

اثر درمان دارویی لیشمانیوز احشایی بر سطح سرمی اینترفرون گاما، اینترلوکین ۱۰ و اینترلوکین ۱۲ در کودکان مبتلا به لیشمانیوز احشایی

دکتر ابوالفضل خوشدل*، دکتر عبدالوهاب البرزی**، دکتر منوچهر رسولی**، دکتر الهام طاهری***

* دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهرکرد، دانشکده پزشکی، گروه اطفال

** مرکز تحقیقات میکروبیولوژی بالینی پروفیسور البرزی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شیراز

تاریخ دریافت مقاله: ۸۶/۱۱/۲۲

تاریخ پذیرش مقاله: ۸۷/۴/۴

*** دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهرکرد، معاونت پژوهشی

چکیده

زمینه و هدف: لیشمانیوز احشایی (کالاآزار) یک مشکل بهداشتی عمده در کشورهای در حال توسعه محسوب می گردد. در اثر عدم درک دقیق جنبه های مختلف این بیماری از جمله تنظیم عملکرد سیستم ایمنی اقدامات پیشگیری کننده موثر در برابر این بیماری امکان پذیر نشده است. درک صحیح و دقیق از نحوه تنظیم عملکرد سیستم ایمنی در لیشمانیوز احشایی در انسان ها می تواند برای طراحی کردن و نیز ارزیابی اقدامات پیشگیری کننده در برابر این بیماری مفید باشد.

مواد و روش کار: این مطالعه مداخله ای قبل و بعد در فاصله فروردین ماه ۱۳۸۲ تا خرداد ماه ۱۳۸۳ در بخش عفونی کودکان بیمارستان نمازی شیراز انجام گرفت. جهت ارزیابی عملکرد سیستم ایمنی، ۳۲ کودک مبتلا به لیشمانیوز احشایی که در بخش عفونی کودکان بیمارستان نمازی شیراز بستری بودند وارد مطالعه شدند. سطوح سرمی سیتوکاین ها (اینترفرون ۷، اینترلوکین ۱۰ و اینترلوکین ۱۲) در زمان بیماری فعال، بعد از قطع تب، در زمان ترخیص و ۲ ماه بعد از ترخیص از بیمارستان اندازه گیری شد جهت تجزیه و تحلیل اطلاعات از نرم افزار آماری SPSS و از آزمون نان پارامتری رتبه ای علامت دار ویل کاکسون استفاده گردید و $P < 0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها: سطح سرمی سیتوکاین های اینترفرون ۷، اینترلوکین ۱۲ و اینترلوکین ۱۰ قبل از درمان بیماران بالا بود و بدنبال شروع درمان مقادیر فوق سیر نزولی داشت به نظر می رسد عامل اصلی برای مهار فعالیت اینترفرون ۷، اینترلوکین ۱۰ باشد زیرا این سیتوکاین قبل از درمان دارای مقادیر بالا ($88/3 \pm 77/5$) در سرم بود که بعد از درمان به میزان زیادی ($25 \pm 18/3$) کاهش یافت به طوری که بعد از ۲ ماه مقدار آن به $5/7 \pm 1/9$ رسید و اختلاف آماری معناداری بین کلیه نمونه ها وجود داشت ($P < 0/05$).

نتیجه گیری: بر اساس نتایج این مطالعه اینترفرون ۷ و اینترلوکین ۱۰ مولکول هایی هستند که به احتمال زیاد فرجام لیشمانیوز احشایی را تعیین می کنند. بعد از درمان مدت زمان زیادی طول می کشد تا سیتوکاین ها به سطح نرمال بازگردند بنابراین نمی توان از سنجش سیتوکاین ها به عنوان معیارهایی برای تشخیص درمان قطعی بیماری استفاده کرد. (طیب شرق، دوره ۱۰، شماره ۱، بهار ۸۷، ص ۹ تا ۱۶)

کلیدواژه ها: لیشمانیوز احشایی، سیتوکاین، اینترفرون ۷، اینترلوکین ۱۰، اینترلوکین ۱۲

مقدمه

بیماری لیشمانیا اینفانتوم است. البته لیشمانیا تروپیکا هم می تواند سبب بیماری در این مناطق باشد.^(۳) تظاهرات بالینی این بیماری تحت تاثیر پاسخ ایمنی میزبان به انگل می باشد به این ترتیب لیشمانیوز احشایی می تواند بصورت بدون علامت بالینی (asymptomatic form)، با علائم بالینی خفیف (فرم ساب کلینیکال یا فرم oligosymptomatic) و یا بصورت درگیری

لیشمانیوز احشایی (کالاآزار) یک مشکل بهداشتی عمده در کشورهای در حال توسعه محسوب می گردد.^(۱) این بیماری در بسیاری از نقاط دنیا بصورت اندمیک می باشد.^(۲) این بیماری کشنده توسط گونه های مختلف لیشمانیا از جمله لیشمانیا دنووانی، لیشمانیا اینفانتوم و لیشمانیا شاگاسی با توزیع جغرافیایی مختلف ایجاد می گردد. برای مثال در جنوب ایران عامل اصلی

سیتوکاین های القاگر γ -IFN در پلاسمای بیماران مبتلا به این بیماری نشان داده شده است.^(۱۱-۱۵)

با این حال γ -IFN موجود قادر نیست فعالیت مناسبی در این بیماران داشته باشد و شاید این امر به علت تولید سیتوکاین های counter regulatory از قبیل IL-10 باشد.^(۱۶،۱۷) در زمینه بررسی سیتوکاین ها در مقاطع مختلف بیماری در بیماران مبتلا به لیشمانیوز احشایی مطالعات اندکی صورت گرفته است. برای مثال در یک مطالعه نشان داده شده است که در بیماران مبتلا به مرحله حاد کالاآزار ارتباط مستقیم بین سطح سرمی γ -IFN و IL-10 وجود دارد.^(۱۸) برخی پژوهش ها به این امر اشاره کرده اند که در پلاسمای بیماران مبتلا به لیشمانیوز احشایی γ -IFN و دیگر سایتوکاین ها از قبیل IL-10 افزایش داشته اند.^(۱۹-۲۰) امادری بیماران هندی و بیماران برزیلی مبتلا به لیشمانیوز احشایی کاهش سطح پلاسمایی این سایتوکاین ها دیده شده است.^(۲۱،۲۲) ارزیابی وجود سیتوکاین ها و سطوح سرمی آنها طی بیماری فعال و همچنین مقاطع زمانی مختلف پس از درمان بیماری الگوی تغییر سایتوکاین ها را به ما نشان می دهد و جهت درک مکانیسم های تنظیم عملکرد سیستم ایمنی در این بیماری پیچیده مفید خواهد بود.

هدف از این مطالعه ارزیابی سطوح سرمی سایتوکاین های γ -IFN، IL-10 و IL-12 طی بیماری فعال، بعد از قطع تب، در زمان ترخیص و ۲ ماه بعد از ترخیص در کودکان مبتلا به لیشمانیوز احشایی می باشد.

روش کار

این مطالعه مداخله ای قبل و بعد (pretest – post test) در مرکز تحقیقات میکروبیولوژی بالینی پروفیسور البرزی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی شیراز طراحی شد. این پژوهش از اول فروردین سال ۱۳۸۲ تا اول خرداد ماه ۱۳۸۳ انجام گرفت. جمعیت مورد مطالعه بیماران مبتلا به لیشمانیوز احشایی بستری شده در بخش عفونی کودکان بیمارستان نمازی شیراز بودند. سن همه بیماران زیر ۵ سال بود. ۱۹ بیمار دختر و ۱۳ بیمار پسر

شدید و بروز کامل تابلوی بالینی بیماری (فرم کلاسیک یا حاد بیماری) تظاهر یابد.^(۲)

به علت عدم درک دقیق جنبه های مختلف این بیماری از جمله تنظیم عملکرد سیستم ایمنی (immunoregulation) اقدامات پیشگیری کننده موثر در برابر این بیماری امکان پذیر نشده است. درک صحیح و دقیق از نحوه تنظیم عملکرد سیستم ایمنی (immunoregulation) در لیشمانیوز احشایی می تواند برای طراحی کردن و نیز ارزیابی اقدامات پیشگیری کننده در برابر این بیماری مفید باشد.^(۴)

در طی بیماری تکثیر گسترده انگل و ایجاد بار سنگینی از انگل در طحال و کبد وجود دارد. فقدان عملکرد مناسب سیستم ایمنی سلولی شاخص بیماری لیشمانیوز احشایی به حساب می آید.^(۵،۶) در پژوهش های مختلف یک نقص گذرا در بروز پاسخ سیستم ایمنی سلولی موثر در برابر انگل لیشمانیا نشان داده شده است.^(۵-۷) در بیماران مبتلا به لیشمانیوز احشایی تست پوستی ازدیاد حساسیت تاخیری نیز منفی می باشد.^(۸)

اگر در پاسخ ایمنی به انگل غلبه با سلول های لنفوسیت کمکی تیپ ۱ (Th1) با ظهور غالب سیتوکاین اینترفرون گاما (γ -IFN) باشد منجر به بهبود بیماری می گردد. اما در صورتیکه سلول های لنفوسیت کمکی تیپ ۲ (Th2) با تولید مقادیر بالای اینترلوکین ۱۰ (IL-10) در مقابل انگل واکنش بدهند منجر به پیشرفت بیماری در فرد می گردد. γ -IFN سیتوکاینی است که مسؤول فعال سازی ماکروفاژهاست و فعال شدن ماکروفاژها منجر به فعال شدن مکانیسم هایی می گردد که سبب نابودی انگل می گردند. این در حالی است که اینترلوکین ۱۰ منجر به مهار فعالیت ماکروفاژها می گردد.^(۹)

تولید γ -IFN توسط تعدادی از سیتوکاین های مشتق از مونوسیت ها/ماکروفاژها کنترل می گردد. برای مثال اینترلوکین ۱۲ (IL-12) یک القاگر قوی جهت افزایش تولید γ -IFN است.^(۱۰) شواهدی دال بر تولید اینترفرون گاما در زمان ابتلا به لیشمانیوز احشایی وجود دارد و وجود مقادیر بالای γ -IFN و

سطح سرمی سیتوکین های $IFN-\gamma$ ، IL-10 و IL-12 با روش ELISA با استفاده تکنیک quantitative enzyme immunoassay توسط کیت های تجاری سیتواسکرین متعلق به شرکت Biosource انجام گرفت .

حداقل سطح قابل اندازه گیری این سیتوکین ها ۱ پیکوگرم در میلی لیتر برای $IFN-\gamma$ و ۱ نانوگرم در میلی لیتر برای IL-10 و IL-12 بود و سطوح پائین تر از این مقدار به عنوان صفر در نظر گرفته شد . پروتکل انجام این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شیراز تائید و جهت اخذ نمونه از والدین رضایت نامه آگاهانه کتبی اخذ گردید .

جهت تجزیه و تحلیل اطلاعات از نرم افزار آماری SPSS استفاده گردید . با توجه به اینکه پس از انجام مطالعه در مراحل مختلف سنجش سیتوکین بتدریج ریزش نمونه وجود داشته است و حجم نمونه به کمتر از ۳۰ نفر رسیده است در هر مرحله یافته های قبل و بعد با هم مقایسه گردید و جهت مقایسه سطح سرمی سیتوکین ها در بیماران مبتلا به لیشمانیوز احشایی در زمانهای مختلف (قبل از درمان، بعد از قطع تب، در زمان ترخیص و بعد از ترخیص) از آزمون نان پارامتری رتبه ای علامت دار ویل کاکسون (non-parametric Wilcoxon Signed Rank Test) استفاده گردید و مقدار $P < 0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

سطح سرمی سیتوکین های $IFN-\gamma$ ، IL-12 و IL-10 در ۳۲ کودک مبتلا به کالازار قبل از شروع درمان، بعد از قطع تب و در زمان ترخیص و در ۱۸ بیمار ۲ ماه بعد از ترخیص اندازه گیری شد. تیتراست ایمونوفلورسانس غیر مستقیم در ۴ بیمار رقت ۱/۲۵۶ و در ۲۱ بیمار رقت ۱/۱۲۸ بود. در ۳ بیمار تیتراست ایمونوفلورسانس غیر مستقیم رقت ۱/۶۴ بود ولی اسمیر نمونه مغز استخوان از نظر لیشمانیوز احشایی مثبت گردید.

وارد مطالعه شدند. برای همه کودکانی که با تشخیص لیشمانیوز احشایی در بخش عفونی اطفال بیمارستان نمازی بستری شدند آزمایشات نمونه مغز استخوان جهت اسمیر و تست ایمونوفلورسانس غیر مستقیم (IFA)، سنجش آنزیم های کبدی و شمارش کامل سلولهای خونی انجام گرفت .

در بین این بیماران در ۲۸ کودک، اسمیر مغز استخوان یا تست ایمونوفلورسانس غیر مستقیم برای کالازار مثبت بود و با تشخیص قطعی لیشمانیوز احشایی درمان دارویی گلوکانتیم (روزانه ۲۰ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن) را دریافت کردند. تست ایمونوفلورسانس غیر مستقیم زمانی مثبت در نظر گرفته شد که تیتراستی بادی ۱/۱۲۸ یا بالاتر بود.

در ۴ کودک اسمیر نمونه مغز استخوان و تست ایمونوفلورسانس غیر مستقیم منفی بود ولی به دلیل اینکه از منطقه اندمیک کالازار آمده بودند و دارای علائم بالینی کالازار بودند با رد سایر علل و نیز با توجه به پاسخ بالینی به درمان دارویی گلوکانتیم با تشخیص کالازار وارد مطالعه شدند. کلیه بیماران تا ۵ روز بعد از قطع تب درمان دارویی دریافت کردند. نمونه خون این بیماران قبل از شروع درمان بعد از قطع تب و در زمان ترخیص جهت انجام آزمایشات لازم در بخش موجود بود. به منظور انجام این پژوهش از همین نمونه ها استفاده گردید به این ترتیب که نمونه های خون موجود سانتریفیوژ و سرم های حاصل از نمونه ها تا زمان سنجش سطح سرمی سیتوکین ها در دمای $-70^{\circ}C$ درجه سانتی گراد نگهداری شد .

۲ ماه بعد از ترخیص بیماران با مراجعه به محل سکونت آنان و با کسب رضایت نامه آگاهانه از والدین ۵ سی سی خون وریدی گرفته و در محفظه یخ به آزمایشگاه منتقل گردید. در همان روز اخذ نمونه سانتریفیوژ کردن، جداسازی سرم و فریز کردن سرم انجام شد. نمونه ۲ ماه بعد از ترخیص تنها از ۱۸ بیمار بدست آمد .

نمونه کسب شده بعد از ۲ ماه اختلاف آماری معنادار نشان داد ($P < 0/05$). تغییرات میزان سیتوکاین ها در بیماران در زمان های مختلف دو بدو با هم مقایسه گردید. جدول شماره ۲ این مقایسه را نشان می دهد. همانطور که مشاهده می شود در مورد IFN- γ غیر از نمونه زمان ترخیص و نمونه ۲ ماه بعد، بقیه نمونه ها با یکدیگر از نظر آماری اختلاف معنی دار داشتند ($P < 0/05$).

بحث

در این مطالعه سطح سرمی سیتوکاین های IFN- γ ، IL-12 و IL-10 قبل از درمان بیماران بالا بوده که بدنبال شروع درمان مقادیر فوق سیر نزولی داشته است. یافته های فوق همانند دیگر مطالعات انجام شده نشان می دهد که در دوره حاد بیماری لیشمانیوز احشائی با افزایش تولید سیتوکاین های مختلف مواجه هستیم.^(۱۱-۱۵)

سطوح سرمی سیتوکاین ها قبل از درمان، بعد از قطع تب، در زمان ترخیص از بیمارستان و ۲ ماه بعد از درمان در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. میانگین سطح سرمی IFN- γ قبل از درمان $37/6 \pm 6/6$ pg/ml بود که بعد از قطع تب به $14/8 \pm 5/9$ pg/ml، در زمان ترخیص از بیمارستان $0/49 \pm 0/18$ pg/ml و بعد از ۲ ماه به $0/21 \pm 0/05$ pg/ml رسید ($P < 0/05$). در مورد IL-10 میانگین سطح سرمی ng/ml $88/3 \pm 77/5$ قبل از درمان، $100/4 \pm 55/9$ ng/ml بعد از قطع تب، $25 \pm 18/3$ ng/ml در زمان ترخیص از بیمارستان و $5/7 \pm 1/9$ ng/ml بعد از ۲ ماه بود. اختلاف آماری معناداری بین کلیه نمونه ها وجود داشت ($P < 0/05$).

مقادیر IL-12 قبل از درمان، بعد از قطع تب، در زمان ترخیص از بیمارستان و بعد از دو ماه به ترتیب $798/3 \pm 639/8$ ، $865/2 \pm 733/1$ و $479 \pm 220/1$ ng/ml بود. در مورد این سیتوکاین تنها نمونه کسب شده در زمان ترخیص و

جدول شماره ۱- مشخصات آماری سطوح سرمی سیتوکاین ها در بیماران مبتلا به لیشمانیوز احشائی در مقاطع زمانی مختلف.

سیتوکاین	مقطع زمانی	شاخص آماری		
		حجم مشاهدات	حداقل	حداکثر
IFN- γ (pg/ml)	قبل از درمان	۳۲	۰	۲۷۲/۲
	پس از قطع تب	۲۹	۰	۵۵/۳
	زمان ترخیص	۲۷	۰	۱/۷
	دو ماه بعد از پیگیری	۱۸	۰	۱۰۹
IL-10 (ng/ml)	قبل از درمان	۳۲	۰	۴۰۹/۲
	بعد از قطع تب	۲۹	۰	۴۱۷/۵
	زمان ترخیص	۲۷	۰	۱۰۳/۴
	دو ماه بعد از پیگیری	۱۸	۰	۲۰/۸
IL-12 (ng/ml)	قبل از درمان	۳۲	۰	۲۲۱۶
	بعد از قطع تب	۲۸	۰	۲۲۴۴
	زمان ترخیص	۲۷	۱/۴	۲۲۹۲
	دو ماه بعد از پیگیری	۱۷	۲۰۹/۷	۱۱۵۶

درمان مشاهده شد.^(۱۲) در مورد IL-10 در دومین نمونه (بعد از قطع تب) افزایش در سطح سرمی این سیتوکین دیده می شود که این افزایش احتمالا بعثت یک پاسخ تاخیری به تولید IFN- γ است. زیرا در ابتدا ماکروفاژهای تحریک شده توسط IFN- γ ایجاد IL-10 نموده اند. بعد از کاهش سطح IFN- γ ، IL-10 هم شروع به کاهش کرده است. در مورد IL-12 کاهش سطح سرمی بسیار آهسته بوده و فقط در نمونه بعد از ترخیص و دو ماه بعد از آن این کاهش از نظر آماری معنی دار بوده است با توجه به نتایج بدست آمده از این مطالعه ذکر موارد زیر قابل توجه است.

۱- اینترفرون γ و اینترلوکین ۱۰ مولکول هایی هستند که به احتمال زیاد فرجام بیماری را تعیین می کنند. بعد از درمان مدت زمان طولانی جهت بازگشت الگوی سیتوکین ها به سطح نرمال لازم است. بنابراین نمی توان از سنجش سیتوکین ها به عنوان معیارهایی برای تشخیص درمان قطعی بیماری استفاده کرد.

۲- با توجه به کاهش قابل توجه سطح سرمی IL-10 بعد از درمان و نقش آن در مهار تولید و مهار پاسخ Th-1 مطالعات دیگری برای ارزیابی و مقایسه اثر منوکلونال آنتی بادی بر علیه IL-10 در بیماران مبتلا به لیشمانیوز احشایی با و بدون درمان دارویی پیشنهاد می گردد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از کلیه عزیزانی که در اجرای این پژوهش یاریگر ما بودند بویژه پرسنل محترم مرکز تحقیقات میکروبیولوژی بالینی پروفیسور البرزی سپاسگزاریم.

References

1. Gama M, Costa J, Pereira J, et al. Serum cytokine profile in the subclinical form of visceral Leishmaniasis. *Braz J Med Biol Res* 2004; 37(1):129-136.

علت کاهش سطح سرمی IFN- γ بدنال درمان این است که تماس با آنتی ژن قبل از درمان باعث تولید IFN- γ می شود و کاهش تدریجی آنتی ژن بعثت درمان منجر به کاهش سطح سرمی IFN- γ دو ماه بعد از درمان شده است. اینترفرون گاما باعث تحریک ماکروفاژ برای ایجاد فعالیت ضد انگلی می گردد.^(۲۲-۲۴) ولی علیرغم سطح سرمی بالای آن در فاز حاد بیماری افزایش این سیتوکین در لیشمانیوز احشایی همانند فرم پوستی یا همانند بیمارانی که از بیماری بهبود یافته اند، با فعالیت ضد انگلی همراه نیست. عدم وجود فعالیت ضد انگلی اینترفرون گاما قبل از درمان ممکن است در ارتباط با افزایش همزمان سطح سرمی IL-10 باشد، زیرا IL-10 سیتوکینی است که در کالآزار نقش مهمی بر روی فعالیت ماکروفاژ دارد.^(۱۴،۱۶) در مطالعه Caldas و همکارانش روی ۲۰ بیمار مبتلا به لیشمانیوز احشایی سطح سرمی سیتوکین ها و آنتی بادی آنها به مدت یکسال بعد از درمان مورد پیگیری قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که سطح سرمی IL-10 و IL-12 و IFN- γ بعد از درمان به میزان قابل توجهی کاهش داشته است نتایج مطالعه حاضر با این مطالعه مطابقت دارد.^(۴) در مطالعه دیگری بر روی بیماران مبتلا به لیشمانیوز احشایی سطح سرمی IFN- γ ، IL-10، IL-4 و IL-2 در زمان تشخیص بیماری، در طول بیماری و بعد از درمان اندازه گیری شد. سطوح این سیتوکین ها در شروع بالا بوده ولی بعد از درمان دچار کاهش شده و به سطح نرمال رسیده است.^(۱۵) در پژوهشی که توسط Hailu و همکارانش صورت گرفت سطح سرمی IL-12 و IFN- γ در ۷۰ بیمار علامت دار مبتلا به لیشمانیوز احشایی مورد بررسی قرار گرفت و کاهش قابل ملاحظه ای در سطح سرمی سیتوکین ها بعد از

2. Barrel-Netto M, Machado P, Bittencourt AL, et al. Recent advances in pathophysiology and treatment of human cutaneous leishmaniasis. *Current Opin Derm* 1997; 4:51-58.
3. Alborzi A, Rasouli M, Shamsizadeh A. *Leishmania tropica*-isolated patient with visceral leishmaniasis in southern Iran. *Am J Trop Med Hyg* 2006;74(2):306-307.
4. Caldas A, Favali C, Aquino D, et al. Balance of IL-10 and Interferon- γ plasma levels in human visceral leishmaniasis: Implication in pathogenesis. *BMC Infectious Disease* 2005; 5:113.
5. Carvalho EM, Barado R, Reed SG, et al. Absence of gamma interferon and interleukin 2 production during active visceral leishmaniasis. *J Clin Invest* 1985; 76:2066-2069.
6. Carvalho EM, Teixeira RS, Johnson WD. Cell-mediated immunity in American visceral leishmaniasis: reversible immunosuppression during acute infection. *Infect Immun* 1981; 33:498-500.
7. Carvalho EM, Bacellar O, Barral A, et al. Antigen-specific immunosuppression in visceral leishmaniasis is cell mediated. *J Clin Invest* 1989;83:860-864.
8. Carvalho EM, Barral A, Pedral-Sampaio D, et al. Immunologic markers of clinical evolution in children recently infected with *Leishmania donovani* chagasi. *J Infect Dis* 1992; 165:535-540.
9. Vouldoukis I, Riveros-Moreno V, Dugas B, et al. The killing of *Leishmania major* by human macrophages is mediated by nitric oxide induced after ligation of the Fc epsilon R2/CD23 antigen. *Proceeding of the National Academy of Sciences*. 1995; 92:7804-7808.
10. Trinchieri G. Interleukin-12: a cytokine at the interface of inflammation and immunity. *Adv Immunol* 1998; 12:59-63.
11. Sundar S, Rosenkaimer F, Lesser ML, et al. Immunochemotherapy for a systemic intracellular infection: accelerated response using interferon-gamma in visceral leishmaniasis. *J Infect Dis* 1995; 171:992-996.
12. Hailu A, Van der Poll T, Berhe N, et al. Elevated plasma levels of interferon-gamma, IFN-gamma inducing cytokines, and IFN-gamma inducible CXC chemokines in visceral leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg* 2004; 71:561-567.
13. Cenini P, Berhe N, Hailu A, et al. Mononuclear cell subpopulations and cytokine levels in human visceral leishmaniasis before and after chemotherapy. *J Infect Dis* 1993:168.986-993.
14. De Medeiros IM, Castelo A, Salomao R. Presence of circulating levels of interferon-gamma, interleukin-10 and tumor necrosis factor-alpha in patients with visceral leishmaniasis. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1998; 40:31-34.

15. Cillari E, Vitale G, Arcoleo F, et al. In vivo and in vitro cytokine profiles and mononuclear cell subsets in Sicilian patients with active visceral leishmaniasis. *Cytokine* 1995; 7:740-745.
16. Carvalho EM, Bacellar O, Brownell C, et al. Restoration of IFN-gamma production and lymphocyte proliferation in visceral leishmaniosis. *J Immunol* 1994; 152:5949-5956.
17. Gantt KR, Schultz-Cherry S, Rodriguez N, et al. Activation of TGF-beta by *Leishmania chagasi*: importance for parasite survival in macrophages. *J Immunol* 2003; 170:2613-2620.
18. Peruhype-Magalhães V, Martins-Filho OA, Prata A, et al. Mixed inflammatory/regulatory cytokine profile marked by simultaneous raise of interferon-gamma and interleukin-10 and low frequency of tumour necrosis factor-alpha(+) monocytes are hallmarks of active human visceral Leishmaniasis due to *Leishmania chagasi* infection. *Clin Exp Immunol* 2006;146(1):124-132.
19. de Medeiros IM, Castelo A, Salomao R. Presence of circulating levels of interferon-gamma, interleukin-10 and tumor necrosis factor-alpha in patients with visceral leishmaniasis. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1998;40(1):31-34.
20. Sundar S, Reed SG, Sharma S, et al. Circulating T helper 1 (Th1) cell- and Th2 cell-associated cytokines in Indian patients with visceral leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg* 1997;56(5):522-525.
21. Zwingenberger K, Harms G, Pedrosa C, et al. Determinants of the immune response in visceral leishmaniasis: evidence for predominance of endogenous interleukin 4 over interferon-gamma production. *Clin Immunol Immunopathol* 1990; 57(2):242-249.
22. Heinzl FP, Sadick MD, Holaday BJ, et al. Reciprocal expression of interferon gamma or interleukin 4 during the resolution or progression of murine leishmaniasis. Evidence for expansion of distinct helper T cell subsets. *J Exp Med* 1989;169:59-72.
23. Heinzl FP, Sadick MD, Mutha SS, et al. Production of interferon gamma, interleukin 2, interleukin 4, and interleukin 10 by CD4+ lymphocytes in vivo during healing and progressive murine leishmaniasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:7011-7015.
24. Scott P. IFN-gamma modulates the early development of Th1 and Th2 responses in a murine model of cutaneous leishmaniasis. *J Immunol* 1991;147:3149-3155.

Effects of drug therapy of visceral leishmaniasis on serum level of IFN- γ , IL-10 and IL-12 in visceral leishmaniasis patients.

Khoshdel A, MD*; Alborzi A, MD; Rasouli M, PhD**; Taheri E, MD*****

Background: *Leishmaniasis has remained a serious public health problem in several parts of the developing world. Effective prophylactic measurements are hampered by imprecise understanding of different aspects of the disease, including its immunoregulation. A better understanding of immunoregulation in human visceral leishmaniasis may be useful both for designing and evaluating immunoprophylaxis.*

Materials and Methods: *This before-after interventional study investigated immunoregulatory mechanisms among 32 patients with visceral leishmaniasis in Shiraz (Iran) in 2007. The plasma cytokine (IFN-gamma, IL-10 and IL-12) levels of participants were measured before, during active disease and at different periods up to 2 months after treatment.*

Results: *Elevated plasma levels of IFN- γ , IL-10 and IL-12 which were observed during active disease, decreased significantly after treatment. The main candidate for blunting IFN- γ activity seems to be IL-10, since the level of this cytokine which highly elevated in plasma decreased sharply after treatment (Before treatment 88.3 ± 77.5 , after treatment 25 ± 18.3 , 2 months after treatment 517 ± 1.9). difference between samples was significant ($P < 0/05$)*

Discussion: *Results suggest that IFN- γ and IL-10 are the molecules most likely involved in determining fate of the disease. After treatment, there is a long delay before the immune profile returns to its normal level which precludes using plasma cytokine levels as criteria for certain cure diagnosis of the disease.*

KEY WORDS: *visceral leishmaniasis, Cytokine, IFN- γ , IL-10, IL-12*

* Dept of Pediatrics, Shahrekord University of Medical Sciences and Health Services, Shahrekord, Iran

** Professor Alborzi Clinical Microbiology Research Center, Namazi Hospital, Shiraz University of Medical Sciences and Health Services, Shiraz, Iran

*** General Physician, Shahrekord University of Medical Sciences and Health Services, Shahrekord, Iran.