Archive of SID

# مقایسه تولید اینترفرون گاماو آزمون پوستی لیشمانین در موارد لیشمانیوز پوستی بهبود نیابنده با موارد بهبود یافته از بیماری

دکتر حسین مرتضوی[1]، دکتر علی خامسی‌پور[2]، دکتر زهرا حلاجی[1]، دکتر حسین بخشی[3]، اکرم میرامین محمدی[4]

۱-استادیار، گروه پوست، بیمارستان رازی، ۲-استادیار، مرکز آموزش و پژوهش بیماریهای پوست و جذام، ۳- دستیار، گروه پوست، بیمارستان رازی، ٤-کارشناس آزمایشگاه ، مرکز آموزش و پژوهش بیماریهای پوست و جذام؛ دانشگاه علوم پزشکی تهران

**مقدمه:** بیماری سالک یا لیشمانیوزپوستی یک بیماری خودبخود بهبودیابنده است، اما در مواردی به عللی که دقیقاً معلوم نیست سیر بهبودی خودبخود بهبودیابنده دیده نمی‌شود. این موارد را نوع بهبودنیابنده (non-healing) می‌نامند و در دستهٔ لیشمانیوز مزمن قرار می‌دهند.

**هدف:** مقایسهٔ میزان تولید اینترفرون گاما و آزمون لیشمانین در بیماران بهبودنیابنده با موارد بهبودیافته از بیماری حاد لیشمانیوز پوستی.

**روش اجرا:** ۱۵ بیمار مبتلا به لیشمانیوز بهبودنیابنده با دوره بیماری بیشتر از دو سال و ۸ فرد سالم که از لیشمانیوز پوستی بهبود یافته بودند برای مطالعه انتخاب شدند. میزان اینترفرون گاما تولید شده توسط سلولهای خون محیطی در مجاورت آنتی‌ژن لیشمانیا به روش الیزا اندازه‌گیری شد وآزمون پوستی لیشمانین در دو گروه مقایسه گردید.

**یافته‌ها:** میانگین مقدار اینترفرون گاما در افراد مبتلا به لیشمانیوز بهبود نیابنده ۷۲۹ پیکوگرم در میلی‌لیتر و در گروهی که از بیماری بهبود یافته بودند ٤۲۲۹ پیکوگرم در میلی‌لیتر بود (t test و P<۰/۰۱). آزمون لیشمانین در ٤ نفر از گروه بهبودنیابنده منفی و در همه موارد گروه بهبودیافته مثبت بود.

**نتیجه‌گیری:** میزان پایین اینترفرون گاما در بیماران بهبودنیابنده نشانگر فقدان‌واکنش Th1 و میزان بالای اینترفرون‌گاما درافرادی که‌ازلیشمانیوزپوستی‌حاد بهبود یافته‌اند نشانگرواکنش Th1 است که بطورمعمول در موارد بهبودیابنده دیده‌می‌شود. نتایج مربوط به آزمون پوستی لیشمانین در دو گروه قابل تفسیر نمی‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** لیشمانیوز پوستی، بهبودی، اینترفرون گاما

## مقدمه

لیشمانیوز پوستی معمولاً بدون درمان، در مدت کمتر از یک سال بهبود می‌یابد، به همین جهت در فرهنگ عامیانهٔ ایران به آن سالک می‌گویند(۱،۲). از آنجا که در این مقاله از موارد بهبودنیابنده بیماری بحث می‌شود که بهبودی آن سالیان دراز به طول می‌انجامد، بجای واژه سالک از لیشمانیوز پوستی استفاده می‌گردد. بخشی از مطالعات اولیه و مهم لیشمانیوز مزمن در ایران انجام شده است. Petite در

مؤلف مسئول:دکتر حسین مرتضوی- تهران، میدان وحدت اسلامی، بیمارستان رازی، بخش پوست



www.SID.ir

Archive of SID

زمان اقامت خود در شیراز گزارشی در بارهٔ لیشمانیوز مزمن نوشت(۳) و بعدها در کتاب خود آن را شرح داد(٤). البته اولین گزارش لیشمانیوز مزمن بوسیله کریستوفرسن در سال ۱۹۲۳ تحت عنوان لوپوس لیشمانیازیس منتشر شد(۵).

لیشمانیوز پوستی مزمن از موارد پیچیده لیشمانیوز است زیرا بیماری سیر خودبخود بهبودیابنده (self-healing) ندارد. ما در این مقاله از این موارد به عنوان بیماران بهبودنیابنده (non-healing) نام می‌بریم. این پدیده مورد قبول محققین بالینی و علوم پایه می‌باشد و حتی ژنهای بهبودیابندگی و بهبودنیابندگی در عفونت لیشمانیایی ناشی از لیشمانیا ماژور(L.major) در موش بررسی شده است(٦). چون از نظر بالینی تقسیم بندی انواع بهبودنیابنده لیشمانیوز پوستی دنیای قدیم وجود ندارد، پیشنهاد می‌شود بعضی از اشکال بالینی زیر در گروه بهبودنیابنده قرار گیرند:

۱-لیشمانیوز پوستی مزمن که در بعضی منابع تحت عنوان‌های مجزای لیشمانیوز راجعه یا رسیدیوانس (Recidivans) و لیشمانیوز مزمن از آن نام می‌برند(۷). در منابع دیگر عنوان لیشمانیای راجعه یا رسیدیوانس را مترادف لیشمانیوز مزمن و لوپوئید بکار برده‌اند(۸).

۲-ضایعات لیشمانیایی ایجادشده در اثر لیشمانیزاسیون گاهی شکل مزمن به خود می‌گیرند. این شکل از بیماری در ایران دیده می‌شود و در اغلب موارد در اثر لیشمانیا ماژور ایجاد می‌گردد.

یکی از نویسندگان این مقاله موردی از لنفادنیت لیشمانیایی لوکالیزه را مشاهده کرده است که شکل مزمن و بهبودنیابنده بخود گرفته بود(۹).

از نظر ایمنی‌شناسی و علوم سلولی، ایمنی سلولی در روند لیشمانیوز پوستی نقش تعیین‌کننده‌ای دارد. سلول‌های T helper CD4+ بعنوان بازوی اصلی سیستم ایمنی سلولی، بخشی از این وظیفه را با واسطه سایتوکاین‌ها انجام می‌دهند(۱۰).مطالعات تجربی نشان داده‌اند که سایتوکاین‌ها نقش تعیین‌کننده‌ای در روند بیماری دارند. بطوریکه در لیشمانیوز تجربی در موشها، سایتوکاین‌های حاصل از سلولهای Th1 یعنی IFN-γ و IL-2 عفونت را کنترل می‌کنند و سایتوکاین‌های حاصل از سلولهای Th2 یعنی IL-4، IL-10، IL-5 و فاکتورتغییردهنده رشد بتا (Transforming Growth Factor Beta) موجب گسترش عفونت درمدل حیوانی می‌شوند(۱۳-۱۱). IFN-γ سایتوکاین فعال‌کننده ماکروفاژهاست و فرایند فعال شدن ماکروفاژها منجر به کشته‌شدن داخل سلولی آماستیگوت‌ها می‌گردد. کشته شدن انگل در داخل ماکروفاژ از طریق برانگیخته شدن نیتریک اکسیدسنتتاز انجام شده و در پی آن اکسید نیتریک تولید می‌شود که منجر به مرگ آماستیگوتها می‌گردد(۱۲،۱۳). از طرف دیگر IL-4 مانع از فعال شدن ماکروفاژها توسط اینترفرون گاما می‌گردد(۱۲).

مطالعات متعددی نقش اینترفرون گاما را در بیماریزایی لیشمانیوز پوستی(١٤) و احشائی(١٥) بررسی کرده‌اند. در این مطالعه ما به بررسی میزان تولید اینترفرون گاما در بیماران مبتلا به لیشمانیوز پوستی بهبود نیابنده و مقایسه آن با بیماران بهبودیافته پرداختیم.

## روش اجرا

۱۵ بیمار با سن بالای ۵ سال مبتلا به لیشمانیوز پوستی که ضایعات ایشان بدون درمان یا علی‌رغم درمانهای مختلف بیش از دو سال پایدار باقی مانده بود به عنوان موارد لیشمانیوز پوستی بهبود نیابنده (١٦) برای مطالعه انتخاب شدند. برای ورود به مطالعه داشتن حداقل یک اسمیر مثبت از نظر جسم لیشمن الزامی بود. ۸ بیمار دیگر نیز با سن بیش از ۵ سال، سابقهٔ ابتلا به لیشمانیوز پوستی و بهبودی ضایعه پوستی بطور خودبخودی یا با درمان در مدت کمتر از یک سال، بعنوان شاهد در این مطالعه وارد شدند.



www.SID.ir

Archive of SID

ابتدا هدفهای انجام این مطالعه برای بیماران توضیح داده شده و سپس محل آناتومیک ضایعه، نتایج آزمون پوستی لیشمانین، سن وجنس بیماران در پرسشنامه وارد شد. برای انجام آزمون پوستی لیشمانین، ۰/۱ میلی‌لیتر از آنتی‌ژن تهیه شده در انستیتو پاستور تهران ـایران در ناحیه ساعد در داخل درم (Intradermal) تزریق گردید و پس از ۷۲-۴۸ ساعت نتایج آزمون خوانده شد.

برای‌اندازه‌گیری‌اینترفرون‌گاماابتداسلولهای‌تک هسته‌ای جدا و سپس کشت داده شد. سلولهای‌تک هسته‌ای با روش Ficol Hypaque centrifugation gradient جدا شدند. پس از شمارش سلولها و رنگ‌آمیزی آنها با تریپن‌بلو Trypan blue (جهت اطمینان از زنده‌بودن آنها) کشت سلولها در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای انجام گرفت. به هر خانه $2\times10^{5}$ سلول در حجم ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت اضافه شد. سلولها با آنتی‌ژن لیشمانیا (٤ میکروگرم در هر چاهک) و یا فیتوهماگلوتینین (۵ میکروگرم در هر چاهک) تحریک شده و سلولهای بدون تحریک به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. محلول‌های رویی چاهک‌ها بعد از ۷۲ ساعت برداشته شده و تا زمان اندازه‌گیری اینترفرون گاما در درجه حرارت $-20^{o}C$ نگهداری شد.

میزان تولید اینترفرون گاما با روش ساندویچ الیزا (Sandwich ELISA) اندازه‌گیری شد. در این روش از آنتی‌بادی مونوکلونال ضد اینترفرون گاما واویدین بیوتین (Avidin-Biotin) نشان‌دار جهت ردیابی این سیتوکاین استفاده شد.

## یافته‌ها

در این مطالعه ۲۳ بیمار شامل ١٤ مرد و ۹ زن مورد بررسی قرار گرفتند.

توزیع سنی بیماران در گروه بهبودنیافته بین ۵۲-۱۰ سال (میانگین ۲۳ و انحراف معیار ١٥/٤ سال) و در گروه بهبودیافته بین ٤٢-۹ سال (میانگین ١٦ و انحراف معیار ١٢/٨ سال ) بود.

گروه بهبودنیابنده شامل ۷ مرد(٤٨٪) و ۸ زن (۵۲٪) و گروه بهبود یافته شامل ۷ مرد (۸۷٪) و یک زن (۱۳٪) بودند. مدت ابتلا به بیماری در گروه بهبودنیابنده ٢٤ تا ۱۸۰ ماه (میانگین ۵۷/۲ و انحراف معیار ۵۱/٤ ماه) و در گروه بهبودیافته ۳ تا ۱۱ماه (میانگین ۸/۲۵ و انحراف معیار ۲/۸ ماه) بود.

محل آناتومیک ضایعه در گروه بهبودنیابنده در ۷ نفر روی صورت، ٦ نفر روی دست، ۱ نفر روی ساعد و ۱ نفر روی بازو بود. در بیماران بهبود یافته (طبق تاریخچه‌ای که گرفته شد)، محل ضایعه ۲ نفر روی صورت، ۳ نفر روی دست، ۲ نفر روی‌ساعد و یک نفر روی‌بازو بود.

توزیع میزان تولید اینترفر ون گاما در دو گروه مورد مطالعه در جدول شماره ۱ آمده است. میانگین مقدار اینترفرون گاما در گروه بهبودنیابنده ۷۲۹ پیکوگرم در میلی‌لیتر و در گروه بهبودیابنده ٤٢٢٩ پیکوگرم در میلی‌لیتر بود که بین میانگین مقدار اینترفرون گاما در دو گروه بهبودنیابنده و بهبود یافته اختلاف قابل توجهی وجود دارد($P<0/01$ و t test).

آزمون پوستی لیشمانین در٤ نفر از ۱۵ بیمار بهبود نیابنده (۲٦/۵٪) منفی و درتمام ۸ مورد بهبود یافته مثبت بود.



www.SID.ir

Archive of SID

**جدول شماره ۱: میزان ترشح اینترفرون گاما در بیماران مبتلا به لیشمانیوز پوستی بهبودنیابنده و بهبودیافته از بیماری**

| میزان تولید اینترفرون گاما (پیکوگرم در میلی‌لیتر) / انواع بیماری | حداقل | حداکثر | میانگین | انحراف معیار |
|---|---|---|---|---|
| بهبودنیابنده | ۲۰۰ | ۲۸۸۶ | ۷۲۹ | ۷۰۵ |
| بهبودیافته | ۱۵۶۰ | ۱۲۵۰۰ | ٤۲۲۹ | ۷۰۷۹ |

## بحث

علت اینکه برخی از موارد لیشمانیوز پوستی، مزمن می‌شود و به اصطلاح سیر بهبودنیابنده بخود می‌گیرند، هنوز کاملاً مشخص نشده است. همچنین به دلیل اینکه تعداد اندکی از بیماران سیر بهبودنیابنده بخود می‌گیرند مطالعات زیادی دراین زمینه انجام نگرفته است.

۱-الگوی ترشح سایتوکاین: در این زمینه مطالعات انسانی کمی انجام شده است. در لیشمانیوز انسانی در سال ۱۹۹٤ اولین مطالعه در بارهٔ کلونهای Th1یا Th2 در بیماران بهبودیافته از لیشمانیوز احشایی گزارش شد(۱۵). نتایج این مطالعه نشان داد که‌کلونهایی از T cell بعد از تحریک باآنتی‌ژن لیشمانیا ترجیحاً اینترفرون‌گاما ترشح می‌کنند(سلولهای Th1 )(۱۵).

همچنین نشان داده شده است که در مراحل اولیه عفونت L.donovani ، فقدان تولید اینترفرون گاما موجب پیدایش شکل برق‌آسای لیشمانیوز احشایی (fulminant) می‌شود در حالی که افرادی که مقادیر زیاد اینترفرون گاما تولید می‌کنند بدون علامت باقی می‌مانند(۱۷). در مورد لیشمانیوز پوستی نشان داده شده که افرادی که سابقهٔ عفونت L.major چه بصورت لیشمانیوز پوستی با سیر عادی و بدون عارضه یا به شکل عفونت نهفته (subclinical) داشته‌اند، به آنتی‌ژنهای لیشمانیا پاسخ قوی Th1 نشان داده‌اند(۱۷). مطالعات دیگر نشان داده‌اند که در بیماران مزمن بهبودنیابنده سطح IL-4 بالا ولی میزان اینترفرون گاما بسیار پایین است (۹،۱۸).

در مطالعهٔ ما که روی ۱۵ بیمار مبتلا به لیشمانیوز پوستی مزمن انجام شد کم شدن ترشح اینترفرون گاما در موارد بهبودنیابنده تأیید شد و این گروه از بیماران نسبت به بیماران بهبودیافته کاهش قابل توجهی در میزان ترشح اینترفرون گاما داشتند. در این بررسی در ۸۰٪ بیماران مزمن یا بهبودنیابنده سطح اینترفرون گاما زیر ۸۰۰ پیکوگرم در میلی‌لیتر بود، در حالی که حداقل ترشح در بیماران بهبودیافته از بیماری از ۱۵۰۰ پیکوگرم در میلی‌لیتر بالاتر بود. اختلاف دو گروه از نظر ترشح اینترفرون گاما قابل ملاحظه بود.

در مطالعه‌ای که در مورد لیشمانیا برازیلینسیس انجام شد، Carvalho و همکاران مشخصات پاسخ ایمنی را در افراد بهبودیابنده بررسی کردند. در افرادیکه لیشمانیوز پوستی به مدت سه ماه داشته و بهبود یافته بودند مقادیر اینترفرون گاما بین ۵۰۰ تا ۲۹۰۰ پیکوگرم در میلی لیتر متغیر بود(۱۹)، ولی نتایج ما در موارد بهبودیابنده بین ۱۵۶۰ تا ۲۹۰۰ متغیر بود.

اخیراً اینترفرون گاما بعنوان یکی از نشانگرهای ایمونولوژیکی سیرو پی‌آمد لیشمانیوز پوستی بررسی شده و نشان داده شده است که میزان اینترفرون گاما در لیشمانیوز پوستی حاد پس از درمان و بهبودی افزایش می‌یابد(۲۰).


www.SID.ir

Archive of SID

درمطالعه دیگری که بر روی بیماران مبتلا به لیشمانیوزپوستی صورت گرفته، نشان داده شده است که در سیر بیماری و پس از بهبودی از عفونت L.major میزان تولید اینترفرون گاما با تکثیر لنفوسیت‌ها همخوانی داشته و نشانگر ایمنی سلولی می‌باشد(۱٤).

دکتر جعفر و همکاران نشان دادند که بین تولید اینترفرون گاما و شدت بیماری ارتباط وجود دارد، یعنی تولید زیاد این سایتوکاین با شکل خفیف بیماری و تولید کم آن با بیماری شدید مرتبط است(۲۱). در مطالعه ما نیز میانگین مقدار اینترفرون گاما در افراد بهبودنیابنده پایین و در افراد بهبودیافته بالا بود.

۲- آزمون پوستی لیشمانین: بر اساس منابع موجود، به استثنای شکل پوستی منتشر (Diffuse Cutaneous Leishmaniasis) که در آن آزمون پوستی لیشمانین منفی است، در کلیه موارد لیشمانیوز پوستی آزمون لیشمانین مثبت است(۸). در این مطالعه ٤ مورد(۲٦/۵٪) از بیماران مزمن یا بهبودنیابنده آزمون پوستی لیشمانین منفی داشتند که می‌توان علل احتمالی زیر را برای آن مطرح کرد:

الف) اختلال در ایمنی موضعی

ب ) اختلال در سیستم ایمنی بدن و بخصوص ضعف ایمنی سلولی می‌تواند مزمن شدن یا بهبودنیابندگی بیماری را توجیه کند. در یک گزارش از ایران در بیماری با لیشمانیوز پوستی مزمن مقاوم، منفی شدن آزمون پوستی لیشمانین با کمبودT cell همراه بوده است(۱). یکی از نویسندگان این مقاله موردی را گزارش کرده است که منفی بودن آزمون پوستی لیشمانین با اختلالات ایمنی سلولی و کمبود T cell همراه بوده است(۲۲).

ج) در یک منبع گزارش شده است که تا ۱۵٪ بیماران مبتلا به لیشمانیوز پوستی ممکن است آزمون پوستی لیشمانین منفی داشته باشند(۲۳).

د) نامناسب بودن آنتی‌ژن مورد استفاده

ه ) خطاهای تکنیکی می‌تواند موجب تغییر جوابهای آزمونهای داخل پوستی بصورت منفی کاذب شود. آزمون منفی کاذب توبرکولین بر پایهٔ خطای تکنیکی شرح داده شده است(۲٤)که در مورد آزمون پوستی لیشمانین نیز می‌توان آنرا تعمیم داد.

و ) علت ناشناخته

ارتباطی بین مقدار اینترفرون گاما و آزمون پوستی لیشمانین منفی وجود نداشت که تعداد کم بیماران مورد مطالعه می‌تواند توجیه کننده این امر باشد.

۳- محل تشریحی ضایعه: احتمالاً محل تشریحی ضایعه می‌تواند نقشی در بهبودنیابندگی و ازمان بیماری داشته باشد. وجود ضایعات در مکانهایی که خونگیری آنها ضعیف است می‌تواند مزمن شدن را تا حدی توجیه کند اما در این مطالعه و با مقایسه نتایج بین دو گروه نتوانستیم اختلاف معنی‌داری بین محل ضایعه و ازمان بیماری بدست آوریم. اکثر ضایعات (۸۷٪) در نواحی انتهایی(acral) بودند که این امر می‌تواند ناشی از آن باشد که پشه آلوده بیشتر نواحی انتهایی و باز بدن را موردگزش قرار می‌دهد و لذا مطالعات وسیعتری برای‌تأیید این ادعا مورد نیاز می‌باشد.

نتایج این بررسی نشان دادکه میانگین سطح خونی اینترفرون گاما در بیماران مزمن یا بهبودنیابنده با بیمارانی که از بیماری بهبود یافته بودند، اختلاف قابل توجهی دارد. این نتایج می‌تواند دال بر فقدان واکنش Th1 در موارد لیشمانیوز پوستی بهبودنیابنده یا مزمن باشد. نتایج مربوط به آزمون پوستی لیشمانین در دو گروه قابل تفسیر نمی‌باشد.

## تشکر و قدردانی

بدین وسیله از استادمحترم جناب آقای دکتر فرخ مدبر در مورد قبول زحمت مطالعه متن و همچنین استاد محترم جناب آقای دکتر دولتی رئیس مرکز آموزش و پژوهش بیماریهای پوست و جذام که امکان انجام مطالعه را فراهم نمودند نهایت تشکر و قدردانی را داریم.



www.SID.ir

Archive of SID

## منابع


۱- آخوندزاده ح. مطالعهٔ ایمنی شناسی در بارهٔ لیشمانیوز مقاوم و مزمن. مجلهٔ نظام پزشکی : ۱۳۵٦؛ ٤: ۷٦-۲۷۳.

2-Schelimer LG. Terminologie medico-Pharamceutique, Francaises-Persane. Universite de Tehran Publication: 1970; 84.

3-Pettit JHS. Chronic lupoid leishmaniasis. Br J Dermatol 1962; 127-31.

4-Pettit JHS, Parish LC. Manual of tropical dermatology. New York: Springer-Verlag, 1984: 165-67.

5-Christopherson JB. Lupus leishmaniasis. Br J Dermatol 1923; 35:123.

6-Blackwell JM. Genetic suscebtibility to leishmania infections: Studies in mice and man. Parasitology 1996; 112 s 67-74.

7-Kurban AK. Leishmaniasis. In: Demis DJ (ed). Clinical dermatoloty . Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997: Vol 3, Section 18-2, P 18-21.

8-Bryceson ADM, Hay RJ. Parasitic worms and porotozoa. In: Champion RH, Burton JL, Burns DA, et al (eds). Rook / Wilkinson / Ebling textbook of dermatology. London: Blackwell Science, 1998: 1415-16.

9-Mortazavi H, Khamesipour A, Ajdari S. Clinico-immunological features of chronic non-healing cases of cutaneous leishmaniasis (CL) and their responses to therapy: Report of 12 cases. Abstract book of 2nd world congress of leishmaniasis 2001: 106.

10-Kemp M, Theander TG, Kharazmi A. The contrasting roles of CD4+ T cells in intracellular infections in humans: Leishmaniasis as an example. Immunol Today 1996, 17: 13-16.

11-Paul WE. Fundamental Immunology. Philadelphia: Lippincotee-Raven, 1999: 1271-88.

12-Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, et al. Principles and parctice of infectious diseases. Philadelhia: Churchill Livingstone, 2000: 2833-35.

13-Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K, et al. Dermatology in general medicine. New York: McGraw-Hill, 1999: 2611-12.

14-Frankenburg S, Klaus S. Production of interferon gamma in cultures of whole blood obtained in the course of and after healing of cutaneous leishmaniasis. Ann Trop Med Parasitol 1991; 85(4): 401-05.

15-Tapia FJ, Caceres Dittmar G, Sanchez MA. Molecular and immune mechanisms in the pathogenesis of cutaneous leishmaniasis. London: Champan & Hall, 1996: 205-06.

16-Kubba R, Al-Gindan Y. Leishmaniasis. Dermatol Clin 1989; 7: 331-51.

17-Romagnani S. The TH1/TH2 paradigm in




www.SID.ir

Archive of SID

disease. New York: Springer, 1997: 63-67.

18-Ajdary S, Alimohammadian M, Eslami M, et al. Comparison of the immune profile of non-healing cutaneous leishmaniasis patients with those with active lesions and those who have recovered from infection. Infect Immun 2000; 68(4): 1760-64.

19-Carvalho EM, Correia Filho D, Bacellar O, et al. Characterization of the immune response in subjects with self-healing cutaneous leishmaniasis. Am J Trop Med Hyg 1995; Vol 53(3): 273-77.

20-D'Oliveira A Jr, Machado P, Bacellar O, et al. Evaluation of IFN-gamma and TNF-alpha as immunological markers of clinical outcome in cutaneous leishmaniasis. Rev Soc Med Trop 2002; 35(1): 7-10.

21-Gaafar A, Kharazmi A, Ismail A, et al. Dichotomy of T cell response to leishmania antigens in patients suffering from cutaneous leishmaniasis, absence or scarcity of Th 1 activity is associated with severe infection. Clin Exp Immunol 1995; 100: 239-45.

22-Mortazavi H. Immunological findings in a chronic case of leishmaniasis. JEADV 2000; 14: 181.

23-Glaser DA, Penneys NS. Tests for viral, HIV-related and tropical skin infections. In: Cerio R, Archer CB (eds). Clinical investigations of skin disorders. London: Chapman and Hall, 1998: 91-92.

24-Gantz NM, Brown RB, Berk SL, et al. Manual of clinical problems in infectious disease. Boston: Little Brown and Company, 1994: 353-57.



www.SID.ir