

RESUMO

ESTUDO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA DE PACIENTES NA FASE INICIAL DA LEISHMANIOSE CUTÂNEA CAUSADA POR *L. braziliensis*

Introdução: A leishmaniose cutânea recente (LCR) causada por *Leishmania braziliensis* caracteriza-se por lesão papular não ulcerada geralmente associada à linfadenopatia regional com duração menor que 30 dias. Depois de duas a quatro semanas após a infecção os pacientes desenvolvem uma úlcera característica da leishmaniose cutânea clássica (LCC). Na fase inicial da doença, a resposta de células T pode não ser modulada conforme documentado em pacientes com LCC. Na medida em que a resposta imune inata pode desempenhar um papel importante na patogênese de doenças infecciosas, nós caracterizamos a resposta imune inata em pacientes com LCR e avaliamos se havia correlação entre a resposta inflamatória com a falha terapêutica. **Material e Métodos:** Uma coorte com 44 pacientes com LCR foi realizada para avaliar a resposta imune inata após o tratamento com antimônio. Citocinas, quimiocinas e MMP-9 produzidas em resposta ao antígeno solúvel de *Leishmania* (SLA) foram determinados por ELISA em sobrenadantes de células mononucleares de sangue periférico (CSMP) de indivíduos saudáveis (IS), pacientes com LCR e LCC. **Resultados:** Um agrupamento hierárquico baseado na produção de citocinas mostrou uma correlação positiva, porém fraca, entre as citocinas pró-inflamatórias e falha ao tratamento. Os níveis de IFN- γ , TNF, IL-1 β , MMP-9, CXCL-9, CXCL-10 e IL-10 foram mais elevados em pacientes com LCR do que em indivíduos saudáveis. Embora a produção de CXCL-10 seja modulada por IL-10 na LCC, a adição do rIL-10 aumenta os níveis de CXCL-10 em CMSP de pacientes com LCR (P=0.02). Também foi observado que o bloqueio de IFN- γ não altera a produção de CXCL-10 em pacientes com LCR. Além disso, durante o tratamento com antimonial houve uma diminuição significativa na produção de IFN- γ e TNF em pacientes com LCC, no entanto, houve aumento destas citocinas durante o tratamento em pacientes com LCR. **Conclusão:** A produção aumentada de TNF e IFN- γ durante o tratamento na LCR, a incapacidade de IL-10 para modular CXCL-10 e o aumento dos níveis de MMP-9 mesmo em culturas não estimuladas, indicam um papel importante da resposta inflamatória na progressão da doença em pacientes com LCR e a não resposta terapêutica ao antimônio. **Palavras-chave:** leishmaniose cutânea recente, citocinas, quimiocinas, *Leishmania braziliensis*.

ABSTRACT

STUDY OF THE INFLAMMATORY RESPONSE OF PATIENTS INITIAL PHASE OF CUTANEOUS LEISHMANIASIS DUE TO *L.braziliensis*.

Background: The initial phase of cutaneous leishmaniasis (ECL) caused by *Leishmania braziliensis* is characterized by papular non-ulcerated lesion generally associated with regional lymphadenopathy lasting less than 30 days. About two to four weeks' patients develop classical ulcer characteristic of cutaneous leishmaniasis (CL). At this stage of the disease, the T cell response can be modulated as documented in patients with CL. As early events in immune response may play a crucial role in pathogenesis of infectious diseases, we characterized the immune response in patients with CL and evaluate whether there was a correlation between immune response to the disease severity and treatment failure. **Methods:** A cohort of 44 patients with ECL was performed to evaluate the response to therapy with antimony. Cytokines, chemokines and MMP-9 production in response to soluble *Leishmania* antigen (SLA) were determined by ELISA in supernatants of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from healthy individuals, ECL and CL patients. **Results:** A hierarchical clustering based on cytokines production of showed a positive but weak correlation between proinflammatory cytokines and treatment failure. IFN- γ , TNF, IL-1 β , MMP-9, CXCL-9, CXCL-10 and IL-10 levels was higher in ECL patients than in IS. Although IL-10 modulates the production of the CXCL-10 in LC, exogenous addition of IL-10 increases endogenous levels of CXCL-10 in ECL (P=0.02). It has also observed that IFN- γ blockade does not alter the production of CXCL-10 in ECL patients. Furthermore, during antimonial therapy there was a significant decrease of IFN- γ and TNF levels in patients with CL, however, both increase cytokine production during the treatment in patients with ECL. **Conclusion:** The increased production of TNF and IFN- γ during therapy in ECL, IL-10, inability of IL-10 to modulate CXCL-10 and increased MMP-9 levels even in unstimulated cultures indicate that inflammatory response and MMP-9 have a role in disease progression in ECL patients and in fails to antimonial pentavalent therapy. **Keywords:** Early Cutaneous leishmaniasis, cytokines, chemokines, Cutaneous leishmaniasis, *Leishmania braziliensis*.

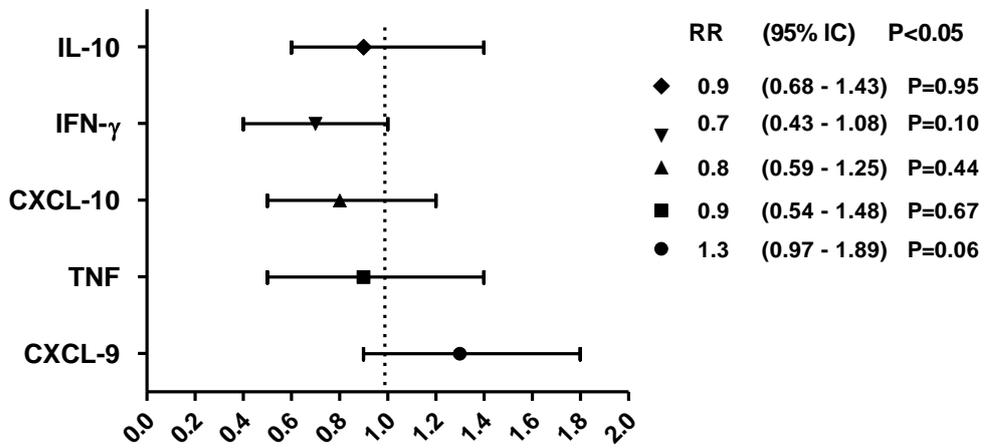
RESULTADOS

Tabela 1. Características demográficas e clínicas dos pacientes na fase inicial da leishmaniose cutânea após a resposta ao tratamento com antimonial pentavalente

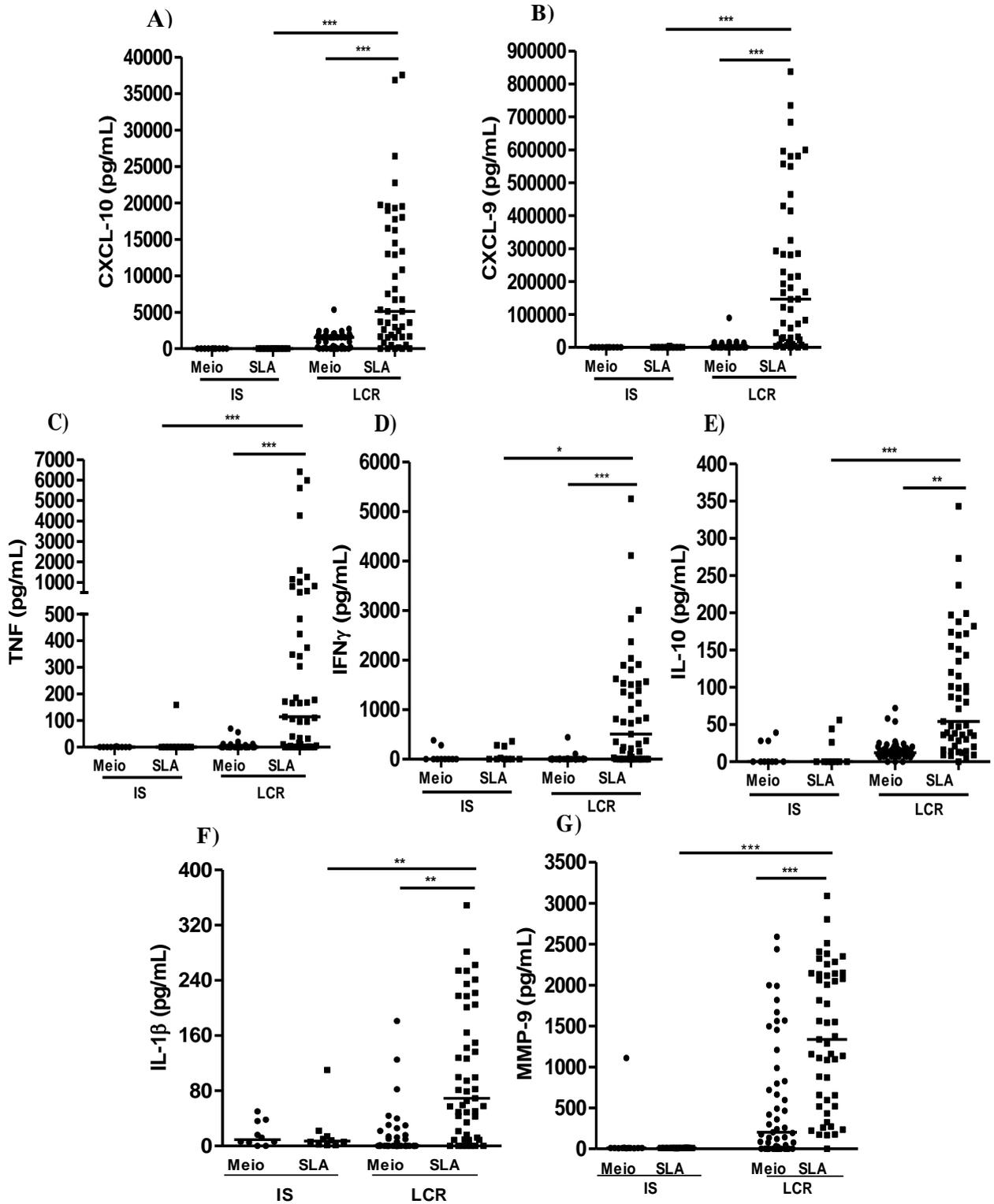
<u>Dados Demográficos e Clínicos</u>	<u>Resposta ao Tratamento</u>		
	Cura (N=12)	Falha (N=32)	P<0,005
Idade (Ano; M± SD)	32 ± 7.9	29 ± 6.6	P>0.005
F/M (%)	33/67	44/56	
Número de lesões	1 ± 1	1 ± 1.2	P>0.05
Tamanho da lesão na admissão	7.3 ± 3.2	8.1 ± 2.8	P>0.05
Maior tamanho da lesão	11 ± 3.8	15 ± 4.9	P=0.0021
Tamanho da linfadenopatia (mm; M ± SD)	34 ± 19.3	35 ± 12.1	P>0.05
Intradermoreação de Montenegro (IDRM)	14 ± 2.7	13 ± 34.3	P>0.05

Teste não paramétrico de Mann-Whitney U. M, Mediana; SD, Desvio padrão. F: Feminino; M: Masculino; IDRM – Intradermoreação de Montenegro. mm – milímetros; Significância estatística: *P = 0.0021.

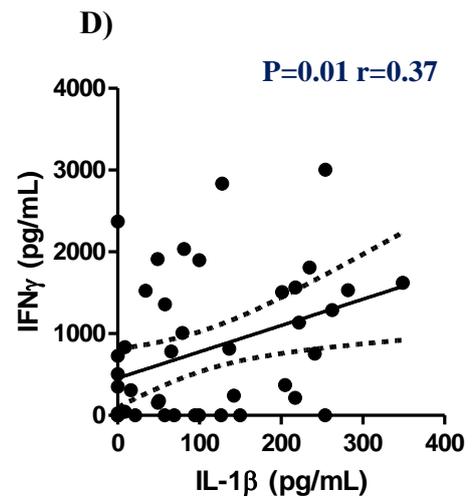
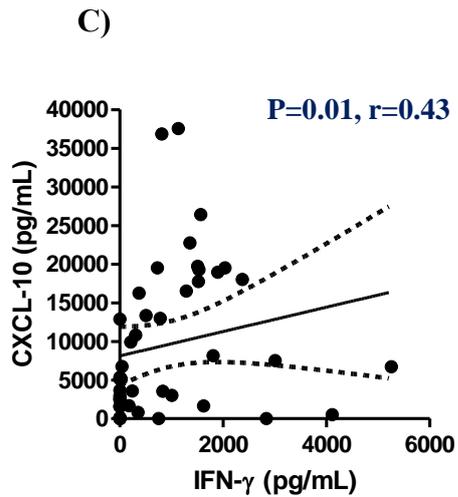
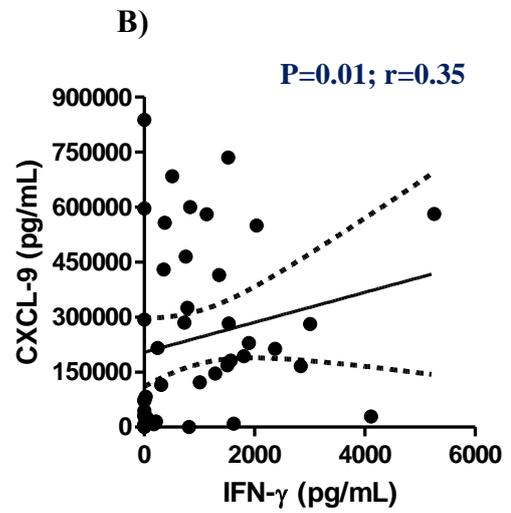
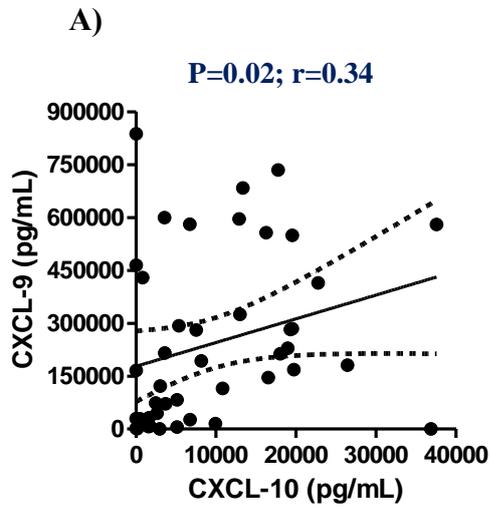
Risco Relativo de Falha Terapêutica de acordo com Produção de CXCL-9, CXCL-10, TNF, IFN- γ e IL-10 de Pacientes com Leishmaniose Cutânea Recente



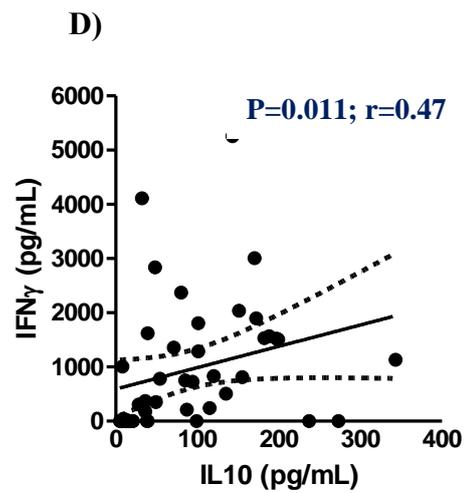
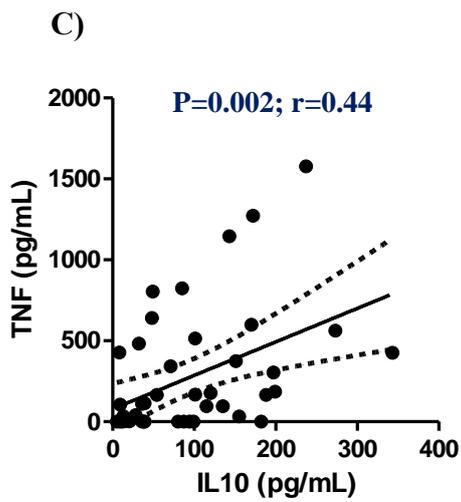
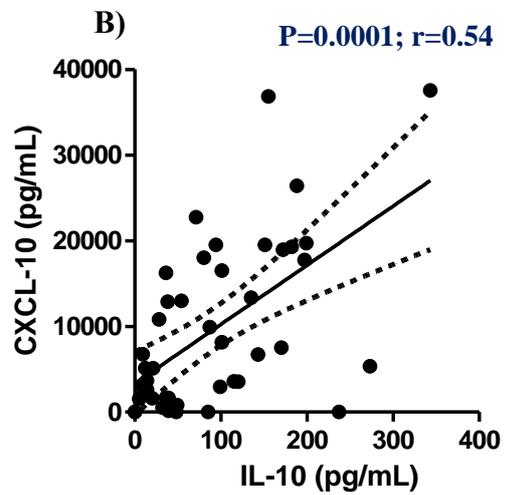
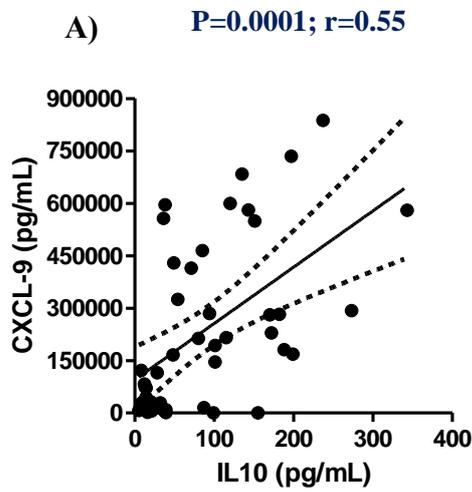
Produção de CXCL-9, CXCL-10, TNF, IFN- γ , IL-1 β , IL-10 e MMP-9 em Pacientes com Leishmaniose Cutânea Recente



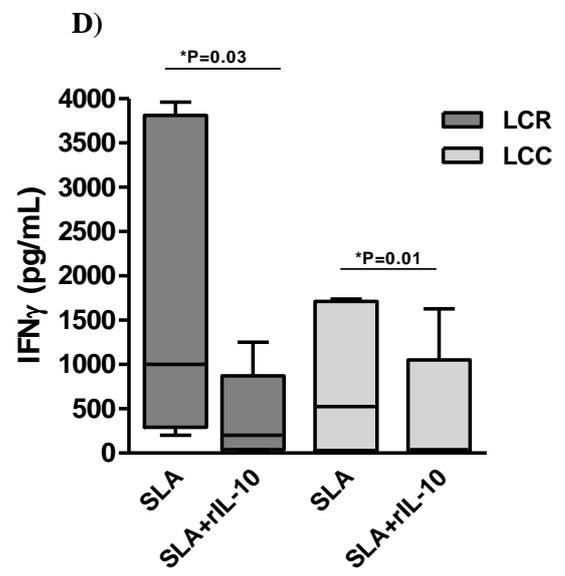
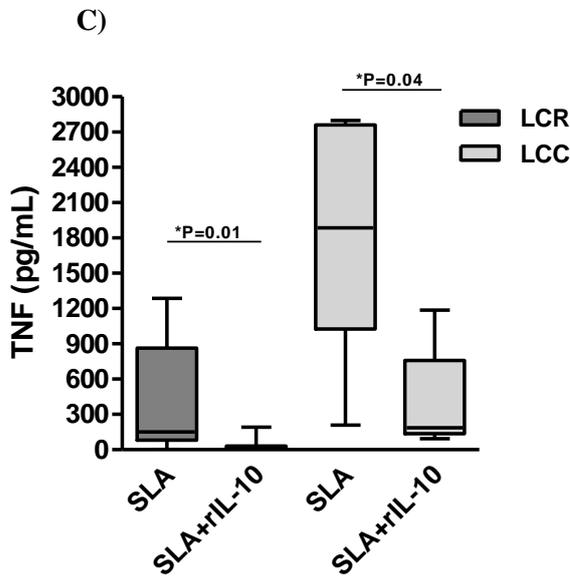
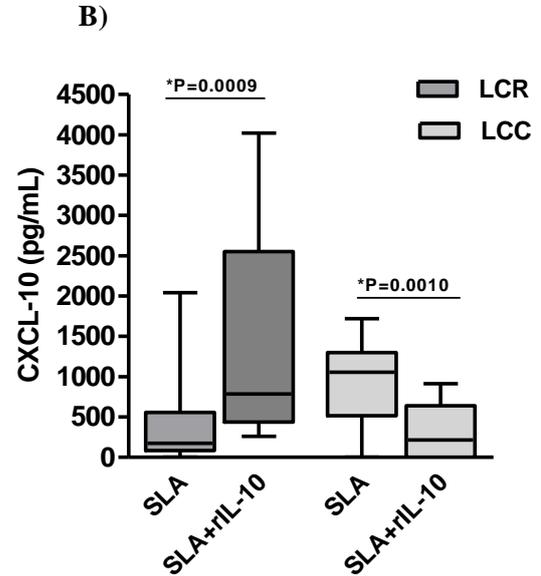
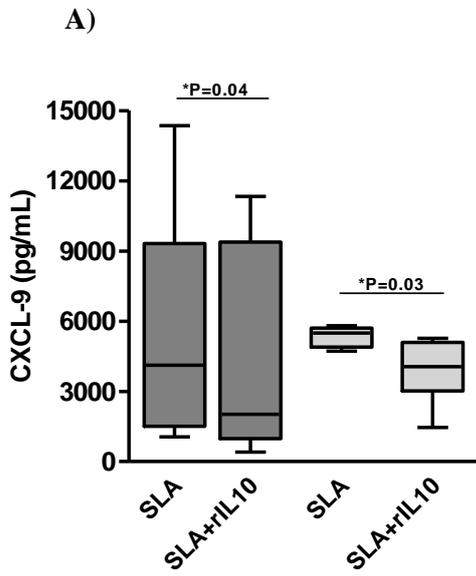
Correlação entre a Produção de Quimiocinas e Citocinas de Pacientes com Leishmaniose Cutânea Recente



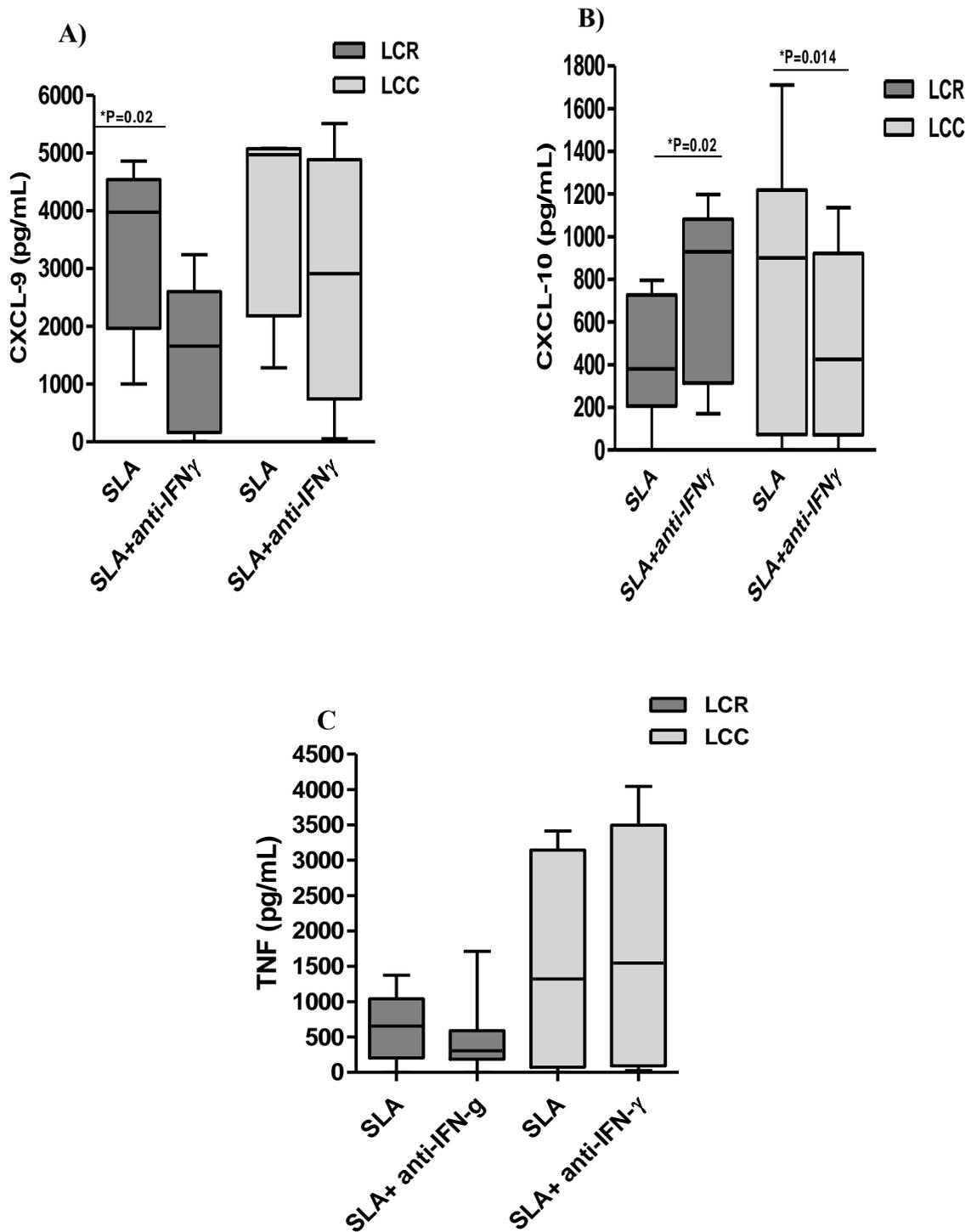
Correlação entre a Produção de CXCL-9, CXCL-10, TNF e IFN- γ com IL-10 em Pacientes com Leishmaniose Cutânea Recente



Habilidade de IL-10 modular a Produção de CXCL-9, CXCL-10, TNF e IFN- γ em Pacientes com Leishmaniose Cutânea recente e Leishmaniose Cutânea Clássica



Influência da neutralização do IFN- γ na Produção de CXCL-9, CXCL-10 e TNF em Pacientes com Leishmaniose Cutânea Recente e Leishmaniose Cutânea Clássica



Produção de CXCL-9, CXCL-10, TNF E IFN- γ antes e durante o tratamento com antimônio em pacientes com LCR e Pacientes com LCC

