

RESUMO

AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE EM PACIENTES COM LEISHMANIOSE MUCOSA TRATADOS COM ANTIMONIAL PENTAVALENTE E PENTOXIFILINA

Introdução: A leishmaniose mucosa (LM) é uma forma grave de apresentação da leishmaniose tegumentar americana (LTA) associada a uma resposta inflamatória persistente. Concentrações elevadas de TNF, IFN- γ , CXCL9 e CXCL10 são encontradas em pacientes com LM e a associação terapêutica da pentoxifilina ao antimonial tem se mostrado mais efetiva do que o uso isolado do antimonial, reduzindo o tempo de cura em pacientes com LM. O presente estudo avalia a existência de correlação entre a produção de citocinas e quimiocinas e a gravidade da LM, o efeito da associação da pentoxifilina na resposta imune e evolução clínica e se alguma dessas citocinas e quimiocinas podem funcionar como marcador de resposta terapêutica. **Material e métodos:** Estudo prospectivo avaliando 86 pacientes com LM provenientes de uma área endêmica para *Leishmania braziliensis*. Os pacientes foram classificados em estágios variando de I a V de acordo com a gravidade da doença mucosa. A produção de TNF, IFN- γ , CXCL-9 e CXCL-10 em resposta ao antígeno solúvel de *Leishmania* (SLA) foi determinada por ELISA em sobrenadantes de células mononucleares de sangue periférico (CMSP) antes e depois do tratamento com antimonial isolado, ou com a associação da pentoxifilina ao antimonial. **Resultados:** A mediana do TNF no grupo com doença leve (I-II) foi de 1064 pg/ml (142 - 3738 pg/ml), enquanto que no grupo com doença de moderada a grave (III-V) foi de 1941pg/ml (529 - 5294 pg/ml) (p= 0,008). Foi observada correlação direta entre a gravidade da LM e as concentrações de TNF (r=0,44; p=0,007). Pacientes tratados

com a associação do antimonial com a pentoxifilina cicatrizaram mais rapidamente do que os pacientes que utilizaram o antimonial isolado (52 ± 27 dias versus 77 ± 48 , risco relativo= 0,60; intervalo de confiança 95%= 0,37-0,96; $p=0,013$). Falha terapêutica foi maior no grupo que usou apenas o antimonial (25% versus 7%; $p=0,041$). Houve uma redução significativa das concentrações de CXCL9 após o tratamento para LM em ambos os grupos ($p=0,013$; $p=0,043$). A diferença de concentração do TNF antes e depois do tratamento foi preditora de cura (Curva ROC= área sob a curva de 0,65; IC 95%= 0,53-0,78; $p=0,05$). Conclusão: A produção de TNF esta associada a gravidade da doença mucosa e a associação da pentoxifilina ao antimonial reduz o tempo de cura e as taxas de falha terapêutica, devendo ser recomendada no tratamento de pacientes com LM.

Palavras-chave: 1.TNF; 2.IFN- γ ; 3.CXCL9; 4.CXCL10; 5.Leishmaniose; 6.Estadiamento; 7. Gravidade; 8. Pentoxifilina

ABSTRACT

ASSESSMENT OF IMMUNE AND CLINICAL RESPONSE IN PATIENTS WITH MUCOSAL LEISHMANIASIS TREATED WITH PENTAVALENT ANTIMONY AND PENTOXIFYLLINE

Background: Mucosal leishmaniasis (ML) is a severe form of tegumentary leishmaniasis associated with a persistent inflammatory response. High levels of TNF, IFN- γ , CXCL9 and CXCL10 are found in ML patients and the association of pentoxifylline with antimony is more effective in decreasing the healing time in ML patients, when compared to antimony alone. The present study aimed to investigate the existence of a correlation between cytokine and chemokine production and ML severity and evaluate the potential value of cytokine and chemokine production as marker of therapeutic response in ML patients. **Methods:** This prospective study included 86 subjects in an area of endemic *Leishmania braziliensis* transmission. Patients diagnosed with ML were classified into clinical stages ranging from I to V according to disease severity of the disease. TNF, IFN- γ , CXCL-9 and CXCL-10 levels were quantified in the supernatant of the mononuclear cell cultures by ELISA before and after treatment with antimony alone or antimony plus pentoxifylline. **Results:** The median TNF level in the group with mild disease (Stages I-II) was 1064 pg/ml (142 to 3738 pg/ml), while in the group with moderate or severe disease (Stages III-V) it was 1941pg/ml (529 to 5294 pg/ml) ($p= 0.008$). A direct correlation was observed between ML clinical severity and levels of TNF production ($r=0.44$, $p=0.007$). Patients who were treated with antimony and pentoxifylline healed significantly faster than those treated with antimony alone (52 vs. 77 days, hazard ratio = 0.60; 95% confidence interval = 0.38-0.95, $p=0.013$). Therapeutic Failure was higher in the group that received antimony alone (25% vs 7%; $p=0.041$). There was a significant decrease in CXCL9 after therapy of ML in both groups

($p=0.013$; $p=0.043$). **Conclusion:** The TNF levels are associated with severity of mucosal diseases and pentoxifylline associated with antimony should be the recommended therapy for ML.

KEYWORDS: 1.TNF; 2.IFN- γ ; 3.Chemokine CXCL9; 4.Chemokine CXCL10; 5.Leishmaniasis; 6.Disease stage; 7. Severity; 8.Pentoxifylline

Tabela 1: Dados demográficos e clínicos dos pacientes com leishmaniose mucosa tratados com antimonial pentavalente ou com antimonial pentavalente associado a pentoxifilina

	Antimonial n=44	Antimonial + Pentoxifilina n=42	Valor de p
Idade, mediana (M± DP)	36(38±17)	37(42±16)	0,508 ^a
Sexo masculino(%)	28(64%)	27 (65%)	0,908 ^b
LC prévia ou concomitante	33(75%)	34(82%)	0,252 ^b
Estágio da doença mucosa			0,231 ^c
I	4(9%)	1(3%)	
II	16(36%)	14(33%)	
III	13(30%)	15(35%)	
IV	8(18%)	7(17%)	
V	3(7%)	5(12%)	
Outra localização LM			
Cavidade oral	4(9%)	3(7%)	0,954 ^b
Faringe	8(18%)	5(12%)	0,558 ^b
Laringe	1(2%)	1(2%)	1,000 ^b
IDRM, mediana mm (M± DP)	17(17±10)	17(16±9)	0,923 ^a
Cultura positiva para <i>L. braziliensis</i>(%;n)	12(60%;20)	9(56%;16)	0,821 ^b
PCR positivo para <i>L. braziliensis</i> (%;n)	18(67%;27)	14(74%;19)	0,719 ^b
Anatomopatológico sugestivo*	22(50%)	26(61%)	0,312 ^b
Tempo seguimento, mediana dias (M ± DP)	320 (344±224)	285,3(298±221)	0,332 ^a
Tempo de cicatrização, mediana dias (M ± DP)	60 (77 ± 48)	50 (52 ± 27)	0,013 ^a
Falha terapêutica	11(25%)	3(7%)	0,041 ^b
Necessidade 2º ciclo de tratamento	9(20%)	1(2%)	0,015 ^b
Recidiva	6(14%)	5(12%)	0,865 ^b

M: média / DP: desvio padrão

IDRM: Intradermoreação de Montenegro (medida do maior diâmetro da endureção)

LC: Lesão cutânea/ LM: Lesão mucosa

^a Teste U de Mann-Whitney, ^b Teste exato de Fisher, ^c Teste Chi-quadrado de Pearson

* Anatomopatológico sugestivo de infecção por *Leishmania*

Figura 1: Kaplan-Meier estimando a proporção de pacientes não curados tratados com antimonial ou antimonial e a pentoxifilina (Log-rank test; $p=0,007$).

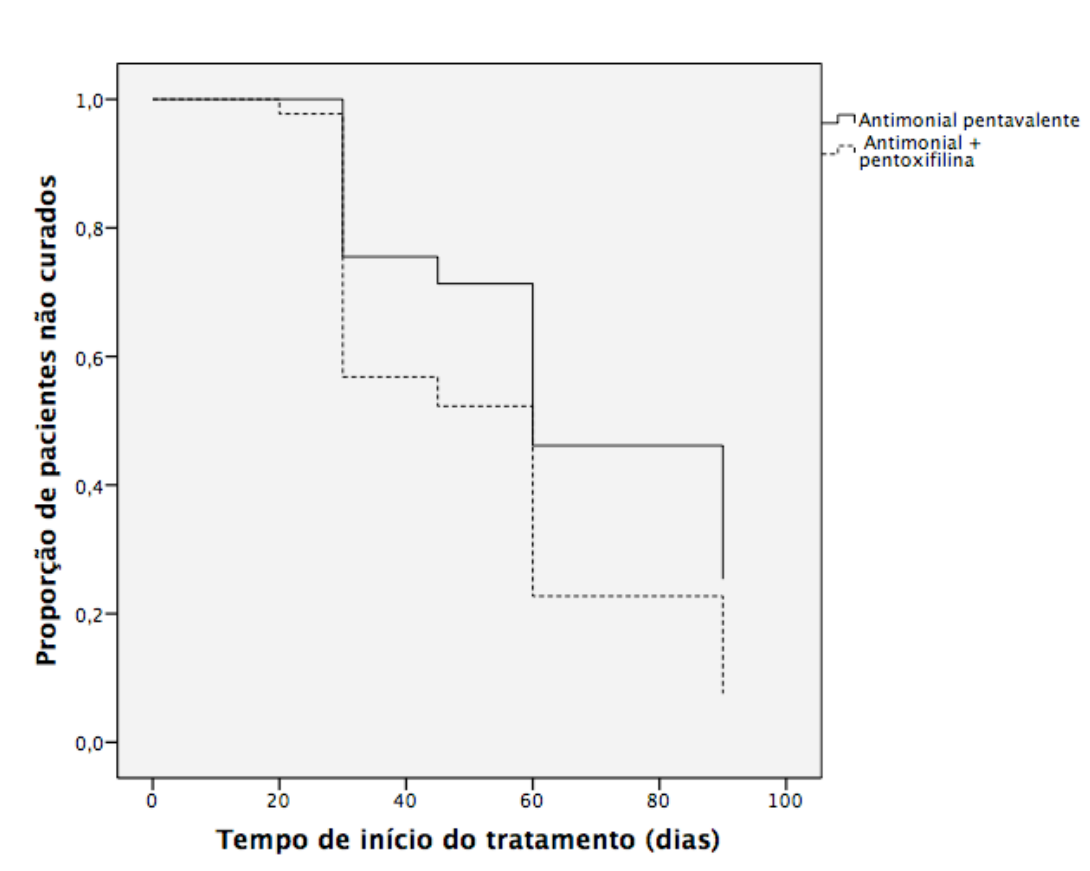


Figura 2: Produção de TNF (2A), CXCL9 (2B), CXCL10 (2C), IFN- γ (2D) e gravidade da Leishmaniose Mucosa (Estágios agrupados). I-II: pacientes com doença leve (n=25); III-V: pacientes com doença de moderada a grave (n=25). As citocinas e quimiocinas foram mensuradas pelo método de ELISA no sobrenadante das células mononucleares do sangue periférico (CMSP) estimuladas com o antígeno solúvel de *L.braziliensis* (SLA). Análise estatística realizada pelo teste U de Mann-Whitney.

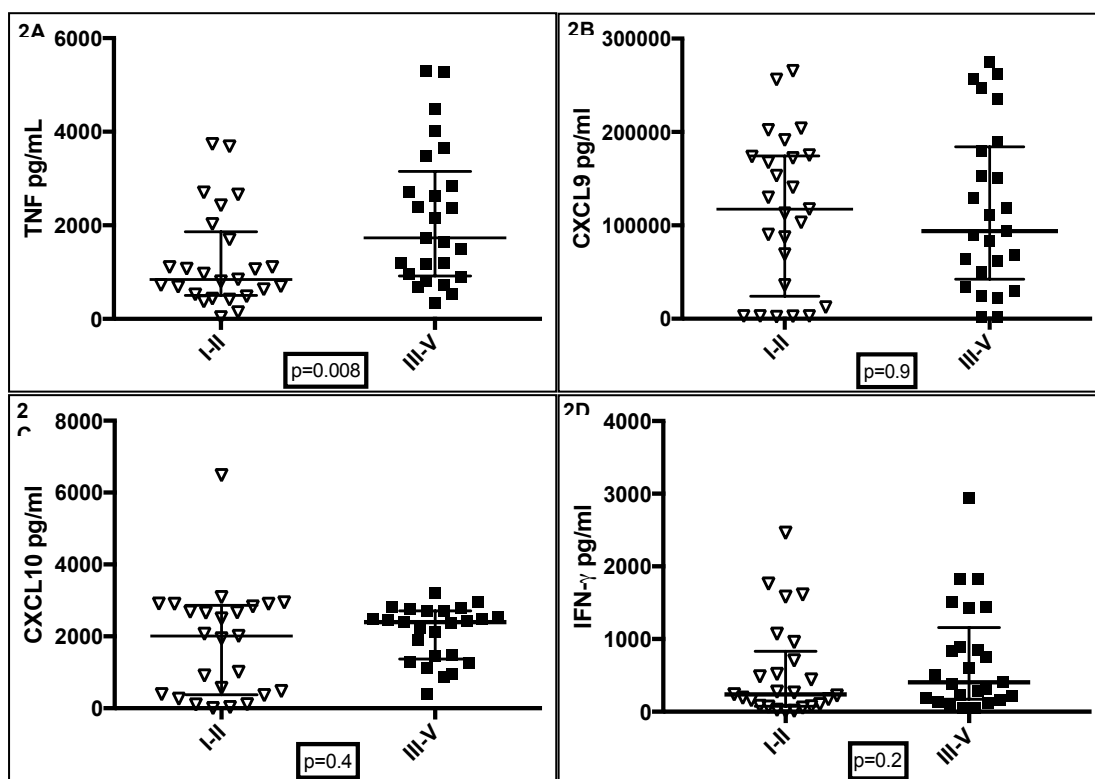


Figura 3: Correlação entre a produção de TNF e a gravidade da leishmaniose mucosa (estágio da doença). Análise estatística foi determinada pela correlação de Spearman; $r_s=0.44$, $p=0,007$ ($n=50$).

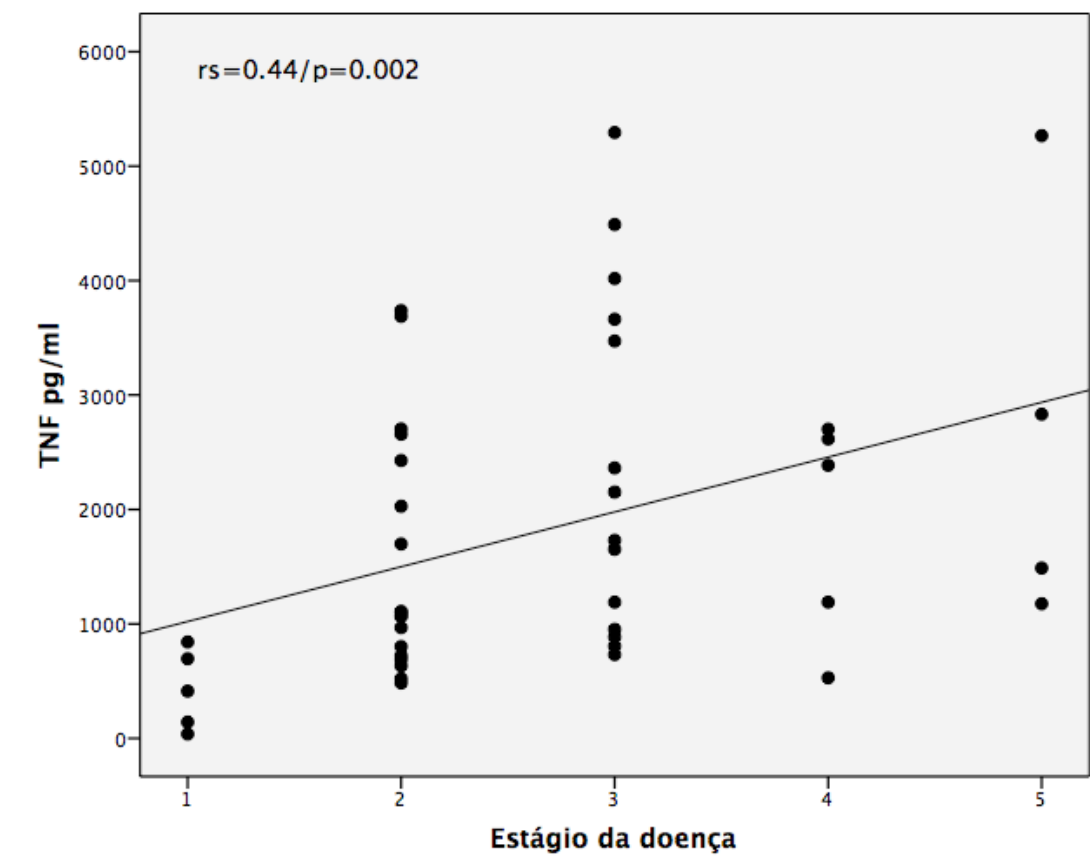


Figura 4: Produção de CXCL9 antes (D0) e depois do tratamento (D30) com antimonial (A) [n=25] e antimonial e pentoxifilina (B) [n=25]. A produção de CXCL9 foi mensurada pelo método de ELISA no sobrenadante das CMSP estimuladas com SLA. Análise estatística foi realizada através do teste pareado de Wilcoxon (*p= 0,013; **p = 0,043) para avaliar a diferença de produção ao final do tratamento e teste U de Mann-Whitney (**p= 0,126) para avaliar diferença entre os grupos .

