rev Immunol* 2001;19:423-74.
19. Li J, Padigel UM, Scott P, Farrell JP. Combined treatment with interleukin-12 and indomethacin promotes increased resistance in BALB/c mice with established leishmania major infections. *Infect Immun* 2002 Oct 1;70(10):5715-20.

مطالعه ای در سال ۲۰۰۸ نشان داد که موش های BALB/c با نقص در تولید IL-18 مقاومت بیشتری در برابر عفونت پوستی با لیشمانیا مکزیکانا دارند، همینطور کاهش پیشرفت جراحات و تعداد کم انگل در زخم آنها در مقایسه با موش های طبیعی BALB/c مشاهده شد (۲۱).

نتیجه نهایی:

سیتوکاین هایی که باعث افزایش فعالیت پاسخ Th2 می شوند مثل IL-5 و IL-10 در بیماران غیربهبودیابنده بیش از افراد بهبودیابنده ترشح می شود. و سیتوکاین هایی که باعث افزایش پاسخهای Th1 می شوند مثل IL-12 در افراد بهبودیابنده نسبت به بیماران غیربهبودیابنده بیشتر ترشح می شود. IL-18 که باعث افزایش IL-12 و فعالیت سلول های Th1 می شود در مواقعی که ترشح IL-12 کاهش می یابد، باعث القاء پاسخ های Th2 می گردد و بیماران غیربهبودیابنده لیشمانیوز پوستی را نسبت به بیماری حساس تر می کند.

سپاسگزاری:

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد که این طرح با حمایت مالی ایشان انجام گرفت، قدردانی می گردد.

منابع:

1. Eidsmo L, Nylén S, Khamesipour A, Hedblad MA, Chiodi F, Akuffo H. The contribution of the Fas/FasL apoptotic pathway in ulcer formation during *Leishmania major*-induced cutaneous leishmaniasis. *Am J Pathol* 2005 Apr; 166(4): 1099-108.
2. Nahrevanian H, Farahmand M, Aghighi Z, Assmar M, Amirkhani A. Pharmacological evaluation of anti-leishmanial activity by in vivo nitric oxide modulation in Balb/c mice infected with *Leishmania major* MRHO/IR/75/ER: An Iranian strain of cutaneous leishmaniasis. *Exp Parasitol* 2007; 116: 233-240.
3. Momeni A, Aminjavaheri M. Successful treatment of nonhealing cases of cutaneous leishmaniasis, using a combination of meglumine antimoniate plus allopurinol. *Eur J Dermatol* 2003; 13(1): 40-43.
4. Awasthi A, Mathur RK, Saha B. Immune response to *Leishmania* infection. *Indian J Med Res* 2004 June;119:238-258.
5. Ajdary S, Alimohammadian MH, Eslami MB, Kemp K, Kharazmi A. Comparison of the immune profile of nonhealing cutaneous leishmaniasis patients with those with active lesions and those who have recovered from infection. *Infect Immun* 2000 Apr; 68(4):1760-4.

20. Ohkusu K, Yoshimoto T, Takeda K, Ogura T, Kashiwamura Si, Iwakura Y, et al. Potentiality of interleukin-18 as a useful reagent for treatment and prevention of leishmania major infection. *Infect Immun* 2000 May;68(5):2449-56.
21. Bryson KJ, Wei XQ, Alexander J. Interleukin-18 enhances a Th2 biased response and susceptibility to leishmania Mexican in B ALB/c mice. *Microbes Infect* 2008 Jun; 10(7): 834-9.