

1. INTRODUÇÃO

1.1. A doença leishmaniose e sua epidemiologia

1.1.1. A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA)

Também conhecida como leishmaniose mucocutânea, úlcera de Bauru, ferida brava, a LTA é dividida em leishmaniose cutânea (LC), com comprometimento exclusivamente da pele, e leishmaniose mucocutânea (LMC), acometendo as mucosas.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que a leishmaniose tegumentar ocorra em 88 países e, desse total, 90% dos casos ocorrem em seis países (Brasil e Peru, no Novo Mundo, e Irã, Síria, Afeganistão e Arábia Saudita, no *Velho Mundo*) (Gontijo & Carvalho, 2003).

A leishmaniose é uma zoonose disseminada por quase todo o continente americano. A incidência abrange o sul dos Estados Unidos da América, passando pelo Caribe e chegando até a América do Sul.

A OMS considera a LTA como uma entre as seis principais doenças infecciosas, pela sua capacidade de produzir deformações e sua alta incidência.

De 1980 a 2001, no Brasil, a LTA foi a sexta doença infecciosa com maior incidência confirmada, ficando atrás apenas das seguintes doenças: malária, dengue, tuberculose, sarampo e hanseníase (Fundação Nacional de Saúde – FUNASA, 1999).

A LTA só afeta o homem por acidente quando ele entra nos ecótopos naturais dos reservatórios silvestres, apesar de hoje ela ter sofrido um processo de endemização em áreas de colonização antiga, como resultado da adaptação do parasito a cães, eqüinos e roedores, que hoje são importantes reservatórios das *Leishmanias*.

O período de incubação da doença no homem pode variar entre duas semanas a dois anos.

Atualmente, no Brasil, essa doença está em franco crescimento. Entre os fatores que contribuem para esse crescimento estão: casos oriundos dos focos antigos e/ou de áreas próximas a eles; aparecimento de surtos epidêmicos associados à aceleração do processo de expansão agrícola; garimpos; construção de estradas; expansão das periferias das cidades; novos pólos industriais e turísticos; entre outros (FUNASA, 1999).

A LTA é encontrada em todas as regiões do Brasil, sendo mais freqüente nas regiões Norte e Nordeste e, em seguida, na região Centro-Oeste.

Os dados do ano de 2001 mostraram que em todos os estados da federação foram confirmados casos de LTA, inclusive nos estados de Santa Catarina e do Rio Grande do Sul, onde alguns poucos casos autóctones foram confirmados.

Os principais estados onde ocorre a LTA são: Pará, Amazonas, Rondônia, Maranhão, Ceará, Bahia, Minas Gerais, Paraná e Mato Grosso, que, juntos, foram responsáveis por cerca de 80% dos casos confirmados entre os anos de 1980 e 2001 (FUNASA, 1999).

Segundo a FUNASA, entre 1980 e 2001, cerca de 500 mil casos de LTA foram notificados no Brasil, ou seja, uma média de 25 mil casos por ano. Em 2001 cerca de 40 mil casos foram confirmados, mostrando assim um crescimento nos casos notificados.

No Brasil, as principais espécies de *Leishmania* envolvidas na LTA são: *Leishmania (Vianna) braziliensis*, espécie mais comum no homem, causa lesões cutâneas e mucocutâneas; *Leishmania (V.) guyanensis*, causa lesões cutâneas; *Leishmania (V.) naiffi*, de evolução benigna; *Leishmania (V.) shawi*, casos raros no Norte do Brasil; *Leishmania (V.) lainsoni*, registrada apenas na Amazônia; *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, agente etiológico de LTA, inclusive da leishmaniose cutânea difusa (LCD) (Shaw & Lainson, 1975).

A *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, principal espécie utilizada em nossos estudos, encontra-se nas florestas primárias e secundárias da

Amazônia e também no Nordeste, principalmente na Bahia, no Sudeste (Minas Gerais e São Paulo) e no Centro-Oeste.

Seus hospedeiros naturais são marsupiais e roedores, como o *Proechymis* (rato-soiá) e o *Oryzomys* (FUNASA, 2000).

Seus insetos vetores (*Lutzomyia flaviscutellata*, *Lutzomyia reducta* e *Lutzomyia olmeca*) têm hábitos noturnos e vôo baixo e são pouco antropofílicos.

Na doença humana, ocorre lesão ulcerada e geralmente única caracterizada por úlcera de borda elevada e com fundo granuloso e, em geral, indolor.

Em alguns indivíduos, pode ocorrer o quadro clássico da leishmaniose cutânea difusa (LCD), em que se observa inicialmente mácula, pápula no local da inoculação e não se observa ulceração das lesões. Em poucos meses, ocorre disseminação hematogênica do parasita com aparecimento de lesões em outras partes do corpo, em que são abundantemente encontrados macrófagos vacuolizados repletos de amastigotas (FUNASA, 2000).

Duas causas explicam esse quadro de LCD: uma seria uma deficiência imunológica primária do hospedeiro, e uma outra, causada por subespécies diferentes de *Leishmania* capazes de induzir uma imunodepressão específica no hospedeiro (FUNASA, 2000).

1.1.2. A Leishmaniose Visceral (LV)

O calazar, como é conhecida a leishmaniose visceral, é causado predominantemente pela *Leishmania (L) donovani* e pela *Leishmania infantum* no chamado *Velho Mundo*, mais exatamente na Índia, China, Norte e Oeste da África e na região Mediterrânea da Europa, e o seu vetor são mosquitos do gênero *Phlebotomus* (Herwaldt, 1999).

Já na América do Sul e, em particular, no Brasil, o calazar é causado pela espécie *Leishmania chagasi*, e é transmitida por espécies de inseto do gênero *Lutzomyia* (família Psychodidae) (Lainson & Shaw, 1988).

Diferentemente da leishmaniose tegumentar, no calazar as formas amastigotas residem dentro de células do sistema reticuloendotelial dos nódulos linfáticos, fígado, baço, medula óssea e até no intestino (Roberts *et al.*, 1995).

O período de incubação da doença varia entre dois e quatro meses e os sintomas são febre baixa, protusão do abdômen e aumento do fígado e baço, além de alguns sinais clínicos como edema facial, diarreia e dificuldade respiratória (Cunningham, 2002).

Normalmente, a morte pode ocorrer no indivíduo não tratado entre dois e três anos, porém em muitas formas agudas da doença a morte pode ocorrer entre seis e doze meses (Cunningham, 2002).

No Brasil, a leishmaniose visceral (LV), diferentemente da LTA, é uma doença sistêmica grave e pode levar a pessoa infectada a óbito. A letalidade chega a 10% quando ela não é tratada adequadamente.

Até recentemente, a LV ou calazar era considerada uma endemia de áreas rurais e pobres, muito freqüente na região Nordeste.

A partir dos anos 80, a doença começou a expandir-se para outras regiões, incluindo a periferia de alguns centros urbanos até então indenes (FUNASA, 1999).

Dos 27 estados, cerca de 19 já registraram casos autóctones, e a região Nordeste é responsável por 90% dos casos.

O número de casos confirmados de LV nos últimos anos é crescente. Para se ter uma idéia desse crescimento, no ano de 1990 tínhamos 1944 casos e no ano de 2000 tivemos cerca de 5000 casos notificados (FUNASA, 1999).

Com o processo constante de migração do campo para as periferias das cidades, a presença do vetor e a circulação de cães infectados permitiram a adaptação das *Leishmanias* nesses novos nichos, ajudando assim a expansão do calazar (FUNASA, 1999).

1.2. Diagnóstico e tratamento da leishmaniose

Ainda hoje, o diagnóstico da leishmaniose é feito pela detecção ou identificação das formas amastigotas presentes na lesão por análise microscópica, crescimento do parasito em cultura ou pelo inóculo de raspados de lesões ou do material retirado de biópsia ou de punção em animais susceptíveis, como hamsteres ou camundongos (Cunningham, 2002). A amplificação de genes específicos do parasita pela técnica de PCR pode ser usada na clínica, assim como em estudos epidemiológicos (Uliana *et al.*, 1991).

Descrito em 1912 por Vianna (Vianna, 1912) a droga antimonial trivalente ou tártaro emético foi usada no tratamento da leishmaniose. No final dos anos 40, o antimônio pentavalente (Glucantime®) começou a ser empregado. Drogas que têm como compostos o antimônio pentavalente e diaminas aromáticas são ainda hoje os remédios de escolha para tratamento da leishmaniose.

Além de serem muito tóxicas, essas drogas, em muitos casos, não são capazes de curar o paciente (10-25% dos casos); Pentamidina e o antibiótico Anfotericina B são usados como drogas de 2ª linha (Cunningham, 2002).

1.3. O parasita *Leishmania*

O protozoário pertencente à família Trypanosomatidae e do gênero *Leishmania* é encontrado na natureza em duas formas básicas de diferenciação: promastigotas e amastigotas.

As formas promastigotas são encontradas no trato digestivo do inseto vetor (flebotomíneos) e em alguns meios de cultura artificiais, onde ocorre a diferenciação do parasita, caracterizada por uma série de mudanças morfológicas, bioquímicas e funcionais que culminam com o aparecimento dos promastigotas metacíclicos ou formas infectivas (Sacks, 1989; Bates, 1994).

No Novo Mundo, a transmissão da leishmaniose é feita normalmente pela picada de insetos dípteros dos gêneros *Lutzomyia* e *Psychodopygus*, dependendo da região geográfica (FUNASA, 2000).

As formas amastigotas são encontradas intracelularmente no sistema fagolisossomal de macrófagos de vertebrados. Essas formas intracelulares irão se estabelecer e multiplicar dentro dos vacúolos e infectar seqüencialmente novas células, mantendo assim a progressão da doença ativa (Bates, 1994).

A transformação entre as diferentes formas (promastigotas, promastigotas metacíclicos e amastigotas) é um processo finamente regulado geneticamente e dependente de fatores extracelulares tais como pH e temperatura e é caracterizado pela mudança seqüencial de expressão de mRNA. Isto reflete o *turnover* e a síntese de proteínas específicas dos diferentes estágios (Campbell & Rainey, 1993; Pan *et al.*, 1993).

In vitro, as formas amastigotas se transformam em promastigotas e iniciam-se a multiplicação e a diferenciação para as formas infectivas quando elas são mantidas em meio de cultura, temperatura (22°C-26°C) e pH (neutro) ótimos de crescimento. Isto significa que a metaciclogênese das formas promastigotas pode ser estudada em culturas axênicas (Pan *et al.*, 1993; Bates, 1994).

1.4. A *Leishmania* e o Macrófago

Fagocitose é um mecanismo importante no processo de defesa do hospedeiro vertebrado e faz parte do arsenal do sistema imune inato.

Fagócitos profissionais são capazes de internalizar e matar micróbios em seus compartimentos lisossomais. No caso da fagocitose da *Leishmania* spp., o macrófago quase sempre é subvertido em sua capacidade microbicida e o parasita é capaz de sobreviver e multiplicar no interior dessas células.

A fagocitose compreende dois eventos funcionalmente correlacionados: a adesão via uma ligação de baixa afinidade e a

internalização, conseqüente a uma interação de alta afinidade (Rittig & Bogdan, 2000).

Promastigotas são internalizados por um processo clássico de fagocitose, tipo zíper, mediado por um mecanismo receptor/ligante, e essa fagocitose leva o parasita ao fagosoma que se funde com lisossomas, formando o fagolisossoma.

Dentro do fagolisossoma, o promastigota sofre significantes alterações bioquímicas e metabólicas que resultam em uma forma intracelular obrigatória, o amastigota.

As formas amastigotas multiplicam-se intracelularmente, rompem os macrófagos e podem re-invadir outros macrófagos, células dendríticas e fibroblastos (Rittig & Bogdan, 2000).

1.5. Metaciclogênese e resposta imune do hospedeiro vertebrado

As formas amastigotas, que são ingeridas com o repasto sangüíneo dos flebotomíneos, diferenciam-se em formas promastigotas procíclicas, que se multiplicam rapidamente no trato digestivo do inseto vetor e que não são infectivos para o hospedeiro vertebrado (Sacks & Perkins, 1985). Além disso, expressam em sua superfície grande quantidade de lipofosfoglicano (LPG) e da glicoproteína de 63 KDa (metaloprotease gp63) (Davies *et al.*, 1990) que acabam protegendo a forma promastigota das enzimas hidrolíticas encontradas no trato digestivo do inseto vetor. O LPG facilita a adesão dos parasitas na parede do epitélio do inseto (Pimenta *et al.*, 1992; revisto por Sacks & Kamhawi, 2001).

A transformação ou diferenciação de formas promastigotas procíclicas não-infectantes em formas promastigotas metacíclicas infectantes, que não se multiplicam, ocorre com uma série de modificações bioquímicas no parasita. Entre essas modificações estão as da estrutura do LPG (Turco & Descoteux, 1992; Saraiva *et al.*, 1995; revisto por Sacks & Kamhawi, 2001),

a superexpressão da gp63 (Russel & Alexander, 1988), e mudanças na atividade de cisteíno-proteinases (Mottram *et al.*, 1998).

Graças a essas modificações, os metacíclicos são capazes de se evadir do sistema de defesa do hospedeiro vertebrado e produzir uma infecção persistente.

Através do alongamento da molécula de LPG (aumento do número de unidades repetitivas de dissacarídeos fosforilados), diferentemente dos procíclicos, os metacíclicos são capazes de se proteger da lise via complemento (Sacks *et al.*, 1995; Saraiva *et al.*, 1995; revisto por Sacks & Kamhawi, 2001).

A gp63 superexpressa nos metacíclicos também inibe a lise mediada pelo complemento e promove a quebra de C3b em C3bi (Brittingham *et al.*, 1995).

A opsonização dos metacíclicos com C3b ou C3bi facilita a ligação do parasita com os receptores CR1 e CR3, respectivamente, facilitando assim sua adesão ao macrófago hospedeiro.

Outros receptores no macrófago de hospedeiro vertebrado tem sido identificados, tais como: receptor para fucose-manose (Channon *et al.*, 1984; Russel & Wilhelm, 1986); receptor para fibronectina (Rizvi *et al.*, 1988); receptor para Fc (Chang, 1981) e receptor para proteína C reativa (Culley *et al.*, 1996), que facilitam a entrada da forma promastigota na célula hospedeira.

O macrófago possui e utiliza uma série de estratégias para controlar a infecção parasitária, e uma delas é a produção de um estresse oxidativo após a fagocitose de um organismo estranho. A NAD(P)H oxidase é ativada na membrana do macrófago e prótons de oxigênio molecular são transferidos, formando uma alta concentração de espécies reativas do oxigênio, radicais hidroxila e peróxido de hidrogênio, que interagem com os fosfolipídios da membrana dos parasitas (Cunningham, 2002).

Além disso, a fusão do fagossoma com endossoma promove uma acidificação do fagolisossoma por uma bomba de próton ATPase, tornando assim uma série de moléculas (proteínas, DNA, RNA e carboidratos)

suscetíveis aos efeitos de hidrolases ácidas presentes nesses compartimentos (Cunningham, 2002).

A resposta imune do hospedeiro vertebrado contra a *Leishmania* é mediada por uma resposta celular, pois o parasita escapa da resposta humoral do hospedeiro por residir dentro dos fagolisossomos dos macrófagos (Cunningham, 2002).

Células “T helper” (Th1 e Th2) têm um papel importante na resposta imune antileishmaniana do hospedeiro vertebrado.

A expansão de clones funcionais de células Th1 promove a proteção do hospedeiro, e a expansão de células Th2 exacerba a infecção. A produção de interleucina 12 (IL-12) por células dendríticas e pelos macrófagos induz a diferenciação de células T “naïve” em células Th1, e a conseqüente produção de Interferon gama (IFN- γ) por essas células T e pelas células *natural killer* (NK) (Herwaldt, 1999; Kane & Mosser, 2000; Afonso *et al.*, 1994; Scharon-Kersten *et al.*, 1995; Gorak *et al.*, 1998).

O macrófago infectado e ativado por IFN- γ em conjunto com o fator de necrose tumoral (TNF- α) ativa o gene que produz a enzima óxido nítrico sintetase (iNOS) e que resulta na produção de óxido nítrico (NO), molécula tóxica para a *Leishmania* (Kane & Mosser, 2000).

Por outro lado, a expansão e a diferenciação das células Th2 são reguladas pela produção de Interleucina-4 (IL-4), que confere suscetibilidade à infecção por *Leishmania* (Chatelain *et al.*, 1992).

Nos hospedeiros susceptíveis, a *Leishmania* induz a inibição da produção de IL-12, de IFN- γ , da expressão do receptor de IL-12, além da produção de NO pelo macrófago (Alexander *et al.*, 1999; Vouldoukis *et al.*, 1997).

Apesar de todo esse arsenal de defesa citado anteriormente, a *Leishmania* ainda assim é capaz de burlar os mecanismos leishmanicidas do macrófago e se estabelecer como uma infecção bem-sucedida.

Promastigotas de *L. donovani* podem eficientemente retardar o processo de fusão endosoma-fagossoma por meio de suas moléculas de LPG (Desjardins & Descoteaux, 1997). A interferência na biogênese

fagolisossomal por LPG (ou atraso na maturação do vacúolo parasitóforo) sugere que esta é uma estratégia de sobrevivência intramacrofágica usada pelas formas promastigotas no estabelecimento da infecção (Desjardins & Descoteaux, 1997). O LPG poderia proteger as formas promastigotas que estão invadindo, da degradação hidrolítica promovendo um ambiente propício para a sua diferenciação em formas amastigotas no vacúolo parasitóforo (Desjardins & Descoteaux, 1997).

Amastigotas de *L. mexicana* usam diferentes mecanismos para sobreviver nos vacúolos parasitóforos; um deles é secretar grande quantidade de fosfoglicano (PPG) no vacúolo parasitóforo, que pode promover sua sobrevivência por meio de um mecanismo ainda desconhecido (Descoteaux & Turco, 1999).

A inibição da produção de NO pelo macrófago é feita por GIPLs encontrados na superfície das formas amastigotas, além da proteína 11 associada ao LPG da membrana do parasita que inibe a atividade da iNOS dos macrófagos infectados (Bogdan *et al.*, 1996; Jardim *et al.*, 1995).

A produção de citocinas também pode ser modulada pelo parasita. Formas promastigotas e amastigotas inibem a produção de IL-12 pelo macrófago, não induzindo, assim, uma resposta Th1 (Kane & Mosser, 2000; Carrera *et al.*, 1996; Weinheber *et al.*, 1998). A mediação da fagocitose de formas promastigotas e amastigotas por receptores do complemento e de Fc γ , respectivamente, induz a produção pelo macrófago de Interleucina 10 (IL-10) que está associada à supressão da atividade microbicida dele (Kane & Mosser, 2000; Jardim *et al.*, 1995; Bogdan *et al.*, 1993).

Além disso, *Leishmania* induz a produção de TGF- β , molécula que induz uma atividade inibitória no macrófago (Barral-Netto *et al.*, 1992; Bogdan *et al.*, 1996).

IL-10, IL-4 e TGF- β são citocinas antiinflamatórias que têm sido associadas com a desativação dos macrófagos, promovendo a inibição da produção de NO, exacerbando, assim, a infecção por *Leishmania* (Vouldoukis *et al.*, 1997). *Leishmania* é capaz de modular a produção de citocinas pelo hospedeiro vertebrado, modificando a resposta imune do

Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

