

CASO CLINICO

La Leishmaniosi nell'artrite reumatoide

Leishmaniasis in rheumatoid arthritis

C. Pizzorni¹, M.E. Secchi¹, M. Cutolo¹¹Laboratorio di Ricerca e U.O.C. di Reumatologia, Dipartimento di Medicina Interna, Università di Genova

SUMMARY

*Leishmaniasis represents a complex of diseases with an important clinical and epidemiological diversity. Visceral leishmaniasis is of higher priority than cutaneous leishmaniasis as it is a fatal disease in the absence of treatment. The clinical spectrum of leishmaniasis and control of the infection are influenced by the parasite-host relationship. The role of cellular immune responses of the Th1 type in the protection against disease in experimental and human leishmaniasis is well established. TNF- α has been implicated in cytokine-induced macrophage activation and tissue granuloma formation, two activities linked to control of intracellular visceral infection caused by *Leishmania donovani*. Anti-tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) strategies have had a marked and substantial impact in the treatment of rheumatoid arthritis, however the clinical use of TNF- α antagonists has been accompanied by increased reporting of infections. Here we report the first case of visceral leishmaniasis in a patient treated for a long period of time with human anti TNF- α monoclonal antibody, adalimumab.*

Due to the low incidence rate of Mediterranean visceral leishmaniasis, a systematic screening for leishmaniasis in all patients treated with biologics may be not recommended. However, for those patients living at high risk of leishmaniasis exposure, a periodical serological monitoring should be performed during therapy with anti-TNF monoclonal antibodies.

Reumatismo, 2007; 59(3):235-239

EZIOLOGIA ED EPIDEMIOLOGIA

Il termine Leishmaniosi indica un gruppo eterogeneo di sindromi infettive ad ampia distribuzione, tropicale, subtropicale e mediterranea, causate da un protozoo appartenente al genere *Leishmania*. La Leishmaniosi infatti, comprende forme cliniche ad interessamento esclusivamente cutaneo, forme muco-cutanee e forme con grave disseminazione viscerale, talvolta fatale. La popolazione globale a rischio d'infezione è di 350 milioni di individui, l'incidenza annuale è di 1,5-2 milioni di casi, di cui 1-1,5 milioni di casi di Leishmaniosi cutanea e 500.000 casi di Leishmanio-

si viscerale (1). La *Leishmania* è un protozoo intracellulare appartenente al phylum Sarcomastigophora, ordine Kinetoplastida, famiglia Trypanosomatidae, genere *Leishmania*. Il genere comprende due sottogeneri, *Leishmania* (*Leishmania*), parassiti del Vecchio Mondo, e *Leishmania* (*Viania*), parassiti del Nuovo Mondo. La Leishmaniosi è una zoonosi che occasionalmente viene trasmessa all'uomo attraverso la puntura di flebotomi vettori.

Il serbatoio naturale più comune è il cane, ma in alcune regioni hanno importanza prevalente la volpe ed alcuni roditori.

Nei nostri climi i flebotomi scompaiono ai primi freddi autunnali. In particolare, la Leishmaniosi viscerale è causata dalla *Leishmania donovani* nel subcontinente indiano e nell'Africa orientale dalla *Leishmania infantum*, entrambi parassiti responsabili di forme acute di malattia che risultano fatali, se non trattate tempestivamente (2, 3). In Italia sono presenti due tipi di Leishmaniosi, la

Indirizzo per la corrispondenza:

Prof. Maurizio Cutolo

U.O. Clinica Reumatologica

Dipartimento di Medicina Interna

Università di Genova

Viale Benedetto XV, 6 - 16132 Genova

E-mail: carmenpizzorni@virgilio.it

forma viscerale zoonotica e la forma cutanea sporadica, provocate da ceppi viscerotropi ed epidermotropi di *Leishmania infantum*.

Entrambe le forme sono presenti a focolai discontinui su tutta la fascia costiera tirrenica nelle zone rurali o periurbane e nelle aree collinari ad ovest della dorsale appenninica, fino ad un'altitudine di 500-600 m. È inoltre diffusa nelle regioni costiere e sub-appenniniche dello Ionio e del basso Adriatico fino al Gargano, ed in tutte le isole maggiori e minori (4).

In Abruzzo, alcune aree calabresi e a nord della Sardegna invece sono presenti dei focolai di sola Leishmaniosi cutanea. Focolai sporadici e di lieve entità sono riscontrabili nel medio ed alto Adriatico e, più in generale, ad est della dorsale appenninica centro-settentrionale.

Nei paesi del Mediterraneo, circa 1.000 persone ne risultano affette annualmente, con elevata prevalenza nei bambini e nei soggetti immunocompromessi, come gli HIV-positivi ed i pazienti trapiantati d'organo (5).

MECCANISMI DELL'INFEZIONE

Lo sviluppo della malattia nel vertebrato dipende da un insieme di variabili relative alle caratteristiche del parassita ed allo stato immunitario dell'ospite. Le Leishmanie sono estremamente eterogenee tra loro dal punto di vista genetico e questa diversità è responsabile della notevole variabilità nella capacità di virulenza del parassita. Ad esempio variazioni dei lipofosfoglicani di superficie o della produzione degli enzimi perossidasici possono modificare in modo sostanziale la capacità del parassita di sopravvivere all'interno dei macrofagi, quindi la sua capacità di provocare la malattia (6).

La reazione immunitaria dell'ospite è altrettanto importante. È stato dimostrato che una reazione immunitaria cellulo-mediata di tipo Th1 è responsabile nella resistenza alla Leishmania, mentre lo sviluppo di una reazione di tipo Th2 sembrerebbe coinvolta nella disseminazione della malattia (7). La risposta Th1 è stimolata in gran parte dalla IL-12. Recentemente, tuttavia è stata scoperta una seconda via di attivazione della risposta Th1, in grado di controllare l'infezione da Leishmania IL-12 indipendente, ma IFN- γ dipendente (8). In questo caso a determinare la produzione di IFN- γ sarebbero citochine da meglio identificare, come l'IL-27 o l'IL-23 o l'IFN- α/β in sinergia con l'IL-18, op-

pure ancora meglio si tratterebbe dell'IFN- γ prodotto da linfociti CD8+. Le modalità immunologiche di cronicizzazione della malattia tuttavia non sono ancora chiare. Sembra che l'IL-4 sia la citochina che permette una rapida crescita della lesione e l'IL-13 sia invece coinvolta nella cronicizzazione della malattia (9).

CLINICA

L'infezione viscerale può risultare asintomatica o può diventare sintomatica con un decorso acuto, subacuto o cronico. In alcune situazioni le infezioni inapparenti superano ampiamente quelle clinicamente manifeste e lo stato di malnutrizione è comunque un fattore di rischio per lo sviluppo della malattia. Il periodo di incubazione è di solito compreso tra alcune settimane ed alcuni mesi, ma può durare anche anni. La splenomegalia, spesso con milza di consistenza parenchimatosa e non dolorabile, è tipicamente più evidente dell'epatomegalia e può in effetti essere imponente. Sia la splenomegalia sia l'epatomegalia nella Leishmaniosi viscerale derivano da un'iperplasia delle cellule reticoendoteliali.

Le alterazioni di laboratorio sono associate ad uno stadio avanzato della malattia e comprendono la pancitopenia, l'anemia, la leucopenia (neutropenia, marcata eosinopenia, linfocitosi e monocitosi relativa) e la trombocitopenia, così come l'ipergammaglobulinemia (che interessa soprattutto le IgG, per l'attivazione policlonale delle cellule B), nonché l'ipoalbuminemia. L'anemia può essere dovuta a varie cause, quali infiltrazione infettiva del midollo osseo, ipersplenismo, emolisi autoimmune e sanguinamento (10).

IL RUOLO DEL TNF- α

Nella Leishmaniosi viscerale prodotta sperimentalmente il TNF- α gioca un ruolo importante sia nell'attivazione dei macrofagi, indotta dalle citochine, sia nella formazione del granuloma, entrambe fasi che controllano l'infezione intracellulare causata dalla *Leishmania donovani* (11).

Il TNF- α è essenziale sia per la formazione, sia per il mantenimento del granuloma: fasi che risultano le componenti chiave della risposta immunitaria dell'ospite nei confronti dei patogeni intracellulari, anche se risulta poco chiaro il complesso meccanismo con cui il TNF regola questi processi. Fo-

ci di linfociti e macrofagi attivati provvedono a circoscrivere l'infezione (12).

La linfotossina alfa ed il TNF- α , citochine prodotte dai linfociti T CD4+, in corso di infezione da *Leishmania* viscerale, regolano la migrazione dei leucociti a livello epatico; inoltre, entrambe regolano "l'assemblaggio" del granuloma (13). Sebbene la produzione di IFN- γ e di TNF- α possa essere coinvolta nel controllo della replicazione dei parassiti nelle fasi iniziali della infezione da *Leishmania*, queste citochine potrebbero svolgere anche un ruolo nel causare il danno tissutale (14).

L'ANTI TNF- α NELL'ARTITE REUMATOIDE

L'uso sempre più crescente nella pratica clinica degli antagonisti del TNF- α si correla ad un aumento di malattie infettive granulomatoze, quali tubercolosi, istoplasmosi e coccidiomicosi nei pazienti sottoposti a questi agenti (15).

La citochina TNF- α è stata scelta quale bersaglio per la terapia di patologie infiammatorie croniche quali l'artrite reumatoide, le spondiloartriti sieronegative, come pure la psoriasi e l'artrite psoriasica, nonché la malattia di Crohn. Infatti, numerose osservazioni sperimentali dimostrano come il TNF- α sia capace di modulare la produzione di altri mediatori flogogeni quali IL-1, IL-6, GM-CSF o di chemochine quali IL-8, nonché di favorire l'espressione di molecole di adesione intercellulare. I preparati oggi in uso sono due anticorpi monoclonali anti-TNF- α ed una proteina di fusione costituita dal recettore p75 del TNF- α , che hanno trovato applicazione clinica in virtù della loro dimostrata efficacia e sicurezza di impiego.

Gli anticorpi (Ab) monoclonali (infliximab ed adalimumab) sono in grado di determinare la lisi cellulare attraverso meccanismi Ab-mediati e/o complemento-mediati (16). Se questa lisi delle cellule immuni rappresenta un vantaggio od uno svantaggio della terapia rimane ancora non completamente chiaro.

Un effetto positivo della lisi cellulare potrebbe essere la riduzione di cellule che producono TNF- α ; tuttavia, contemporaneamente, si verifica una riduzione anche delle cellule immunocompetenti. È stata quindi segnalata una possibile associazione tra l'impiego degli agenti anti TNF- α ed un maggior rischio di infezioni, anche severe.

Tuttavia, poiché il rischio di infezioni severe è di per sé aumentato in corso di artrite reumatoide, la valutazione di un'eventuale relazione causale con

l'uso degli anti TNF- α è piuttosto complessa (17). Nei pazienti che assumono anti TNF- α , la sensibilità alla tubercolosi primaria può risultare aumentata ed una tubercolosi pregressa può essere riattivata. Si tratta, nella maggior parte dei casi, di processi sia polmonari sia extrapolmonari, che si realizzano in pazienti con precedenti specifici e sono, pertanto, da ascrivere a riattivazione della infezione da bacillo di Koch.

In corso di terapia con biologici è stato anche segnalato il possibile sviluppo di infezioni severe e di infezioni da germi opportunisti, specie quelli il cui contenimento è fortemente condizionato dalla formazione di un granuloma (*aspergillus*, *criptococco*, *histoplasma*) (18).

La Leishmaniosi viscerale è un evento estremamente raro in corso di artrite reumatoide nei pazienti trattati con anti TNF- α , e solo due casi sono stati descritti in seguito alla somministrazione di infliximab (19, 20). In particolare, nel primo caso il gruppo di ricercatori francesi ha descritto una Leishmaniosi viscerale in paziente affetta da artrite reumatoide in terapia con azatioprina, corticosteroidi ed infliximab. La paziente, dopo la nona infusione di infliximab, ha sviluppato citopenia, febbre ad andamento fluttuante e splenomegalia. Una prima biopsia osteomidollare ha rilevato un infiltrato linfocitario reattivo e non specifico, in assenza di mielodisplasia; un secondo aspirato midollare ha evidenziato i parassiti della *Leishmania*. La sierologia positiva e la PCR (polymerase chain reaction) su sangue e midollo hanno confermato la diagnosi (19).

Riportiamo brevemente la nostra esperienza clinica. Si tratta di una donna di 69 anni residente a Genova, affetta da artrite reumatoide in terapia con methotrexate (MTX 7,5 mg/settimana), corticosteroidi ed adalimumab (40 mg/2 settimane). Dopo 25 mesi consecutivi di terapia con adalimumab, la paziente è giunta alla nostra osservazione manifestando febbre fluttuante, con picchi durante l'ospedalizzazione a 39°C, ed importante astenia per cui è stato prontamente interrotto il trattamento con MTX ed anti TNF- α .

I tests di laboratorio hanno dimostrato pancitopenia ed incremento degli indici infiammatori; all'esame obiettivo non si rilevavano né epatomegalia, né splenomegalia. Una prima biopsia osteomidollare ha dimostrato un infiltrato linfoplasmacellulare reattivo e non specifico, in assenza di mielodisplasia.

Una TC ed una scintigrafia con leucociti marcati 99mTC-HMPAO non hanno rilevato alcun segno pa-

tologico; infine uno striscio di una seconda biopsia osteo-midollare, colorato con Giemsa, ha evidenziato i parassiti della *Leishmania* e la sierologia risultava positiva (IF 1/160, cut-off 1/80). La diagnosi è stata successivamente confermata con la tecnica PCR che ha evidenziato le sequenze genomiche della *Leishmania* nel sangue periferico. È importante riportare che tre campioni di siero della stessa paziente, raccolti due nel 2002 ed uno nel 2003, sono risultati negativi all'IF per la presenza di *Leishmania*.

La paziente è stata trattata per via endovenosa con amfotericina B (formulazione lipidica) ad un dosaggio totale di 18 mg/kg; nei 15 giorni dopo il trattamento la PCR su sangue periferico non ha più evidenziato segni dell'infezione. Dopo sei mesi dalla sospensione di adalimumab (il MTX era stato riammesso dopo 30 giorni della sospensione) le condizioni cliniche articolari della paziente sono stabili e non si sono riscontrati ulteriori segni clinici o biologici di recidiva di Leishmaniosi.

CONCLUSIONI

Per quanto riguarda la nostra conoscenza questo è il primo caso di Leishmaniosi viscerale riportato in letteratura in paziente affetta da artrite reumatoide in terapia con adalimumab.

Questo conferma il rischio di infezione opportuni-

stica e la difficoltà della diagnosi in pazienti immunosoppressi; ovviamente corticosteroidi, metotrexate somministrati assieme all'adalimumab per lungo periodo potrebbero aver giocato tutti un ruolo permissivo.

La pancitopenia può manifestarsi in corso di lupus o artrite reumatoide, così come displasia e linfoma possono risultare come l'effetto collaterale del metotrexate o di altri farmaci.

Tuttavia, l'associazione di febbre, astenia, epato-splenomegalia e pancitopenia dovrebbe indurre la ricerca della *Leishmania*, particolarmente nei pazienti che vivono in aree endemiche e che sono in trattamento con antagonisti del TNF- α .

Quindi, data la bassa incidenza della Leishmaniosi, è difficile proporre uno screening per la *Leishmania* in tutti i pazienti trattati con anti TNF- α ; tuttavia, per i pazienti esposti ad alto rischio (che vivono quindi in aree endemiche), andrebbe testata la sierologia.

In Liguria appunto, area endemica per la Leishmaniosi viscerale, in media vengono registrati 6.5 nuovi casi all'anno, 5 dei quali in soggetti adulti in condizioni immunosopresse (21).

A conferma, il riscontro sierologico negativo nei campioni di siero della nostra paziente, prelevati nei 2-3 anni precedenti l'episodio di Leishmaniosi viscerale, suggerirebbe inoltre che si tratta di una infezione primaria piuttosto che di una riattivazione di una infezione sub-clinica.

RIASSUNTO

La Leishmaniosi rappresenta un complesso di malattie caratterizzate da eterogeneità clinica ed epidemiologica. La Leishmaniosi viscerale è prioritaria rispetto alla forma cutanea e può essere fatale in assenza di trattamento. La manifestazione clinica della Leishmaniosi ed il controllo dell'infezione sono influenzati dalla relazione esistente tra l'ospite ed il parassita. Il ruolo della risposta immunitaria cellulo-mediata di tipo Th1 nella protezione della malattia nella forma sia sperimentale sia umana, è ben definito. Il TNF- α è coinvolto sia nell'attivazione macrofagica citochina-indotta sia nella formazione del granuloma tissutale, due attività correlate al controllo dell'infezione viscerale intracellulare causata dalla *Leishmania donovani*.

Le strategie anti TNF- α hanno avuto un sostanziale e marcato impatto nel trattamento dell'artrite reumatoide, tuttavia l'uso clinico degli antagonisti del TNF- α è stato accompagnato da un'aumentata incidenza d'infezioni. Riportiamo qui il primo caso di Leishmaniosi viscerale in una paziente trattata per un lungo periodo con anticorpi monoclonali umani anti TNF- α , adalimumab.

In relazione al basso tasso d'incidenza della *Leishmania* viscerale nel Mediterraneo, un monitoraggio sistematico per la Leishmaniosi in tutti i pazienti trattati con farmaci biologici potrebbe non essere raccomandato. Tuttavia, per tutti quei pazienti che vivono in aree ad alto rischio d'esposizione alla *Leishmania*, un controllo sierologico periodico dovrebbe essere effettuato durante la terapia con anticorpi monoclonali anti-TNF- α .

Parole chiave - *Leishmania* viscerale, artrite reumatoide, TNF- α .

Key words - *Visceral leishmaniasis, rheumatoid arthritis, TNF- α .*

BIBLIOGRAFIA

1. Murray HW, Barman JD, Davies CR, Saravia NG. Advances in leishmaniasis. *Lancet* 2005; 366: 1561-77.
2. Mahajan SK, Machhan P, Kanga A, Thakur S, Sharma A, Prasher BS, et al. Kala-Azar at high altitude. *J commun Dis* 2004; 36: 117-20.
3. Marlet MV, Wuillaume F, Jacquet D, Quispe KW, Du Jardin JC, Boelaert M. A neglected disease of humans: a new focus of visceral leishmaniasis in Bakool, Somalia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2003; 97: 667-71.
4. Desjeux P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2004; 27: 305-18.
5. Gramiccia M. Old World leishmaniasis *Ann Ital Ist Sup Sanità* 1997; 33: 231-9.
6. James SL. Role of nitric oxide in parasitic infection. *Microbiol Rev* 1995; 59: 533-47.
7. Belosevic M, Davis CE, Meltzer MS, Nacy CA. Regulation of activated macrophage antimicrobial activities. Identification of lymphokines that cooperate with IFN- γ for induction of resistance to infection. *J Immunol* 1988; 141: 890-6.
8. Green SJ, Crawford RM, Hockmeyer JT, Meltzer MS, Nacy CA. *Leishmania major* amastigotes initiate the L-arginine-dependent killing mechanism in IFN- γ -stimulated macrophages by induction of tumor necrosis factor- α . *J Immunol* 1990; 145: 4290-7.
9. Melby PC. Recent developments in leishmaniasis *Curr Opin Infect Dis* 2002; 15: 485-90.
10. Berman JD. Human leishmaniasis: clinical, diagnostic and chemotherapeutic developments in the last 10 years. *Clin Infect Dis* 1997; 24: 684-703.
11. Tumang MC, Keogh C, Moldawer LL, Helfgott DC, Teitelbaum R, Hariprasad J, Murray HW. Role and effect of TNF- α in experimental visceral leishmaniasis. *J Immunol* 1994; 153: 768-75.
12. Roach DR, Bean AG, Demangel C, France MP, Briscoe H, Britton WJ. TNF regulates chemokine induction essential for cell recruitment, granuloma formation, and clearance of mycobacterial infection. *J Immunol* 2002; 168: 4620-7.
13. Engwerda CR, Ato M, Stager S, Alexander CE, Stanley AC, Kave PM. Distinct roles for lymphotoxin- α and tumor necrosis factor in the control of *Leishmania donovani* infection. *Am J Pathol* 2004; 165: 2123-33.
14. Ribeiro-de-Jesus A, Almeida RP, Lessa H, Bacellar O, Carvalho EM. Cytokine profile and pathology in human leishmaniasis. *Braz J Med Biol Res* 1998; 31: 143-8.
15. Wallis RS, Broder MS, Wong JY, Hanson ME, Beenhower DO. Granulomatous infectious diseases associated with tumor necrosis factor antagonists. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 1261-5.
16. Calabrese LH. Molecular differences in anticytokine therapies. *Clin Exp Rheumatol* 2003; 21: 241-8.
17. Doran MF, Crowson CS, Pond GR, O'Fallon WM, Gabriel SE. Frequency of infection in patients with rheumatoid arthritis compared with controls: a population-based study. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2287-93.
18. Ellerin T, Rubin RH, Weinblatt ME. Infection and anti-tumor necrosis factor α therapy. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 3013-22.
19. Fabre S, Gibert C, Lechiche C, Dereure J, Jorgensen C, Sany J. Visceral leishmaniasis infection in a rheumatoid arthritis patient treated with infliximab. *Clin Exp Rheumatol* 2005; 23: 891-2.
20. Romani-Costa V, Sanchez C, Moya F, Estany C. Visceral leishmaniasis related to infliximab administration. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2004; 22: 310.
21. Gabutti G, Balestra G, Flego G, Crovari P. Visceral leishmaniasis in Liguria, Italy. *Lancet* 1998; 351: 1136.