



Universidade Federal de São Paulo  
Campus Diadema



GIOVANA MACEDO KOPEL

**RESPOSTA IMUNOLÓGICA E *Leishmania amazonensis*:  
UMA REVISÃO DE LITERATURA**

DIADEMA

2022

**GIOVANA MACEDO KOPEL**

**Resposta imunológica e *Leishmania amazonensis*:  
uma revisão de literatura**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como exigência parcial para obtenção do título de Bacharel em Farmácia, ao Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e farmacêuticas da Universidade Federal de São Paulo – Campus Diadema.

Orientadora: Profa. Dra. Patricia Xander Batista.

DIADEMA

2022

**Dados Internacionais da Catalogação na Publicação (CIP)**

Kopel, Giovana Macedo

Resposta imunológica e *Leishmania amazonensis*: uma revisão de literatura / Giovana Macedo Kopel. -- Diadema, 2022.  
62 f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) -  
Universidade Federal de São Paulo - Campus Diadema, 2022.

Orientador: Patricia Xander Batista

1. Sistema imunológico. 2. *Leishmania amazonensis*. 3.  
Leishmaniose. 4. Resposta imune. I. Título.

**GIOVANA MACEDO KOPEL**

**Resposta imunológica e *Leishmania amazonensis*:  
uma revisão de literatura**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como exigência parcial para obtenção do título de Bacharel em Farmácia, ao Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas da Universidade Federal de São Paulo – Campus Diadema.

Diadema, 07 de fevereiro de 2022.

Banca examinadora

---

Profa. Dra. Patricia Xander Batista  
Universidade Federal de São Paulo

---

Profa. Dra. Renata Rosito Tonelli  
Universidade Federal de São Paulo

---

Prof. Dr. Ronni Rômulo Novaes e Brito  
Centro Universitário São Camilo

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me guiar e iluminar meu caminho.

A meus pais, Ricardo Kopel e Vanderci Macedo Kopel, por todos os ensinamentos, por me incentivarem e acreditarem em mim, e pelo amor e carinho por toda a minha vida. Minha eterna gratidão a vocês.

Ao meu irmão, Felipe Macedo Kopel, pela eterna parceria e suporte.

Às minhas amigas Ana Carolina Godonhoto Serafim, Caroline Rangel Morine, Ingrid Tamy Minei, Isadora Sampaio Zanelatto, Karine Pires Barsalobra e Luiza Fontainhas da Costa, por tornarem tudo mais leve e divertido e por compartilharem as alegrias.

Ao meu amor, Rafael Luzetti Herrera, pela união e companheirismo.

À minha orientadora Patricia Xander Batista, pelos seus valiosos ensinamentos, e por todo apoio e dedicação.

À UNIFESP e todo corpo docente, por se dedicarem para um ensino de qualidade.

“Compartilhe seu conhecimento. É uma das  
maneiras de atingir a imortalidade”.

Dalai Lama XIV

## RESUMO

Leishmaniose é uma doença infecciosa causada por protozoários do gênero *Leishmania*. A espécie *Leishmania amazonensis*, um dos agentes etiológicos da leishmaniose cutânea, apresenta características únicas pois demonstra alta capacidade de escapar dos mecanismos de resposta imune das células T, causando leishmaniose clínica difusa, forma mais grave da doença. Além de desencadear resposta imunológica controversa e diferente das demais espécies, sua interação com o sistema imunológico se caracteriza por resposta polarizada em Th2, ou com mistura Th1 e Th2, com pouca quantidade de células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> e citocinas, e escassa expressão de IFN- $\gamma$ , que é insuficiente na resposta a essa espécie. Interessantemente, ao contrário das demais espécies, o TNF- $\alpha$  se mostrou fundamental para a eliminação de *L. amazonensis*. O presente estudo visa realizar uma revisão de literatura para levantar as descobertas mais recentes referentes a ação do sistema imune no desenvolvimento da leishmaniose causada pela espécie *L. amazonensis*. Essas informações poderão fornecer subsídios para ações eficazes de saúde pública e terapêutica. Dessa forma, evidencia-se a necessidade de se estudar os mecanismos específicos da resposta frente à infecção por *L. amazonensis*, visto que a base imunológica desses achados não é completamente compreendida e se diferem em muitos aspectos dos dados encontrados em outras espécies de *Leishmania*.

**Palavras chaves:** Sistema imunológico. *Leishmania amazonensis*. Leishmaniose. Resposta imune.

## ABSTRACT

Leishmaniasis is an infectious disease caused by protozoa of the genus *Leishmania*. The species *Leishmania amazonensis*, one of the etiological agents of cutaneous leishmaniasis, has unique characteristics as it demonstrates a high ability to evade the immune response mechanisms of T cells, causing diffuse clinical leishmaniasis, the most severe form of the disease. In addition to triggering a controversial and different immune response from other species, its interaction with the immune system is characterized by a Th2-polarized response, or a Th1 and Th2 mixture, with a low amount of CD4+ and CD8+ T cells and cytokines, and scarce expression of IFN- $\gamma$ , which is insufficient in the response to this species. Interestingly, unlike the other species, TNF- $\alpha$  proved to be fundamental for the elimination of *L. amazonensis*. The present study aims to carry out a literature review to raise the most recent findings regarding the action of the immune system in the development of leishmaniasis caused by the species *L. amazonensis*. This information may provide subsidies for effective public health and therapeutic actions. Thus, the need to study the specific mechanisms of the response to infection by *L. amazonensis* is evident, since the immunological basis of these findings is not fully understood and they differ in many aspects from the data found in other *Leishmania* species.

**Key-words:** Immune system. *Leishmania amazonensis*. Leishmaniasis. Immune response.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Classificação do complexo de gênero, subgênero e espécies de <i>Leishmania</i> .....	14
Figura 2 – Ilustrações das diferentes formas morfológicas de <i>Leishmania</i> .....	19
Figura 3 – Imagem ilustrando a morfologia de um flebotomíneo fêmea.....	22
Figura 4 – Ciclo de vida da <i>Leishmania spp</i> .....	24
Figura 5 – Microscopia eletrônica de varredura de um macrófago hospedeiro de amastigota (em vermelho) .....	26
Figura 6 - Modulação da resposta imunológica.....	52

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2.</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	16
<b>2.1</b>	<b>Objetivo geral</b> .....	16
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	16
<b>3.</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	17
<b>4.</b>	<b>DESENVOLVIMENTO</b> .....	18
<b>4.1</b>	<b><i>Leishmania amazonensis</i></b> .....	18
4.1.1	Protozoário .....	18
4.1.2	Vetores .....	21
4.1.3	Reservatórios .....	23
<b>4.2</b>	<b>Ciclo de vida de <i>Leishmania amazonensis</i></b> .....	23
4.2.1	Ciclo de vida no vetor .....	24
4.2.2	Ciclo de vida no hospedeiro mamífero .....	25
<b>4.3</b>	<b>Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA)</b> .....	27
4.3.1	Leishmaniose Cutânea Localizada (LCL), Cutâneo Mucosa (LCM) e Disseminada (LD) .....	27
4.3.2	Leishmaniose Clínica Difusa (LCD) .....	29
4.3.3	Diagnóstico da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) .....	30
4.3.4	Tratamento da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) .....	31
<b>4.4</b>	<b>Sistema imunológico humano e infecção por <i>Leishmania</i> e <i>L. amazonensis</i></b> .....	32
4.4.1	Imunidade inata .....	33
4.4.1.1	Neutrófilos .....	35
4.4.1.2	Monócitos / Macrófagos .....	37
4.4.1.3	Células dendríticas (DCs) .....	40
4.4.1.4	Basófilos .....	41
4.4.1.5	Eosinófilos .....	41
4.4.1.6	Mastócitos .....	42
4.4.1.7	Células Natural Killer (NK) .....	42
4.4.1.8	Sistema complemento .....	43
4.4.2	Imunidade adquirida .....	44
4.4.2.1	Linfócitos B (LB) .....	45
4.4.2.1.1	Linfócitos B-1 .....	45
4.4.2.2	Linfócitos T (LT) .....	48
<b>5.</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	53

<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>54</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>62</b>
<b>ANEXO A - Diagnóstico da leishmaniose tegumentar cutânea .....</b>	<b>62</b>
<b>ANEXO B - Diagnóstico da leishmaniose tegumentar mucosa .....</b>	<b>63</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Leishmaniose, doença causada por protozoários do gênero *Leishmania*, é retratada desde a antiguidade. Manuscritos datados entre 1.500 a 2.500 anos a.C. já descreviam lesões compatíveis com aquelas que ocorrem nos casos de leishmaniose cutânea (PEREIRA, 2010). No entanto, o parasita causador da leishmaniose foi descrito apenas no início do século XX. Apesar de se tratar de doença amplamente distribuída e conhecida, continua como importante problema para a saúde pública global uma vez que o número de casos vem aumentando em diversos países (WHO, 2020).

Essa crescente incidência de leishmaniose é atribuída principalmente às mudanças ambientais provocadas pelos humanos (WHO, 2020). Ações como desmatamento de regiões rurais e de mata, para a expansão da urbanização (principalmente quando realizada de forma desordenada e não planejada), implica na invasão do *habitat* de vetores transmissores da doença para os humanos e outros mamíferos. Os vetores de *Leishmania* são as diversas espécies do gênero *Lutzomyia* (no Novo Mundo) e da subfamília dos flebotomíneos (*Phlebotominae*) (CERUTTI et al., 2017; MAGALHÃES; MOURA, 2015; TOLEDO et al., 2017; WHO, 2020). Ainda, as modificações humanas mudam as condições climáticas, que também favorecem a distribuição dos flebotomíneos em regiões que antes não eram endêmicas (WHO, 2020; PIETRZAKI et al., 2017). No Brasil, esse aumento vem ocorrendo desde 1980 e preocupa os órgãos de saúde pública, visto que se trata de infecção com importante morbimortalidade (MAGALHÃES; MOURA, 2015).

A leishmaniose é endêmica em 98 países, possuindo cepas específicas do protozoário em determinadas regiões e é considerada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como uma das principais doenças negligenciadas (WHO, 2020; CERUTTI et al., 2017). Estima-se de 700.000 a 1 milhão de casos novos por ano em todo o planeta (WHO, 2020; BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018). Dados da OMS associam essa doença aos locais com maior índice de pobreza, correlacionando à debilidade imunológica, desnutrição, más condições sanitárias, moradias precárias e superlotação populacional (WHO, 2020).

Quanto ao agente infeccioso, *Leishmania* é protozoário intracelular obrigatório que parasita células do sistema fagocítico mononuclear. O parasita apresenta duas formas, de acordo com a fase do ciclo de vida: promastigota, que habita o tubo digestivo dos flebotomíneos; e a forma amastigota, a qual parasita macrófagos dos tecidos de mais de 70 espécies de vertebrados, entre eles os humanos (BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018; MAGALHÃES; MOURA, 2015). Pelo menos 20 espécies diferentes do gênero *Leishmania* provocam a leishmaniose, fator que juntamente com a resposta imune do hospedeiro colabora com as diferentes manifestações clínicas e graus de gravidade da doença (BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018). Sabe-se ainda que indivíduos assintomáticos podem representar grande parte dos infectados, principalmente em regiões endêmicas (BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018; WHO, 2020).

Para o correto diagnóstico dessa doença é necessário realizar anamnese detalhada, baseada na epidemiologia da doença, para investigar sobre moradia ou viagens para regiões de mata (CERUTTI et al., 2017; MAGALHÃES; MOURA, 2015), além da combinação de provas parasitárias, sorológicas e outras investigações laboratoriais (WHO, 2020).

Atualmente, não existe vacina para prevenção de leishmaniose humana (BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018). A OMS preconiza algumas medidas preventivas como inibição da transmissão comunitária para melhor controle da doença. Para tanto, é necessário diagnóstico, tratamento precoce e eficaz, controle dos vetores e reservatórios animais e vigilância dos casos confirmados e suspeitos de leishmaniose (WHO, 2020). O tratamento dos casos sintomáticos depende da forma clínica da doença, da espécie do parasita, da presença de comorbidades coexistentes e da localização geográfica (WHO, 2020; CERUTTI et al., 2017). No entanto, muitos estudos demonstraram que o tratamento da leishmaniose está diretamente relacionado à resposta imune do hospedeiro, semelhante ao observado em outras doenças infecciosas, como a tuberculose (SCOTT; NOVAIS, 2016; MUXEL et al., 2017). Assim, é necessário que o indivíduo apresente um sistema imunológico competente, visto que os tratamentos medicamentosos não são capazes de eliminar completamente o parasita do organismo (BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018; SCOTT; NOVAIS, 2016; WHO, 2020).

Clinicamente, as leishmanioses podem ser classificadas em cutânea e visceral. A leishmaniose visceral é a forma mais grave da doença, sendo fatal em 95%

dos casos não tratados (WHO, 2020; BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018; DATASUS, 2020B). Essa forma clínica é caracterizada por episódios irregulares de febre e perda de peso, com hepatoesplenomegalia, pancitopenia e hipergamaglobulinemia (WHO, 2020; BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018). A doença é endêmica no Brasil, África Oriental e Índia, estimando-se de 50 a 90 mil novos casos por ano, sendo que apenas 25 a 45% são notificados a OMS (WHO, 2020; PIETRZAKI CERUTTI et al., 2017). No Brasil, no ano de 2020, foram confirmados 1.933 novos casos de leishmaniose visceral em todas as regiões da federação, mostrando que a doença ainda continua sendo transmitida no país (DATASUS, 2020B).

A leishmaniose cutânea, nas Américas também chamada de tegumentar americana (LTA), é a forma mais comum da doença (WHO, 2020). Ocorre com maior frequência em vilarejos agrícolas nos quais os animais são mantidos no mesmo ambiente ou em ambiente próximo dos humanos, com estruturas físicas que possibilitam o esconderijo dos insetos vetores (BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018). A leishmaniose cutânea não é doença comumente fatal, geralmente é autolimitada, cicatrizando ao longo de até 18 meses, dependendo do parasita. Contudo, aproximadamente 10% dos casos evoluem para formas mais graves, como as formas cutâneas difusas ou mucocutâneas, que deixam importantes sequelas e lesões desfigurantes, que causam grande estigma social e, conseqüentemente problemas psicológicos associados (MAGALHÃES; MOURA, 2015; BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018). São estimados 600.000 a 1 milhão de novos casos por ano no mundo pela OMS, no qual 95% deles são registrados nas Américas, na bacia do Mediterrâneo, no Oriente médio e na Ásia Central (WHO, 2020). Em 2020, foram confirmados 16.432 casos (maior número desde 2016) de leishmaniose cutânea no Brasil (DATASUS, 2020A), mostrando que a doença se encontra em expansão. Em sua manifestação clássica, a forma crônica de leishmaniose tegumentar evolui de um ponto eritematoso no local da ferida, geralmente em regiões expostas do corpo, para uma pápula (2 a 12 semanas), muitas vezes confundida com furúnculo, e depois para uma úlcera (em 6 meses). As lesões não geram dor, apenas alguns episódios de coceira (WHO, 2020; CERUTTI et al., 2017; BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018).

No Brasil, a leishmaniose cutânea é causada principalmente pelo protozoário *Leishmania (Viannia) braziliensis*, embora outras espécies também sejam descritas como agente etiológico dessa doença, como *Leishmania (Leishmania) amazonensis* (CERUTTI et al., 2017; DATASUS, 2020A). Até a década de 1960, ainda se acreditava



O presente estudo propõe realizar revisão de literatura para levantar as descobertas mais recentes referentes a ação do sistema imune no desenvolvimento da leishmaniose cutânea causada pela espécie *L. amazonensis*. Essa espécie tem características únicas, pois causa leishmaniose cutânea que pode evoluir para outras formas clínicas, despertando grande interesse para entender melhor a fisiopatogenia das leishmanioses. Essas informações poderão fornecer subsídios para ações eficazes de saúde pública, desde a ampliação da vigilância e de estratégias de controle, até a implementação de novos protocolos de terapêutica (MAGALHÃES; MOURA, 2015; TOLEDO et al., 2017).



## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Revisar a literatura sobre a resposta imunológica desenvolvida na leishmaniose cutânea causada por *Leishmania amazonensis*.

### 2.2 Objetivos específicos

- i. Discorrer sobre *L. amazonensis*, explicitando suas características, vetores, reservatórios e ciclo de vida;
- ii. Descrever a Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) e suas formas de manifestações clínicas: Leishmaniose Cutânea Localizada (LCL), Leishmaniose Cutânea Mucosa (LCM), Leishmaniose Disseminada (LD) e Leishmaniose Clínica Difusa (LCD);
- iii. Expor aspectos gerais do sistema imunológico na leishmaniose causada por *L. amazonensis*;
- iv. Apresentar os achados da literatura sobre a resposta imunológica desenvolvida na infecção por *L. amazonensis*.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

Revisão narrativa da literatura realizada por análise e compreensão de artigos nacionais e internacionais, nos idiomas português, inglês e espanhol, publicados nas bases de dados do PubMed, SciELO, Scopus e Medline a partir de 1999. Os descritores utilizados foram: “*Leishmania*”, “*Leishmania amazonensis*”, “Leishmaniose Cutânea”, “Leishmaniose Tegumentar Americana”, “Sistema imunológico” e/ou “Resposta Imunológica”. Os artigos encontrados foram analisados pelo título, resumo e palavras-chave, sendo incluídos no estudo aqueles mais relevantes que atenderam aos objetivos da pesquisa.

## 4. DESENVOLVIMENTO

### 4.1 *Leishmania amazonensis*

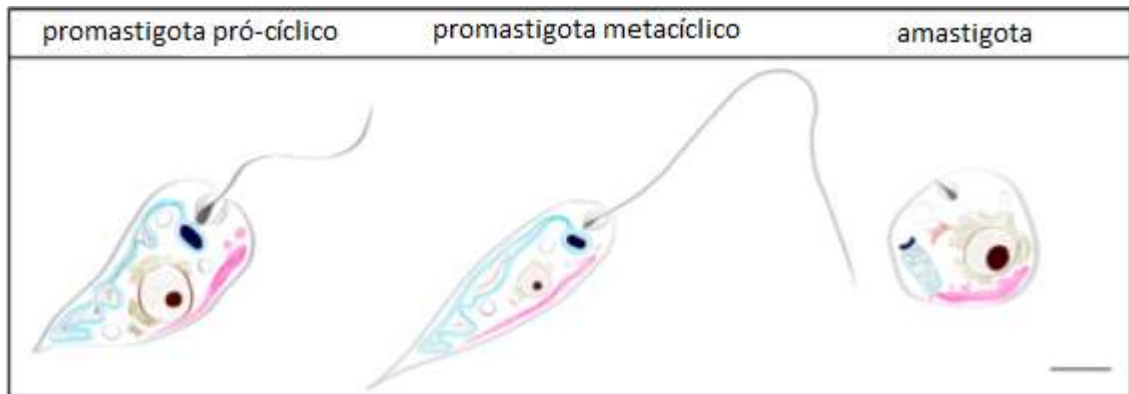
#### 4.1.1 Protozoário

*Leishmania (Leishmania) amazonensis*, assim como todas as espécies de *Leishmania spp.*, é protozoário intracelular obrigatório, pertencente à família *Trypanosomatidae*, subordem *Trypanosomatina* e gênero *Leishmania* (MARTINEZ; PETERSEN, 2014; GERMANÓ et al., 2020; BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018), distribuída principalmente pela América do Sul, como Brasil, Venezuela e Bolívia (STEVERDING, 2017; GERMANÓ et al., 2020).

Sua principal manifestação infecciosa é a leishmaniose cutânea, também chamada de Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA), apresentando-se nas formas: Leishmaniose Cutânea Localizada (LCL), Leishmaniose Cutâneo Mucosa (LCM), Leishmaniose cutânea disseminada (LD) e Leishmaniose Clínica Difusa (LDC) (GERMANÓ et al., 2020; STEVERDING, 2017; TORRES-GUERRERO et al., 2017; NEVES, 2005). Todavia, também são descritas na literatura leishmaniose visceral provocada por *L. amazonensis* (TORRES-GUERRERO et al., 2017; MARTINEZ; PETERSEN, 2014; STEVERDING, 2017). No Brasil, *L. amazonensis* é responsável principalmente pela LDC (FIRMINO-CRUZ et al., 2018; SCOTT; NOVAIS, 2016; SOONG; HENARD; MELBY, 2012). Dentre as espécies causadoras de leishmaniose tegumentar no Brasil, 8% são delegados a *L. amazonensis* (REAL et al., 2013).

Esse protozoário apresenta duas formas evolutivas: promastigota e amastigota. É infeccioso durante todas as fases do seu ciclo de vida, embora o seu estágio mais infeccioso seja o de promastigota, que é aquele transmitido pelos flebotomíneos vetores (promastigota metacíclico - forma infecciosa) (MARTINEZ; PETERSEN, 2014). A morfologia dos estágios do protozoário está apresentada na Figura 2 a seguir:

Figura 2 - Ilustrações das diferentes formas morfológicas de *Leishmania*



Fonte: Adaptado: AOKI; HONG; ZAMPIERI et al., 2020.

O genoma de *L. amazonensis* foi mapeado e apresenta tamanho de genoma de 29 Mb, organizados em 34 cromossomos, contendo 8100 genes preditos, os quais mais de 90% são compartilhados com outras espécies patogênicas de *Leishmania* para humanos, indicando alto grau de conservação do conteúdo gênico (REAL et al., 2013). A maioria dos genes de *Leishmania* demonstraram ser constitutivamente expressos ao longo da transição do estágio de promastigota para amastigota, com a hipótese de terem papéis importantes na regulação da abundância de proteínas (CANTACESSI; DANTAS-TORRES; NOLAN et al., 2015).

Tecnologias transcriptômicas destacaram o papel de alguns genes-chave e produtos gênicos, como a proteína de superfície hidrofílica acilada (HASPB) e uma pequena endo proteína associada ao retículo plasmático (SHERP), que apresentaram expressão aumentada nos estágios metacíclicos, indicando a necessidade dessas moléculas para o desenvolvimento do parasita. Por sua vez, as proteínas cinases ativadas por mitógeno (MAPK4) e metalopeptidases da família M24A atuam no estabelecimento de infecções intracelulares em macrófagos e proliferação em células infectadas (CANTACESSI; DANTAS-TORRES; NOLAN et al., 2015). É importante destacar também o papel das peritrofinas, que são proteínas componentes da matriz peritrófica (MP), uma estrutura extracelular contendo quitina que encapsula o sangue após sua ingestão pelo flebotomíneo. A formação do MP imediatamente após o repasto sanguíneo é de grande vantagem para o protozoário, uma vez que protege os parasitas inoculados da ação das enzimas proteolíticas do flebotomíneo, permitindo então seu desenvolvimento (CANTACESSI; DANTAS-TORRES; NOLAN et al., 2015).

Fatores de virulência de *Leishmania* tem sido alvo de estudos ao longo dos anos e a atividade da arginase (derivado do aminoácido L-arginina) foi descrita como um deles, uma vez que é essencial para a infectividade e sobrevivência de *L. amazonensis*. Foi mostrado que a ausência de arginase prejudica o crescimento do parasita, visto que essa molécula age também na expressão de fatores de virulência importantes, como proteínas ancoradas à membrana plasmática (AOKI; LARANJEIRA-SILVA; MUXEL et al., 2019). A *L. amazonensis* expressa sua própria enzima arginase (CARNEIRO; PETERS, 2021).

As diferentes formas evolutivas de *Leishmania* apresentam em sua superfície uma variedade de moléculas muito importantes para a relação desse parasita com o seu hospedeiro. Esses fatores atuam na virulência, infecciosidade, sobrevivência e patogênese, interferindo também no reconhecimento de parasitas e sinalização de células hospedeiras. Alguns principais exemplos dessas moléculas são os lipofosfoglicano (LPG) e a glicoproteína 63 (GP63) (CARNEIRO; PETERS, 2021).

LPG é um dos principais glicoconjugados de superfície para o parasita, e é encontrado somente nos promastigotas (forma flagelada). Está diretamente envolvido nos estágios iniciais da infecção, pois dentre outras funções, impede que o parasita fique suscetível ao sistema complemento do hospedeiro, proporcionando a sobrevivência deles tanto nos flebotomíneos quanto nos mamíferos e permitindo que a infecção seja concluída (AOKI; LARANJEIRA-SILVA; MUXEL et al., 2019). Os efeitos biológicos e características estruturais de LPG de *L. amazonensis* vem sendo estudados. Dentre as funções identificadas, foi relatada a indução de redes extracelulares de neutrófilos (NETs) (GUIMARÃES-COSTA et al., 2009), indução de proteína cinase R (PKR) (que leva a morte do parasita via leucotrieno B4 (LTB4) (TAVARES et al., 2014) e desencadeiam em macrófagos a produção de NO e citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$  e IL-6) via TLR4 (NOGUEIRA et al., 2016).

Os genes GP63 cluster compõem um conjunto de proteínas de superfície que são abundantes em promastigotas e escassos em amastigotas, porém ainda presente em ambas as formas. Seu papel depende do estágio do parasita: em promastigotas, GP63 está relacionado à proteção contra as enzimas digestivas do flebotomíneo, enquanto no hospedeiro mamífero está relacionado à interação com macrófagos e prevenção da ativação do sistema complemento. Já em amastigotas, GP63 está envolvido na proteção contra a degradação pelo ambiente hostil do fagolisossomo dos macrófagos (AOKI; LARANJEIRA-SILVA; MUXEL et al., 2019). Gp63 de *L.*

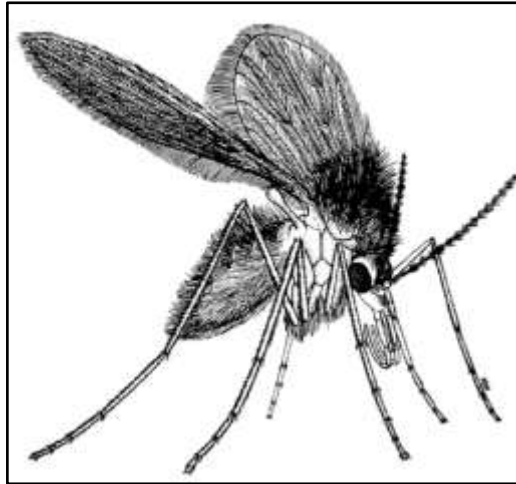
*amazonensis* cliva C3b em iC3b, contribuindo para evasão do parasita da resposta imune. Além disso, animais infectados com promastigotas de *L. amazonensis* deficientes de GP63 apresentaram desenvolvimento tardio da lesão cutânea, mostrando a importância dessa molécula para o desenvolvimento da doença (ISNARD; SHIO, 2012).

Embora estudos bioquímicos, proteômicos e genômicos tenham contribuído bastante para o avanço do conhecimento sobre a composição e os fatores de virulência de *Leishmania*, estudos abordando especificamente a espécie *L. amazonensis* ainda são limitados, sendo necessários mais estudos para entender melhor como essas moléculas e sua expressão em *L. amazonensis* relacionam-se com as formas clínicas dessa espécie de *Leishmania*.

#### 4.1.2 Vetores

Os flebotomíneos são os vetores responsáveis pela transmissão de *Leishmania spp.* São insetos da ordem *Diptera* (aqueles que possuem duas asas), pertencentes à família *Psychodidae*, subfamília *Phlebotominae*, dos gêneros: *Phlebotomus* no Velho mundo (Europa, Ásia e África) e *Lutzomyia* no Novo mundo (continente americano), conhecidos como mosquito-palha (TORRES-GUERRERO et al., 2017; MARTINEZ; PETERSEN, 2014). A Figura 3 mostra imagem característica de flebotomíneo.

Figura 3 - Imagem ilustrando a morfologia de um flebotomíneo fêmea



Fonte: KILLICK-KENDRICK, 1999.

O gênero *Lutzomyia* inclui 90% das espécies patogênicas que infecta humanos, sendo o flebotomíneo *Lutzomyia flaviscutellata* o mais específico para transmissão de *L. amazonensis* (MARTINEZ; PETERSEN, 2014). As fêmeas do vetor são hematófagas de mamíferos, embora possam também se alimentar de outros vertebrados terrestres. Apresentam hábito noturno, tendo preferência por locais úmidos e escuros durante o dia (TORRES-GUERRERO et al., 2017).

Um fato importante sobre esses insetos é que sua saliva participa ativamente no momento do repasto sanguíneo, sendo inoculada e exercendo papel fundamental como anticoagulante, vasodilatador e antiagregante plaquetário, favorecendo o fluxo sanguíneo (NEVES, 2005). A saliva do flebotomíneo possui uma substância vasodilatadora (chamada de Maxidilan) que também parece atuar na inibição da apresentação de antígenos de *Leishmania* pelos macrófagos por mecanismo ainda desconhecido. Além disso, exerce papel imunomodulador, inibindo a secreção de citocinas IL-12 e INF- $\gamma$ , ajudando no sucesso da infecção (NEVES, 2005). Além disso, a saliva dos flebotomíneos possui as enzimas hialuronidases e aspirases que demonstraram contribuir positivamente para a disseminação dos parasitas *Leishmania* (CANTACESSI; DANTAS-TORRES; NOLAN et al., 2015).

### 4.1.3 Reservatórios

Reservatório é considerado qualquer humano, animal, planta, solo ou substância em que um agente etiológico vive e se multiplica normalmente, e do qual depende principalmente para a sobrevivência e reprodução, para que possa ser transmitido a um hospedeiro suscetível (VAN WYNSBERGHE et al., 2009).

Para ser considerado reservatório, a espécie precisa ter uma infecção que não afete sua sobrevivência, com baixo teor patogênico ou até assintomática, e deve portar uma quantidade de parasitas suficientes para conseguir transmiti-los para o vetor durante a sua alimentação (TORRES-GUERRERO et al., 2017).

Na infecção por *L. amazonensis*, os principais reservatórios descritos são gambás e roedores, embora alguns estudos tenham identificado cães como portadores assintomáticos. Ainda, a hipótese de que um humano assintomático possa ser considerado como reservatório é aceita por alguns autores (GERMANÓ et al., 2020; TORRES-GUERRERO et al., 2017; STEVERDING, 2017).

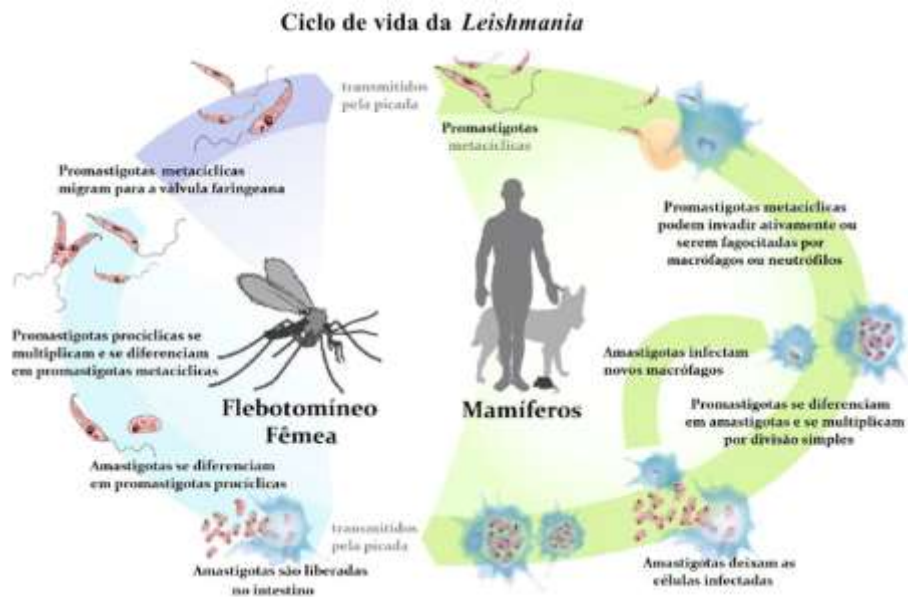
## 4.2 Ciclo de vida de *Leishmania amazonensis*

O ciclo de vida da *L. amazonensis*, bem como das outras espécies, é dividido em dois estágios que correspondem às duas formas do protozoário: forma/estágio promastigota, em que o protozoário é flagelado, com cerca de 12 a 20 µm de comprimento, e representa a fase com maior poder infeccioso. Esta forma é encontrada nos flebotomíneos que se alimentaram do sangue dos reservatórios e será a forma transmitida aos humanos por esses vetores; Forma/estágio amastigota, presente nos reservatórios e nos hospedeiros mamíferos, é intracelular obrigatória, habita células fagocíticas, como macrófagos, e mede de 2,5 a 3,5 µm (TORRES-GUERRERO et al., 2017; BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018; MAGALHÃES; MOURA, 2015).



Como retratado por Torres Guerrero et al. (2017), na natureza, o ciclo da *Leishmania spp.* é representado como: “animal selvagem ‘reservatório’ → flebotomíneo fêmea → animal selvagem saudável”, no qual esse ciclo se quebra e o animal saudável passa a ser substituído por um ser humano quando esse adentra em regiões de *habitat* do vetor, que é ilustrado na Figura 4 e será descrito a seguir:

Figura 4 - Ciclo de vida da *Leishmania spp.*



Fonte: FREZARD, 2015.

#### 4.2.1 Ciclo de vida no vetor

A fêmea do vetor, com hábito hematófago, se alimenta do sangue do animal infectado (reservatório) e acaba por absorver as formas amastigotas presentes nas células infectadas em conjunto com açúcares do sangue que serão importantes no desenvolvimento desse parasita. No trato intestinal desses flebotomíneos inicia-se o processo de transformação do protozoário em promastigotas (TORRES-GUERRERO et al., 2017; BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018).

Especificamente no caso da *L. amazonensis* e de todos os outros do subgênero *Leishmania*, esses protozoários se desenvolvem no intestino médio e

proximal do vetor, sendo classificados como suprapilares, diferindo-se daqueles do subgênero *Viannia* (*L. (Viannia) spp.*), cujo desenvolvimento ocorre no intestino distal (TORRES-GUERRERO et al., 2017).

Inicialmente os parasitas são promastigotas pró-cíclicos, os quais se multiplicam por divisão binária. Depois, diferenciam-se em promastigotas metacíclicos, com alta capacidade infecciosa, e migram do intestino para o aparelho bucal do inseto. Essa forma é regurgitada (e assim inoculados) quando o inseto realiza o repasto sanguíneo em animal saudável (TORRES-GUERRERO et al., 2017; BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018). A duração desse ciclo varia de 4 a 18 dias, podendo se estender até 25 dias em ambientes com baixas temperaturas (TORRES-GUERRERO et al., 2017).

#### 4.2.2 Ciclo de vida no hospedeiro mamífero

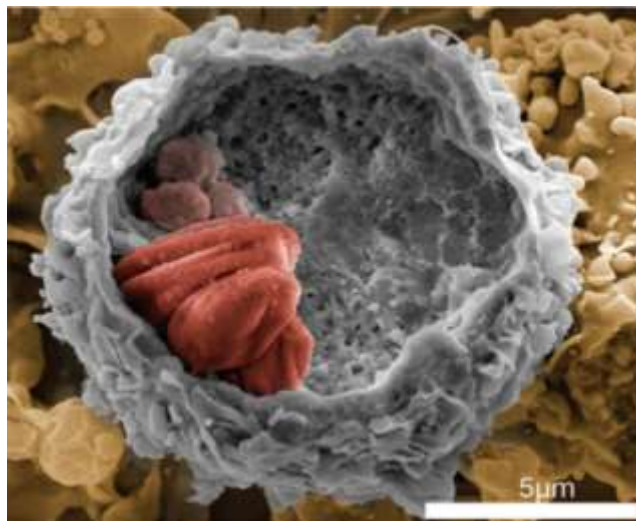
No hospedeiro mamífero, a infecção se inicia com o repasto sanguíneo de fêmeas de flebotomíneos contaminadas que regurgitam as formas promastigotas metacíclicas no hospedeiro mamífero. Nesse momento, as formas promastigotas do parasita são fagocitadas pelos macrófagos e células de Langerhans, presentes na epiderme. Dentro dessas células, os protozoários diferenciam-se em amastigotas, caracterizadas por serem intracelulares obrigatórias, aflageladas e com alto poder de multiplicação por fissão binária. Sua intensa multiplicação pode levar a destruição da célula fagocítica com a liberação de amastigotas que podem então ser fagocitadas por outras células, progredindo assim a infecção (TORRES-GUERRERO et al., 2017; MARTINEZ; PETERSEN, 2014; BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018). Essa fase do ciclo biológico desses parasitas tem duração de 53 a 100 dias (TORRES-GUERRERO et al., 2017). Alternativamente, foi demonstrado que amastigotas de *L. amazonensis* foram liberadas de macrófagos infectados dentro de estruturas membranares que foram captadas por novos macrófagos, constituindo assim uma outra forma de transferência (ou infecção) de uma célula para outra (REAL et al., 2014).

Nem sempre a multiplicação dos amastigotas leva a destruição do macrófago. No momento da inoculação dos parasitas na derme do mamífero, alguns promastigotas metacíclicos não replicantes são absorvidos por macrófagos locais

apresentando um fenótipo de repouso, o que é pensado para conferir a essas células características de “células hospedeiras de boa-fé”, permitindo a diferenciação do promastigota em amastigotas que então entram no ciclo celular (FORTÉA; PRINA; LA LLAVE et al., 2007). Macrófagos maduros exibem CSF-1R, um receptor que desempenha papel fundamental na regulação da produção, manutenção e função dos macrófagos. Dada essa importância, a maioria dos macrófagos sobrevivem e mantêm sua diferenciação dentro de um ambiente contendo por CSF-1 (FORTÉA; PRINA; LA LLAVE et al., 2007). Fortéa, Prina, La Llave et al. (2007) mostraram que macrófagos derivados da medula óssea dependentes de CSF-1 que foram infectados por *L. amazonensis*, permitiram que os amastigotas entrassem em ciclo celular, os quais se replicaram sem causar destruição da monocamada de macrófagos.

A Figura 5 mostra por microscopia eletrônica de varredura formas amastigotas da *L. amazonensis* dentro do vacúolo parasitóforo de um macrófago hospedeiro infectado: infecções de macrófagos por espécies de *Leishmania* pertencentes ao complexo de *L. mexicana*, a qual a *L. amazonensis* se enquadra, envolvem grande número de amastigotas em amplos vacúolos parasitóforos dentro dessas células.

Figura 5 - Microscopia eletrônica de varredura de um macrófago hospedeiro de amastigota (em vermelho).



Fonte: REAL et al., 2013.

O desenvolvimento da doença depende também da resposta imune desencadeada. A seguir serão descritas as principais características das formas clínicas da leishmaniose tegumentar.

### 4.3 Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA)

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA), também nomeada de Leishmaniose Cutânea, é doença polimórfica, devido suas diferentes formas de apresentação, que podem ser classificadas em: Leishmaniose Cutânea Localizada (LCL), Leishmaniose Cutâneo Mucosa (LCM), Leishmaniose Cutânea Disseminada (LD) e Leishmaniose Clínica Difusa (LCD) (MAGALHÃES; MOURA, 2015; FIRMINO-CRUZ et al., 2018; NEVES, 2005; BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018). Essa doença é a forma mais comum de manifestação da leishmaniose no mundo (WHO, 2020), e trata-se de doença de notificação compulsória, a fim de evitar novos focos de transmissão e restringi-la às regiões endêmicas (MAGALHÃES; MOURA, 2015). Todavia, em diversas regiões e municípios brasileiros, o processo de notificação compulsória é lento e acaba por atrasar possíveis intervenções públicas em regiões com novos surtos de leishmaniose (TOLEDO et al., 2017).

As diferentes manifestações da doença, que podem evoluir com cura espontânea ou progredir para formas mais generalizadas (TORRES-GUERRERO et al., 2017; MARTINEZ; PETERSEN, 2014; UENO; WILSON, 2012), são influenciadas pela espécie da *Leishmania* e pela suscetibilidade genética e imunológica do hospedeiro, entre outros fatores como comorbidades e desnutrição (TORRES-GUERRERO et al., 2017). As diferentes manifestações clínicas da LTA são descritas a seguir.

#### 4.3.1 Leishmaniose Cutânea Localizada (LCL), Cutâneo Mucosa (LCM) e Disseminada (LD)

A LCL é caracterizada por pápula eritematosa na região da picada do inseto, geralmente assintomática, que evolui para úlcera (TORRES-GUERRERO et al., 2017; MARTINEZ; PETERSEN, 2014; BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018; GERMANÓ et al., 2020). As úlceras ocorrem em áreas do corpo expostas às picadas, como orelhas, bochechas, pernas, mãos, antebraços e tornozelos (TORRES-GUERRERO et al.,

2017; MARTINEZ; PETERSEN, 2014; BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018; GERMANÓ et al., 2020).

Inicialmente, forma-se pápula que varia de 1 a 10 mm, sem outros sintomas associados, embora alguns relatos refiram prurido e linfadenopatia regional. Cerca de 48 horas após a picada, a pápula evolui para vesícula e posteriormente para pústula, ficando sujeita à rompimento espontâneo ou por traumas locais, formando lesão ulcerada, que mede em torno de 3 cm, variando de acordo com a resposta imune do indivíduo (TORRES-GUERRERO et al., 2017; MARTINEZ; PETERSEN, 2014). São descritas na literatura situações raras em que a picada evolui com aspecto vegetante, sem ulcerar (TORRES-GUERRERO et al., 2017).

A úlcera da LCL, conhecida em algumas regiões da América Latina como úlcera de Chiclero, apresenta-se de forma arredondada, com bordas nodulares ou pontiagudas rosadas, com tecido de granulação na região central (tecido avermelhado, úmido e com neovascularização presentes) e podendo ser recoberto por pseudomembrana esbranquiçada ou por crosta aderente devido à secreção abundante. Podem ser formadas úlceras múltiplas, mas sempre agrupadas na região da picada, exceto em casos de autoinoculação por contato prolongado de outras regiões do corpo com a região ulcerada (TORRES-GUERRERO et al., 2017; BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018) ou, no caso de diversas picadas em diferentes regiões do corpo. Caracteristicamente, são lesões indolores, salvo em casos de infecção secundária associada (MARTINEZ; PETERSEN, 2014; TORRES-GUERRERO et al., 2017; BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018).

O período de doença pode variar de 3 a 5 meses até 15 a 20 anos. Quando há involução da doença, a cicatrização ocorre da periferia para o centro da lesão, deixando importante deformidade local e formando placas com telangiectasias ou cicatrizes de centro hipopigmentado com periferia hiperpigmentada (TORRES-GUERRERO et al., 2017; MARTINEZ; PETERSEN, 2014). Quando a região do pavilhão auditivo é afetada, a cicatrização pode gerar mutilações significativas, formando entalhes na região (TORRES-GUERRERO et al., 2017).

Em indivíduos imunocomprometidos, a eliminação parasitária não ocorre de forma eficiente, levando a cicatrizes mal formadas que podem hospedar o parasita em seus fibroblastos por toda a vida de forma latente (MARTINEZ; PETERSEN, 2014; UENO; WILSON, 2012). Ainda assim, mesmo em indivíduos imunocompetentes, a

taxa de recidiva é de 33%, denominadas leishmaniose recidivante, com características semelhantes às do primeiro episódio, podendo ser mais leves ou mais graves (TORRES-GUERRERO et al., 2017; BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018; GERMANÓ et al., 2020; DATASUS, 2020A; DATASUS, 2020B).

Já para LCM, o comprometimento da mucosa geralmente inicia-se por inchaço no septo nasal, resultando em coriza constante e posteriormente em um processo ulcerativo, quando é disseminado para outros locais, atingindo o palato mole e descendo para a faringe, podendo comprometer a laringe e a traqueia. Em muitos casos ocorre a completa destruição de toda a estrutura cartilaginosa do nariz (NEVES, 2005; TORRES-GUERRERO et al., 2017). Estas graves mutilações geram ao paciente dificuldades ao respirar, falar e se alimentar, podendo até ocasionar óbito (NEVES, 2005; TORRES-GUERRERO et al., 2017). Na maioria dos casos, a LCM resulta de LCL de evolução crônica e curada (Ministério da Saúde; Secretaria de Vigilância em Saúde, 2010). Evidências sugerem que, entre os pacientes com LCL que evoluem para LCM, 90% ocorrem dentro de 10 anos. Destes, 50% ocorrem nos primeiros dois anos após a cicatrização das lesões cutâneas. Acredita-se que a lesão mucosa ocorra por disseminação hematogênica ou linfática (Ministério da Saúde; Secretaria de Vigilância em Saúde, 2010).

A Leishmaniose Disseminada (LD) é uma variação da forma cutânea e geralmente está relacionada a pacientes imunossuprimidos (co-infectados pelo vírus HIV e que possuem AIDS) (Ministério da Saúde; Secretaria de Vigilância em Saúde, 2010), mas pode ocorrer também em pacientes imunocompetentes dependendo da cepa do parasita. LD caracteriza-se por quadro com 10 ou mais úlceras, podendo alcançar a centenas de lesões cutâneas (BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018; MAGALHÃES; MOURA, 2015; TOLEDO et al., 2017; Ministério da Saúde; Secretaria de Vigilância em Saúde, 2010).

#### 4.3.2 Leishmaniose Clínica Difusa (LCD)

No Brasil, a LCD é causada principalmente pela *L. amazonensis* (FIRMINO-CRUZ et al., 2018; SCOTT; NOVAIS, 2016; SOONG; HENARD; MELBY, 2012). Cerca

de 40% dos pacientes infectados pela *L. amazonensis* desenvolvem a LCD (NEVES, 2005). O desenvolvimento da doença para a forma difusa se dá por conta da falta de resposta imunológica celular do indivíduo ao patógeno (GERMANÓ et al., 2020; TORRES-GUERRERO et al., 2017; STEVERDING, 2017; CERUTTI et al., 2017). Essa característica de anergia permite a disseminação do protozoário pelos tecidos, vasos e sistema linfático, levando ao aparecimento de lesões na maior parte da pele e membranas mucosas (TORRES-GUERRERO et al., 2017).

Tipicamente, há formação de múltiplos nódulos endurecidos e eritematosos ou placas extensas lisas com projeções verrucosas infiltrativas marrom-avermelhadas, geralmente não-ulcerativas, que se iniciam predominantemente em regiões expostas da face (como orelhas, bochechas e antebraço) e que acometem progressivamente as extremidades, nádegas mucosas e, em alguns casos, acabam acometendo toda a superfície da pele, exceto couro cabeludo (TORRES-GUERRERO et al., 2017; FIRMINO-CRUZ et al., 2018; SCOTT; NOVAIS, 2016; SOONG; HENARD; MELBY, 2012; CERUTTI et al., 2017). Essas lesões possuem número elevado de parasitas (FIRMINO-CRUZ et al., 2018; SCOTT; NOVAIS, 2016; SOONG; HENARD; MELBY, 2012). Em alguns casos, o quadro pode evoluir com linfedema, linfadenopatia, mau estado geral e febre associado ao quadro típico. E, quando há envolvimento da mucosa da orofaringe e/ou nasofaringe, os nódulos podem provocar a obstrução das vias aéreas, necessitando de intervenção urgente (TORRES-GUERRERO et al., 2017).

Dessa forma, por conta da resposta imunológica deficiente, a LCD é de difícil tratamento e sem resolução espontânea, no qual suas manifestações podem perdurar por até 20 anos e gerar complicações permanentes, como deformidades, mutilações e até óbito (TORRES-GUERRERO et al., 2017).

#### 4.3.3 Diagnóstico da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA)

Para a suspeita de LTA, é necessário considerar as manifestações clínicas e a epidemiologia, considerando histórico de moradia ou de viagens para regiões

endêmicas (TORRES-GUERRERO et al., 2017; WHO, 2020). Não existe exame padrão-ouro para diagnóstico, podendo ser utilizados exames histopatológicos, imunofluorescência, cultura, testes sorológicos, isolamento do parasita *in vivo* (por inoculação em animais), e reação em cadeia de polimerase (PCR) (PIETRZAKI CERUTTI et al., 2017; BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018).

Um exemplo de forma diagnóstica é a raspagem das úlceras em busca de amastigotas, principalmente das bordas das lesões, com o intuito de identificar o protozoário e especificar o tratamento. A biópsia também pode ser realizada, principalmente naqueles nódulos que não ulceraram (TORRES-GUERRERO et al., 2017; CERUTTI et al., 2017; BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018). Esses exames podem encontrar parasitas em sua forma livre ou dentro de macrófagos. Geralmente os parasitas se apresentam em formato ovalado ou piriforme, variando de 2 a 5 µm, com núcleo arredondado.

Ainda, é possível a realização do teste cutâneo de Montenegro, que é sensível e específico para as formas localizada (LCL), cutâneo mucosa (LCM) e disseminada (LD), no qual um teste positivo afirma o diagnóstico principalmente naqueles que não vivem em regiões endêmicas. Contudo, um teste negativo não é conclusivo para descartar diagnóstico de LTA, visto que esse não é capaz de identificar a forma anérgica (LCD) (TORRES-GUERRERO et al., 2017; NEVES, 2005).

Os fluxogramas de diagnóstico preconizados pelo Ministério da Saúde estão apresentados nos anexos.

#### 4.3.4 Tratamento da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA)

Embora a regressão espontânea das lesões ocorra na maioria dos casos, o tratamento é recomendado para diminuir o tempo de evolução e, conseqüentemente, minimizar a disseminação da doença (BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018; TORRES-GUERRERO et al., 2017). Ainda, o tratamento se faz obrigatório no caso de pacientes imunodeprimidos, com lesões múltiplas (nos casos de LD e LCD), extensas (maiores que 4cm), com acometimento de face ou articulações e aqueles com progressão maior que 6 meses sem melhora evidente (BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018).



No entanto, a literatura mostra escassez de tratamentos para leishmaniose, com poucos investimentos e inovações para essa doença (WYREPKOWSKI et al., 2020; ALMEIDA; SANTOS, 2011; NEVES et al., 2011). Em sua revisão de literatura, Wyrepkowski et al (2020) exhibe esse cenário após avaliação de 1957 artigos, entre 2000 e 2020. Ainda assim, os autores ressaltam os antimoniais, por via intralesional e intramuscular, e a anfotericina B e pentamidina, por via parenteral, como principais escolhas para tratamento. A escolha terapêutica deve ser baseada nas formas clínicas, ou seja, se a doença apresenta forma localizada ou difusa. Por fim, os autores acrescentam que alguns estudos têm pesquisado o uso de compostos naturais, com menor toxicidade e maior disponibilidade, mas que ainda não apresentam resultados efetivos.

No Brasil estão disponíveis o tratamento para LTA no SUS. Os medicamentos utilizados são antimoniais, anfotericina B, pentamidina, pentoxifilina (agente imunomodulador) e mais recentemente a miltefosina foi incorporada como fármaco para tratamento de LTA (Ministério da Saúde, 2020).

#### **4.4 Sistema imunológico humano e infecção por *Leishmania* e *L. amazonensis***

O Sistema imunológico tem como função garantir a homeostasia, combatendo todo processo que possa interferir com as funções do organismo. Dessa forma, ele defende o indivíduo tanto de invasores e danos externos, como contra alterações nocivas que possam aparecer originalmente do próprio corpo (CRUVINEL et al., 2010; MESQUITA JÚNIOR et al., 2010; MALE, 2014).

A resposta inflamatória é o primeiro processo de defesa de um organismo contra um dano tecidual potencial ou efetivo, tendo por objetivo remover o estímulo indutor e promover reparação tecidual. Apresenta alta complexidade, mobilizando componentes celulares, vasculares e substâncias solúveis para a promoção de uma resposta efetiva, seja ela específica (imunidade adaptativa) ou geral/não-específica (imunidade inata). Os sinais característicos desse processo são: rubor (hiperemia), aumento da temperatura local, edema, dor e prejuízo funcional (CRUVINEL et al., 2010; MESQUITA JÚNIOR et al., 2010; MALE, 2014). Todavia, em processos em que

o indutor se mantenha presente, a ação inflamatória crônica, podendo ocorrer destruição e reparo tecidual (CRUVINEL et al., 2010).

Embora a literatura traga muitos estudos sobre a interação de *Leishmania* com o sistema imunológico humano, ainda há muito o que se investigar desse processo (TORRES-GUERRERO et al., 2017). Sabe-se que existem fatores que determinam o potencial infeccioso do parasita e a intensidade do desenvolvimento da doença, como: moléculas que facilitam a invasão do protozoário e sua evasão do sistema imunológico, como lipofosfoglicanos (LPG), proteofosfoglicanos (PPGs), fosfolipídios de glicoinositol (GIPLs), gp63 e proteassomas; a imunocompetência do próprio indivíduo; e até a saliva dos flebotômíneos parece influenciar a patogênese da leishmaniose (TORRES-GUERRERO et al., 2017; MARTINEZ; PETERSEN, 2014).

Quando se trata do hospedeiro humano, depois do parasita ser introduzido como promastigotas no hospedeiro, células de defesa da imunidade inata são recrutadas, como os neutrófilos, células dendríticas e macrófagos (MARTINEZ; PETERSEN, 2014). Toda a ação do sistema imunológico pode se dividir em duas grandes classificações: imunidade inata e imunidade adquirida.

#### 4.4.1 Imunidade inata

A imunidade inata, também chamada de imunidade natural, é a primeira linha de defesa capaz de iniciar resposta imediata frente a lesões e/ou invasões. É caracterizada por resposta rápida, mas inespecífica, e sem a capacidade de induzir memória imunológica (CRUVINEL et al., 2010; MALE, 2014). É importante destacar que, mesmo após a ativação da resposta adaptativa, a resposta inata continua agindo e amplificando o processo inflamatório até que o estímulo seja retirado (CRUVINEL et al., 2010; MALE, 2014).

Essa resposta inata atua a partir de barreiras: físicas, como a superfície epitelial, reflexos de tosse e espirro, vômito, peristaltismo, entre outros; químicas, como a produção de componentes solúveis da imunidade (ativação do sistema complemento e outras cascatas); e biológicas, a partir de células polimorfonucleares ou granulócitos (neutrófilos, eosinófilos, basófilos e mastócitos), monócitos e de

células apresentadoras de antígenos (células dendríticas e macrófagos) (CRUVINEL et al., 2010; MALE, 2014).

As células da imunidade inata possuem receptores de reconhecimento (dos quais podemos citar os receptores semelhantes a *Toll* - TLRs) para reconhecer estruturas de patógenos, os chamados PAMPs (padrões moleculares associados ao patógeno) e DAMPs (padrões moleculares associados ao dano tecidual). Os principais PAMPs são polissacarídeos, resíduos de manose e ácidos teicóicos que estão presentes na superfície dos microrganismos e que ativam as células da resposta inata, promovendo fagocitose e a produção e liberação de mediadores inflamatórios (CRUVINEL et al., 2010; MALE, 2014).

Promastigotas metacíclicos de *Leishmania* possuem em sua superfície diferentes proteínas, representando grande fonte de PAMPs (CARNEIRO; PETERS, 2021). LPG presente na superfície da *L. amazonensis* funciona como um PAMP e ativa TLR2. No entanto, ocorre o desencadeamento de uma cascata que induz expressão de superóxido dismutase, que prejudica a ativação de macrófagos e favorece a replicação do parasita. Por outro lado, LPG também pode ativar TLR4, que está associado à produção de NO e TNF- $\alpha$  após a infecção de macrófagos pelo parasita (CARNEIRO; PETERS, 2021). Interessantemente, a expressão de cada tipo de TLR é diferente nas biópsias de lesões de distintas manifestações clínicas causadas pela infecção de *L. amazonensis* em humanos. Na LCL foi evidenciada maior expressão de TLR2, enquanto para as formas LCD e LD a expressão de TLR9 foi maior (CARNEIRO; PETERS, 2021).

Estudos genômicos e proteômicos mostraram que formas amastigotas de *L. amazonensis* expressam dois modelos de genes (domínios A30200 e A45910) que secretam produtos gênicos dentro da célula hospedeira e possuem como possível alvo o receptor TLR9. Como esse receptor implica diretamente na resposta imune contra *Leishmania*, a interação entre TLR9 e os produtos gênicos secretados pela *L. amazonensis* parecem favorecer a permanência intracelular do parasita (REAL et al., 2013). O estímulo de TLR9 por produtos de *L. amazonensis* induz a ativação de CD200, molécula expressa na superfície de macrófagos a qual inibe a produção de NO em macrófagos infectados, proporcionando a evasão do parasita da resposta de macrófagos (SAUTER et al., 2019).

As células e substâncias efetoras da imunidade inata e suas respectivas interações com *Leishmania spp.* e *L. amazonensis* serão detalhadas nas subseções a seguir:

#### 4.4.1.1 Neutrófilos

Representam a maior parte dos leucócitos no sangue periférico e são as primeiras células a migrarem dos vasos para os tecidos, representando importante passo nas fases iniciais da reação inflamatória. O processo de saída dos leucócitos dos vasos sanguíneos é chamado de diapedese. Os neutrófilos são atraídos para o local da inflamação inicial por citocinas e quimiocinas (como a interleucina 8 - IL-8), produtos bacterianos, imunocomplexos e proteínas do complemento (como a C5a). Ao final do processo, essas células são eliminadas por apoptose (CRUVINEL et al., 2010; MALE, 2014).

O neutrófilo tem papel controverso na resposta à *Leishmania spp.* Evidências sugerem que além de não serem úteis nessa resposta, neutrófilos podem prejudicar o combate ao parasita, visto que são capazes de fagocitar os protozoários e acabam tendo a sua apoptose retardada. Normalmente, a vida útil de um neutrófilo é de 6 a 10 horas e a apoptose faz parte do seu mecanismo de proteção. No entanto, nesse período prolongado que pode viver com o parasita internalizado (durando até dois dias) o neutrófilo age como hospedeiro temporário e libera quimiocinas (MIP-1 $\beta$ ) que atraem macrófagos. Esses vão engolfar os neutrófilos infectados apoptóticos e terão como resultado infecção por *Leishmania* sem a ativação de receptores da imunidade inata (MARTINEZ; PETERSEN, 2014; UENO; WILSON, 2012). Esse mecanismo de infecção de macrófagos via neutrófilos infectados é comumente chamado de “Cavalo de Tróia” (FREITAS, 2010).

A fagocitose de neutrófilos apoptóticos infectados por outras células fagocíticas é chamada de eferocitose, e esse processo pode aumentar as chances de sobrevivência da *Leishmania* (CARNEIRO; PETERS, 2021). A fagocitose de neutrófilos infectados por macrófagos é mediada pela expressão de receptores tirosina cinases, como Axl e MertK, e aumenta o fator de crescimento transformador

beta (TGF- $\beta$ ) e a produção de prostaglandina E2 (PGE2). Já para as células dendríticas (DC) que adquirem o parasita por neutrófilos infectados, ocorre prejuízo na apresentação do antígeno e ativação de células T, fato que está associado a níveis diminuídos de expressão de MHC II, CD40 e CD86 pelas DCs. Esses dados indicam que *Leishmania* pode tirar vantagem da tendência anti-inflamatória que os macrófagos e DCs adquirem após fagocitose de neutrófilos apoptóticos infectados (CARNEIRO; PETERS, 2021).

Por outro lado, alguns estudos apontam que neutrófilos podem ter papel protetor na leishmaniose. Essas células apresentam diversos mecanismos antimicrobianos, tais como: fagocitose, degranulação, produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e liberação de armadilha extracelular de neutrófilos (NET), em um processo conhecido como NETose (CARNEIRO; PETERS, 2021). A NETose é um processo no qual o neutrófilo emite uma rede extracelular, a qual contém principalmente cromatina e enzimas, que funciona como armadilha para conter e eliminar patógenos. Porém, como consequência dessa ação, o neutrófilo passa por um processo de morte celular. A liberação das armadilhas é estimulada pela presença de amastigotas, promastigotas e por LPG presente na superfície da *L. amazonensis*. Foi demonstrado que as formas promastigotas induziram maiores quantidades de NETs liberadas e são mais suscetíveis à NETose em comparação com as formas amastigotas de *L. amazonensis* (CARNEIRO; PETERS, 2021). Apesar de todos os mecanismos efetores desencadeados pelos neutrófilos, após a infecção por *L. amazonensis*, a maioria dos parasitas sobrevivem e são capazes de iniciar a doença. Os parasitas podem evitar a morte mediada por NETs por intermédio de LPG e GP63, que podem clivar os NETs, liberando os promastigotas. Além disso, por expressarem peroxidases e um domínio de tiorredoxina, amastigotas espécies *L. amazonensis* são altamente resistentes à EROs (CARNEIRO; PETERS, 2021).

Esse papel controverso dos neutrófilos é evidenciado em alguns estudos *in vivo*. A depleção de neutrófilos em camundongos antes do repasto sanguíneo por flebotomíneos infectados com *L. major* ou *L. mexicana* resultou em redução na carga de parasita. Por outro lado, em infecção por *L. amazonensis* foi mostrado que a depleção de neutrófilos resulta em aumento de lesões e cargas parasitárias no local da infecção (CARNEIRO; PETERS, 2021). Dessa forma, estudos adicionais são necessários para compreender melhor o papel dessas células no desenvolvimento da leishmaniose.

Ainda não se sabe profundamente o papel dos neutrófilos durante os estágios crônicos da leishmaniose. Porém, um estudo mostrou que, no caso de *L. mexicana*, amastigotas podem utilizar os neutrófilos para se replicarem, em ambientes de deficiência de monócitos. Além disso, nas infecções em locais secundários, sob as mesmas condições de deficiência de monócitos, também foram encontrados neutrófilos infectados, o que sugere que mesmo na presença de resposta Th1 desenvolvida, os neutrófilos ainda permanecem como opção para infecção e replicação dos parasitas (CARNEIRO; PETERS, 2021).

Embora essas observações sugiram que neutrófilos podem manter a infecção e até a proliferação do parasita, estudos sobre a população hospedeira que mantém a replicação do parasita durante os estágios finais da doença sugerem que os neutrófilos desempenham papel menor na manutenção contínua da carga do parasita (CARNEIRO; PETERS, 2021).

#### 4.4.1.2 Monócitos / Macrófagos

Os monócitos compõem de 3 a 8% dos leucócitos na circulação e, após diapedese, dão origem aos macrófagos (CRUVINEL et al., 2010; MALE, 2014). Macrófagos são células fagocíticas mononucleares que desempenham papel essencial para a homeostase e durante a inflamação, mediando a morte de patógenos e promovendo reparo tecidual (CARNEIRO; PETERS, 2021). Quando estimuladas, essas células podem liberar citocinas pró-inflamatórias, como IL-1, IL-6, IL-12 e TNF- $\alpha$  (fator de necrose tumoral alfa) ou anti-inflamatórias, como IL-10 e TGF- $\gamma$  (CRUVINEL et al., 2010; MALE, 2014). Macrófagos classicamente ativados liberam citocinas pró-inflamatórias e são chamados de M1. Por outro lado, macrófagos alternativamente ativados são produtores de citocinas anti-inflamatórias e chamados de M2 (CHÁVEZ-GALÁN et al., 2015).

Grande parte dos estudos envolvendo a interação parasita-hospedeiro na leishmaniose avaliaram a resposta de macrófagos após infecção por *Leishmania spp.* ou após estímulos com componentes do parasita. Nesta seção foram selecionados alguns trabalhos para evidenciar as características principais dessa interação.

Durante a infecção por *Leishmania*, macrófagos são as principais células de defesa, pois fagocitam e podem levar o parasita à morte. No entanto, essas células podem também fornecer ambiente seguro para a sobrevivência e replicação de *Leishmania*. A determinação do papel que essas células irão possuir depende de diversos fatores como sua ativação, seu recrutamento e sua organização espacial no tecido infectado (CARNEIRO; PETERS, 2021).

Os receptores de membrana dos macrófagos são importantes para a ativação inicial na infecção por *Leishmania*. Além dos TLRs, destacam-se: receptores para manose (MR), primeiro e terceiro receptor do complemento (CR1 e CR3), receptores de fibronectina (FnRs) e receptores Fc (MARTINEZ; PETERSEN, 2014). Estudos mostraram que alguns receptores são mais vantajosos para o parasita (GALLO; GONÇALVES; MOSSER, 2010). A entrada de *Leishmania* em macrófagos via receptores Fc (em especial Fc $\gamma$ R), promove maior produção de IL-10 e tem correlação com maior sobrevivência do parasita no hospedeiro. Também, receptores de tirosina cinase (Abl2) teriam facilitado a fagocitose da *L. amazonensis* por macrófagos (TORRES-GUERRERO et al., 2017).

Monócitos e macrófagos podem adquirir diferentes funções impulsionadas por respostas imunes inatas e adaptativas. A determinação do fenótipo depende de citocinas, PAMPs e DAMPs presentes no contexto inflamatório. Quando expostas a citocinas como IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ , estas células adquirem o fenótipo pró-inflamatório M1 e são capazes de produzir altos níveis de iNOS, EROs e produção de citocinas e quimiocinas, como TNF, CXCL9 e CXCL10. Quando ativados por IL-4 e/ou IL-13, estão associados a uma função de cicatrização de feridas – fenótipo M2. Neste caso, estas células expressam moléculas como Relm $\alpha$ , Ym1, CCL24 e Arg1. Se ativadas por imunocomplexo ou PGE2, essas células podem desempenhar função supressora, produzindo altos níveis de citocinas anti-inflamatórias, como IL-10, que na infecção por *Leishmania* pode suprimir as funções de monócitos e macrófagos, comprometendo a indução de mecanismos efetores (produção de TNF- $\alpha$ , EROs e NO), facilitando o crescimento e a sobrevivência do parasita (CHÁVEZ-GALÁN et al., 2015; TOMIOTTO-PELLISSIER et al., 2018).

Estudos de Guedes et al. (2010) e de Cargnelutti et al. (2016) mostraram a importância de TNF- $\alpha$  para o controle da infecção por *L. amazonensis*. Ao contrário do observado em outras espécies, como *L. chagasi* e *L. braziliensis* em que esse fator contribui para patogênese, os receptores para o TNF-p55 (TNFRp55) foram

fundamentais para a eliminação do infiltrado inflamatório e na cicatrização das lesões *in vivo* em infecções por *L. amazonensis*. Assim, essa citocina pode ser considerada importante alvo para estabelecer prognóstico e terapêutica na infecção por esse parasita (DE MATOS GUEDES et al., 2010; CARGNELUTTI et al., 2016).

Macrófagos M1 são ativados por IFN- $\gamma$ , produzido principalmente pelas células T *helper* 1 (Th1). M1 produzem NO com o objetivo de controlar o crescimento de *Leishmania*. Porém, foi mostrado que *L. amazonensis* possui resistência ao óxido nítrico (NO) produzido por macrófagos ativados pelo IFN- $\gamma$ , por possuir proteínas com funções orgânicas de tiol e ditiol que podem tamponar o ambiente redox dos vacúolos parasitóforos (REAL et al., 2013).

Carneiro e Peters (2021) propõe que *L. amazonensis* evoluiu para tirar vantagem da resposta Th1 para estabelecer doença crônica e progressiva. Além disso, a resposta imune Th1 é mais fraca durante a infecção por essa espécie em comparação a infecção por outras espécies, como *L. major*. Outro ponto curioso é que mesmo com evidências de que o IFN- $\gamma$  favorece a morte do parasita, durante a infecção por *L. amazonensis*, no entanto, o crescimento exponencial do parasita nos estágios iniciais da doença não é afetado pela ausência dessa citocina. IFN- $\gamma$ , produzido pelas células Th1, modula a imunidade de diferentes maneiras, tais como induzindo mecanismos efetores em células inatas, mas também influenciando o imunometabolismo, recrutamento de leucócitos, apoptose e proliferação celular. E são justamente essas propriedades do IFN- $\gamma$  que podem favorecer o crescimento da *L. amazonensis* nos estágios iniciais. Em um estudo de Carneiro e Peters (2021), quando macrófagos são pré-ativados com baixas doses de IFN- $\gamma$  e, em seguida, infectados com amastigotas de *L. amazonensis in vitro*, ocorreu aumento na replicação do parasita, ao invés de sua morte. Acredita-se ser por conta da influência do IFN- $\gamma$  no metabolismo. Além disso, a influência do IFN- $\gamma$  no recrutamento de monócitos têm grande impacto na infecção por fornecer células hospedeiras para o crescimento do parasita. Assim, torna-se interessante estudar mais detalhadamente a sensibilidade direta de *L. amazonensis* ao IFN- $\gamma$ , bem como de células estimuladas com essa citocina na morte do parasita.



#### 4.4.1.3 Células dendríticas (DCs)

DCs podem ser uma das primeiras células a interagir com *Leishmania spp.* nos tecidos (CRUVINEL et al., 2010; MALE, 2014). São células com projeções citoplasmáticas semelhantes a dendritos com a função de capturar e apresentar antígenos para os linfócitos da imunidade adaptativa, sendo consideradas como pontes entre os dois tipos de imunidade. Derivam de células da medula óssea e residem em todos os tecidos. DCs processam e apresentam antígenos do parasita às células T CD4 + (Th0) que irão proliferar e se diferenciar nos fenótipos efetores (Th1, Th2, Treg, Th17, entre outros) (SILVEIRA; LAINSON; GOMES et al., 2009). Ainda, DCs podem promover a migração de outras células para os linfonodos por meio da liberação de quimiocinas (CRUVINEL et al., 2010; MALE, 2014).

DCs apresentam papel fundamental na imunopatogênese da LTA. DCs são a principal fonte de produção de IL-12 e são fundamentais para o desenvolvimento da resposta Th1 (efetora para parasitas *Leishmania*). Há diferentes subconjuntos de DCs que foram descritos de acordo com sua ontogenia e função, sendo relatadas as DCs convencionais (cDC1 e cDC2) e populações menores de CD11b-DCs, como DCs plasmocitoides (pDCs) e DCs derivadas de monócitos (mon-DCs) (CARNEIRO; PETERS, 2021).

Após a interação com o patógeno e durante o processo migratório, DCs passam por processo de maturação adicional, aumentando a expressão de moléculas coestimuladoras (CD86, CD80, CD40) e MHC II, que são essenciais para a ativação de células T. Esse processo de maturação das DCs apresenta uma oportunidade para os patógenos interferirem e prejudicarem a ativação subsequente de células T. Essa interferência ocorre principalmente nas mon-DCs, as quais permitem a replicação da *L. amazonensis* (CARNEIRO; PETERS, 2021). Com essa interferência, mon-DCs não conseguem migrar para os linfonodos e iniciar a polarização para Th1 pela produção de IL-12, gerando deficiência de resposta Th1 e polarização para Th2 (CARNEIRO; PETERS, 2021). Esse perfil contribui para a sobrevivência e proliferação de *Leishmania spp.* no hospedeiro mamífero.

#### 4.4.1.4 Basófilos

Granulócitos que constituem menos de 1% dos leucócitos no sangue periférico, sendo recrutados em conjunto com eosinófilos em casos de hipersensibilidade imediata/reações alérgicas (CRUVINEL et al., 2010; MALE, 2014). O papel do basófilo na infecção por *Leishmania spp.* ainda não é muito conhecido, e são necessários estudos adicionais que abordem esse tema para melhor compreensão.

#### 4.4.1.5 Eosinófilos

Também em quantidade reduzida no sangue, esses granulócitos estão mais presentes principalmente nas mucosas gastrointestinal, respiratória e genit urinária, sendo responsáveis juntamente com os basófilos e mastócitos pelas reações alérgicas. Ainda, se apresentam como uma das formas mais eficazes e potentes no combate antiparasitário (como na infecção por helmintos) (CRUVINEL et al., 2010; MALE, 2014).

Foi mostrado que há predomínio de eosinófilos e mastócitos na fase inicial da infecção por *Leishmania* (até as primeiras 24 h) tanto na lesão primária quanto nos linfonodos de drenagem (CARDOSO; SOUZA; MENDES et al., 2010). Os eosinófilos persistem durante todo o curso da infecção, mesmo na fase crônica com presença de macrófagos parasitados, o que sugere que a ação associada de eosinófilos e macrófagos participam da resposta ao parasita (CARDOSO; SOUZA; MENDES et al., 2010).

Um estudo clínico e experimental feito por Marques et al. (2021) sobre a interação entre eosinófilos e macrófagos demonstrou que, posicionando os eosinófilos estrategicamente adjacentes aos macrófagos infectados por protozoários da leishmaniose cutânea, os eosinófilos impediram o aumento do número de amastigotas nos macrófagos por mecanismo dependente de uma atividade parácrina mediada pela

prostaglandina derivada de eosinófilos (PG) D2 agindo nos receptores DP2. Além disso, foi demonstrado que a presença de eosinófilos em locais próximos a macrófagos infectados promoveu diminuição significativa na carga parasitária. Essas evidências sugerem a influência de eosinófilos na atividade de macrófagos, auxiliando essas células a controlar o crescimento desses parasitas e diminuindo o número intracelular dos amastigotas (MARQUES; FONSECA-MARTINS; CARNEIRO et al., 2021).

Portanto, embora ainda seja necessário a compreensão com maior profundidade, é evidente que há uma relação entre a presença de eosinófilos e o aumento da resistência à infecção por *Leishmania* e *L. amazonensis* (MARQUES; FONSECA-MARTINS; CARNEIRO et al., 2021).

#### 4.4.1.6 Mastócitos

Normalmente não são encontrados na circulação, restringindo-se à pele e mucosas, distribuídos ao redor dos vasos sanguíneos e nervos. Tem papel essencial nas reações inflamatórias agudas por conta de sua resposta rápida a infecções e estímulos (CRUVINEL et al., 2010; MALE, 2014). Sabe-se que os mastócitos estão amplamente presentes nas lesões da Leishmaniose Cutânea, mas o papel dessas células nessa doença ainda não está claro.

#### 4.4.1.7 Células Natural Killer (NK)

São importantes na resposta inespecífica pela capacidade de reconhecer e lisar células infectadas por microrganismos (vírus, bactérias e protozoários) e células tumorais, além de recrutarem neutrófilos e macrófagos e ativarem células dendríticas e linfócitos. Sua origem na medula óssea advém de um progenitor comum aos linfócitos T da imunidade adaptativa (CRUVINEL et al., 2010; MALE, 2014).

O papel exato dessas células na defesa do hospedeiro frente à infecção por *Leishmania* ainda é uma questão de discussão. Há relatos de que células NK ativadas por IL-2, chamadas de A-NK, podem apresentar alta citotoxicidade e destruir alvos sensíveis na fase inicial da infecção por *L. amazonensis*. A presença de células A-NK pode reduzir o número de parasitas, indicando ação dessas células na fase inicial da infecção, ajudando no controle do parasita (ARANHA et al., 2005). A propriedade citotóxica da A-NK permite a possibilidade de realizar lise de células que são alteradas do estado normal, como por exemplo macrófagos infectados que são degenerados.

A ativação por IL-12 estimula células NK a produzirem IFN- $\gamma$  que ativa macrófagos infectados durante o início da infecção. Ademais, a produção de IFN- $\gamma$  por células NK na fase inicial da infecção pode induzir respostas Th1, favorecendo a resistência contra a leishmaniose cutânea (ARANHA et al., 2005). Além disso, LPG presente na membrana de *Leishmania* ativa células NK humanas por estimulação de TLR2, levando à produção de IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ , as quais sinergizam no macrófago induzindo à produção de NO, que suporta a destruição intracelular de *Leishmania*. Foi visto que células NK de pacientes com LCL expressaram níveis significativamente mais elevados de TLR2, em comparação com células LCD ou controles saudáveis. Consequentemente, a produção de IFN- $\gamma$  pelas células NK foi significativamente reduzida em LCD, em comparação com pacientes LCL (CAÑEDA-GUZMÁN et al., 2014).

#### 4.4.1.8 Sistema complemento

O sistema complemento é componente da imunidade inata e tem como funções remoção de complexos imunes, opsonização de microrganismos, estímulo da inflamação, e o recrutamento de fagócitos, a partir de uma cascata de mediadores que alteram a permeabilidade vascular e possibilitam a chegada das células inflamatórias (CRUVINEL et al., 2010; MALE, 2014). Ainda, o sistema complemento é capaz de promover a lise osmótica de células alvo a partir da formação do complexo de ataque à membrana (MAC), eliminando o agente infeccioso. É composto por glicoproteínas

plasmáticas sintetizadas principalmente pelo fígado, mas também por macrófagos e fibroblastos (CRUVINEL et al., 2010; MALE, 2014).

Com relação à *Leishmania*, devido a presença de algumas moléculas específicas que são expressas na superfície do parasita, como a LPG e a GP63, o sistema complemento não consegue agir de maneira eficaz durante a infecção (AOKI; LARANJEIRA-SILVA; MUXEL; FLOETER-WINTER, 2019). LPG inibe a formação do complexo MAC na superfície de *Leishmania*, enquanto o GP63 inativa o C3b, levando a formação de iC3b, e inibe o MAC (GURUNG; KANNEGANTI, 2015).

Por outro lado, Laurenti, Örn, Sinhorini e Corbett (2004) mostraram em camundongos que a presença de complemento no local de inoculação durante a fase inicial da infecção pode ter papel no controle da disseminação do parasita. Ainda, experimentos *in vitro* mostraram que ativação do complemento na superfície de promastigotas de *L. amazonensis* levou à lise extracelular do parasita. Porém, há muitos estudos controversos e ainda são necessários estudos mais aprofundados para saber o real papel do sistema complemento e como ele atua diante da infecção por *Leishmania*.

#### 4.4.2 Imunidade adquirida

Os mecanismos inatos de imunidade não são suficientes para fornecer proteção à infecção por *Leishmania*, e o desenvolvimento de uma resposta do sistema adaptativo é necessária. Diferente da imunidade inata, a imunidade adquirida, também chamada adaptativa, tem alta especificidade e potencial de reconhecimento, além de produzir a chamada memória imunológica. E, por mais que tenha grande diversidade de reconhecimento, ela é autolimitada para apresentar tolerância aos componentes próprios do indivíduo. Além disso, diferencia-se da inata por sua resposta mais lenta, que depende da ativação dos linfócitos e das moléculas solúveis que eles produzem (MESQUITA JÚNIOR et al., 2010; MALE, 2014).

Linfócitos são células especializadas que se originam na medula óssea a partir das células progenitoras linfoides, responsáveis pela formação dos linfócitos T e B e das células NK. Os dois primeiros e suas respectivas funções no sistema imune serão abordados a seguir:

#### 4.4.2.1 Linfócitos B (LB)

São as células protagonistas da resposta humoral, visto que são responsáveis pela produção e liberação das imunoglobulinas (anticorpos - Ac), que possuem alta especificidade e afinidade com o antígeno (Ag) promotor da inflamação (MESQUITA JÚNIOR et al., 2010; MALE, 2014).

Os anticorpos são moléculas que atuam na defesa do organismo e são produzidos pelos plasmócitos, células formadas a partir da diferenciação dos linfócitos B (MESQUITA JÚNIOR et al., 2010; MALE, 2014). Anticorpos apresentam diferentes formas de agir contra um antígeno, como a neutralização e a opsonização (MESQUITA JÚNIOR et al., 2010; MALE, 2014).

OS LB são responsáveis pela memória imunológica, visto que, após uma segunda exposição ao patógeno (chamada resposta secundária), já existe um *pool* de LB com capacidade de reconhecimento específico aos antígenos que foram gerados na resposta primária, promovendo resposta mais rápida e eficaz contra esse Ag (MESQUITA JÚNIOR et al., 2010; MALE, 2014).

Ainda, essa célula também tem a função de apresentadora de antígeno (APC), expressando em sua membrana os peptídeos do Ag complexadas a moléculas do complexo histocompatibilidade principal (MESQUITA JÚNIOR et al., 2010; MALE, 2014). A produção de LB tem início no desenvolvimento fetal, no saco vitelínico. Depois são produzidos pelo fígado e, ao nascer, pela medula óssea (MESQUITA JÚNIOR et al., 2010; MALE, 2014). As células progenitoras linfoides que darão origem aos LB se mantêm na medula até a maturação, quando migram pela circulação até os órgãos linfoides secundários (MESQUITA JÚNIOR et al., 2010; MALE, 2014), onde são ativadas pelo reconhecimento dos antígenos.

As imunoglobulinas (Ig) produzidas pelos LB, são classificadas em cinco classes de acordo com as cadeias que as formam, sendo elas: (MESQUITA JÚNIOR et al., 2010; MALE, 2014).

- IgA: Ig que previne a colonização de mucosas por patógenos, presente principalmente nas mucosas do trato gastrointestinal, respiratório e urogenital, mas também na saliva, lágrima e leite;
- IgD: Ig com menor proporção no corpo, sendo expressa na membrana de linfócitos B virgens e auxiliando na ativação dessas células;
- IgE: Ig envolvida em processos alérgicos e parasitários, interage com receptores de basófilos e mastócitos para liberação de mediadores alérgicos, como a histamina;
- IgG: Compõe 80% das Igs, sendo a principal representante da imunidade adquirida. É produzida em maior quantidade na resposta secundária ao patógeno, sendo diretamente associada à memória imunológica. Ainda, tem por característica a capacidade de atravessar a barreira placentária; e
- IgM: Produzida principalmente na primeira exposição ao patógeno e secretada precocemente na resposta imune adquirida. Está presente junto com a IgD na membrana de linfócitos B virgens.

Foi mostrado que a opsonização de *Leishmania* por anticorpos desempenha papel importante na ativação de DCs, as quais aumentam a expressão de MHC II e acelera sua distribuição na superfície celular, impactando a apresentação do antígeno. A opsonização por anticorpos de promastigotas metacíclicos ou amastigotas está associada a maior expressão de CD40, CD86, CD54 e OX40L. Promastigotas metacíclicos não opsonizados inibiram a expressão de moléculas como MHC II, CD40, CD86 e IL-12, indicando que anticorpos têm grande impacto na infecção. Ao inibir a expressão de CD40 em DCs, *L. amazonensis* pode prejudicar o desenvolvimento de uma resposta imune adaptativa protetora, já que a expressão de CD40 é relevante para a produção de IL-12 e subsequente iniciação de Th1.

#### 4.4.2.1.1 Linfócitos B-1

Células B-1 são uma subpopulação de células B e participam da imunidade como principais produtoras de anticorpos naturais e da secreção de grandes quantidades de IL-10, IgM e IgA na presença de infecções e inflamação (NOVAES E BRITO et al., 2019). Células B-1 são também capazes de se diferenciar em células mononucleares com propriedades fagocíticas. Essas células usam vários receptores

para a fagocitose, como o receptor de manose e o terceiro receptor do complemento. Foi demonstrado que células fagocíticas derivadas de células B-1 foram capazes de internalizar promastigotas de *L. amazonensis* *in vitro* e *in vivo*, e que expressaram citocinas pró e anti-inflamatórias, como TNF- $\alpha$  e IL-10 respectivamente, após estimulação do parasita (GERALDO et al., 2016).

Assim como outras células imunológicas, células B-1 podem liberar espontaneamente vesículas extracelulares (VEs), que podem atuar na comunicação entre células, e podem ativar e modular outras células imunológicas. Porém, foi mostrado que células B-1 infectadas com *L. amazonensis* sofreram aumento na produção dessas vesículas, decorrente da estimulação do parasita (TOLEDO et al., 2020). Apesar da composição das VEs não ser totalmente descrita, VEs de células B-1 possuem moléculas MHC II, e após o contato com o parasita ocorre diminuição da expressão dessas moléculas nas VEs (TOLEDO et al., 2020) Sabe-se que o parasita pode internalizar e muito provavelmente degradar as moléculas MHC II do hospedeiro. Sem o MHC II, o parasita pode se desenvolver mais facilmente, por dificultar a apresentação do antígeno para LT (TOLEDO et al., 2020).

As VEs podem possuir diferentes composições que podem influenciar a resposta de outras células do sistema imunológico. A interação de macrófagos com VEs provenientes de células B-1 infectadas levou à expressão diferencial de iNOS, IL-6, IL-10 e TNF- $\alpha$  por parte dos macrófagos em comparação com células estimuladas com EVs de células B-1 não infectadas. Além disso, a carga parasitária e o tamanho da lesão foram reduzidas em camundongos infectados por *L. amazonensis*, quando em presença de VEs provenientes de células B-1. Isso sugere o papel contribuidor das VEs liberadas por B-1 na imunidade contra a leishmaniose (TOLEDO et al., 2020).

Poucos trabalhos foram realizados para avaliar o papel de células B (convencionais ou B-1) na patogênese da leishmaniose tegumentar. Alguns estudos ainda são controversos, ora suportando a ideia de papel protetor, ora apontando papel na sobrevivência e crescimento dos parasitas. Estudos para compreender melhor o papel dessas células na imunidade para *L. amazonensis* e *Leishmania* pode contribuir para melhorar os tratamentos disponíveis e usar a imunomodulação como estratégia terapêutica em pacientes imunocomprometidos. Além disso, o entendimento do papel de anticorpos específicos pode auxiliar no desenvolvimento de vacinas eficazes para a leishmaniose.



#### 4.4.2.2 Linfócitos T (LT)

Os linfócitos T têm como atribuição auxiliar no recrutamento e ativação de outros subtipos celulares, pela produção de citocinas e outras substâncias solúveis, e também da destruição da célula alvo em alguns casos específicos, como na infecção por vírus e parasitas intracelulares. Essas células só reconhecem as proteínas de Ag que foram processadas e apresentadas por outras células, como os macrófagos, células dendríticas e LB, via complexo de histocompatibilidade principal (MHC - conjunto de genes presentes nessas que codificam a produção de proteínas identificáveis pelos LT). Quanto a sua origem, células progenitoras linfoides presentes na medula óssea iniciam o processo de diferenciação, depois saem da medula óssea e migram para o timo, onde serão selecionadas e maturadas, voltando então para a circulação sanguínea. Os LT apresentam-se em dois subtipos:

- Linfócitos T CD4+: são os LT responsáveis pelo recrutamento para o local da infecção e ativação de macrófagos e outras células para destruírem os patógenos presentes. Os seus efetores são também chamados de LT Auxiliadores ou LT *Helper*, que podem ser em diferentes fenótipos de acordo com as citocinas que produzem. Os principais e melhor estudados grupos de células T efetoras são do tipo 1 (Th1) produtores de IL-2, interferon gama (IFN- $\gamma$ ) e fator de necrose tumoral alfa (TNF $\alpha$ ), enquanto os do tipo 2 (Th2) produzem IL-5, IL-10 e IL-4. Outros subgrupos de linfócitos T incluem Th17, T reguladores e Th9.
- Linfócitos T CD8+: são os LT que promovem diretamente a morte celular de células infectadas por vírus e/ou parasitas intracelulares, sem a necessidade do intermédio de outras células como os macrófagos. Seus efetores também são conhecidos como LT citotóxicos.

A resposta por células T é essencial na imunidade para a infecção por *Leishmania*. Acredita-se que a resolução mais rápida das lesões seja aquela mediada pela produção das citocinas interferon gama (IFN- $\gamma$ ) por Th1 (TORRES-GUERRERO et al., 2017). No caso da estimulação do tipo Th1, as principais citocinas produzidas (IL-2, IL-12, INF-c e TNF-a) promovem a ativação do macrófago e,

consequentemente, a eliminação do parasita. Porém, no caso da estimulação do tipo Th2, as principais citocinas produzidas (IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13) irão inibir a ativação de macrófagos e, então, contribuir para a sobrevivência do parasita (SILVEIRA; LAINSON et al., 2009).

Por outro lado, foi mostrado que a expressão de IFN- $\gamma$  foi maior na forma mais grave da doença, a leishmaniose cutânea difusa (LCD), em comparação com a LCL, mostrando que essa citocina desempenha papel significativo na evasão do parasita (CARNEIRO; PETERS, 2021). Enquanto na LCM há produção de IgG específico, na LCL não há ativação da resposta humoral, mas existe proeminente resposta imune tipo Th1, assim como na LD, onde também há tendência de resposta imune Th1 sobre Th2. Já na LCD, ocasionalmente ocorre aumento de IgA, mas geralmente não há ativação da imunidade de forma eficiente, chamado de anergia, como relatado anteriormente (TORRES-GUERRERO et al., 2017; SILVEIRA; LAINSON; GOMES et al., 2009). Essas observações controversas têm sido alvo de inúmeros estudos que procuram relacionar a resposta imunológica, a espécie e cepa do parasita, e mais atualmente o microbioma da pele (MISRA; SINGH, 2019).

A imunopatogênese da LTA também é fortemente influenciada pela espécie de *Leishmania*. Foi mostrado que o processo de interação entre *L. amazonensis* com os mecanismos imunológicos das células T, desenvolve um espectro clínico e imunopatológico de LCD, com a tendência da resposta imune predominantemente Th2. Portanto, na LCD, as lesões cutâneas nodulares disseminadas por todo o corpo estão ligadas a uma alta produção de IL-4, dificultando o controle da infecção pelas células T, e uma resposta fraca ao tratamento tradicional com antimoniais (SILVEIRA; LAINSON; GOMES et al., 2009). Na LCD desenvolvida pela infecção por *L. amazonensis*, há pouca quantidade de células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> presentes na infiltração celular, bem como escassa expressão de IFN- $\gamma$ . Em contraste, há maior expressão de IL-4, indicando que na LCD há uma evidente resposta imune do tipo Th2, o que pode justificar o ressurgimento com maior intensidade da doença após a terapia convencional (SILVEIRA; LAINSON; GOMES et al., 2009).

Pacientes imunodeprimidos, como aqueles infectados pelo HIV ou até mulheres grávidas, têm menos sucesso ao tratamento das infecções devido à falta de resposta mesmo em infecções com baixa carga parasitária. Além disso, representam população com taxa próxima de 90% de reincidência, seja pela reativação da infecção

que estava apenas em estágio subclínico, ou seja por uma forma latente previamente adquirida (TORRES-GUERRERO et al., 2017; BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018).

Tem-se descrito que espécies diferentes de *Leishmania* promovem mecanismos distintos de resposta imune em modelos animais (CARGNELUTTI et al., 2016). Na infecção por *L. major* a resposta mediada principalmente por Th1, com predomínio da produção de IFN- $\gamma$ , previne recidivas e cronificação da doença. No entanto, a maioria das espécies têm a resposta associada à Th2 (não protetora), com produção de IL-4, IL-5, IL-10 e fator transformador de crescimento beta (TGF- $\beta$ ) ou resposta mista Th1 e Th2 (TORRES-GUERRERO et al., 2017).

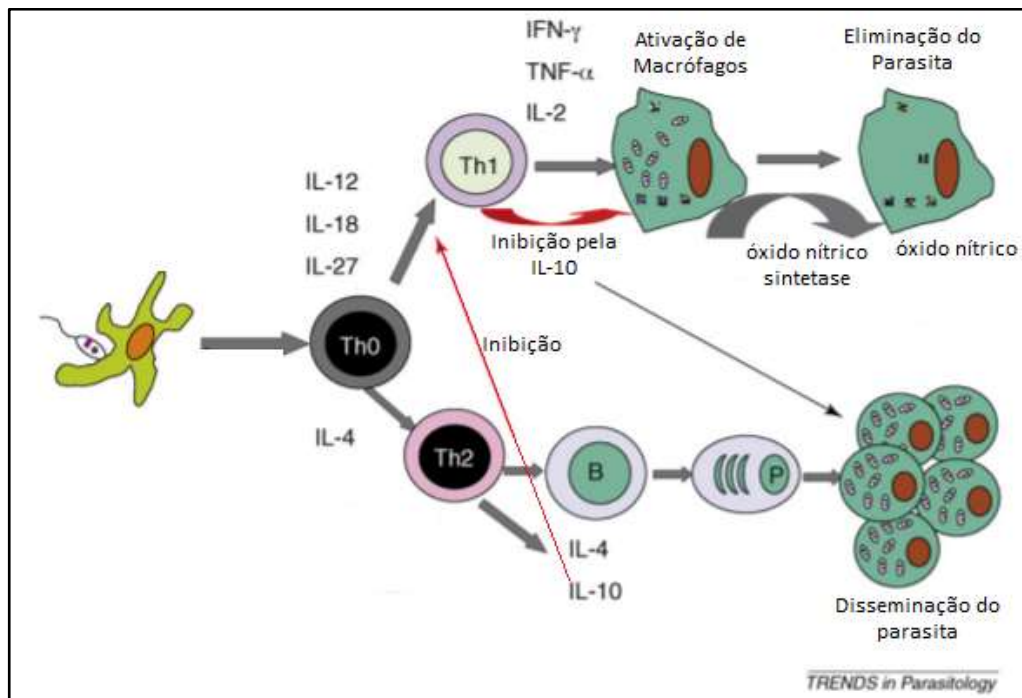
Para *L. amazonensis*, ocorre uma resposta muito distinta das demais espécies, por isso deve ser avaliada isoladamente (MARTINEZ; PETERSEN, 2014). Por exemplo, linhagens de camundongos que são resistentes a algumas espécies *Leishmania* apresentam-se suscetíveis à *L. amazonensis*. Isso porque, mesmo com um possível aumento na produção de IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-10, TGF- $\beta$  e TNF- $\alpha$  na fase aguda da infecção, a cronificação da infecção por *L. amazonensis* tem como característica a resposta mediada por Th2, mas com defasagem significativa na produção de citocinas, o que resulta no quadro de LCD (TORRES-GUERRERO et al., 2017; CARGNELUTTI et al., 2016; FIRMINO-CRUZ et al., 2018). Além disso, o estudo de Firmino-Cruz et al. (2018) mostrou relação diretamente dependente entre níveis de IL-10 e de células regulatórias com o grau de resistência de camundongos à *L. amazonensis*.

IFN- $\gamma$  também parece ser insuficiente na resposta a essa espécie, diferentemente da maioria das outras, visto que, na resposta tardia, camundongos com concentração elevada de IFN- $\gamma$  apresentaram a mesma resposta que aqueles com deficiência na sua produção (DE MATOS GUEDES et al., 2010). Outro ponto demonstrado nos estudos é que *L. amazonensis* é capaz de ativar a MAP quinase (enzima específica de serinas e treoninas que regulam a expressão gênica celular e controlam a mitose e apoptose dessas células), especificamente as ERK1 e 2, promovendo maior sobrevivência da célula hospedeira e, conseqüentemente, aumentando sua sobrevivência (MARTINEZ; PETERSEN, 2014).

Abaixo, na Figura 6, encontra-se um resumo da resposta imunológica e da modulação Th1-Th2. Como visto, as células dendríticas fagocitam o parasita e migram para os linfonodos para ativar as células T. Com a diferenciação Th2, há produção de IL-10 que inibe a ativação dos macrófagos, impedindo uma resposta Th1 protetora e

polarizando para Th2, que favorece a disseminação do parasita. Além disso, no fenótipo Th1 com produção de IFN- $\gamma$ , alguns trabalhos sugerem que essa citocina é insuficiente para a resposta contra *L. amazonensis*, e que essa espécie é resistente à produção de NO, que favorece a eliminação do parasita, portanto não sendo totalmente eficaz.

Figura 6 - Modulação da resposta imunológica



Fonte: Adaptado: Baneth, 2013.

Como discutido, *L. amazonensis* demonstra alta capacidade de escapar dos mecanismos de resposta imune das células T e então direcionar a infecção para a LCD (SILVEIRA; LAINSON; GOMES; LAURENTI; CORBETT, 2009). Essa espécie apresenta mecanismos distintos de escape e de ativação da resposta imunológica, tornando interessante a realização de estudos aprofundados. Todas essas características expõem a necessidade de se estudar exclusivamente as peculiaridades dessa espécie com o objetivo de propor intervenções que sejam realmente eficientes, para prever aqueles pacientes que podem apresentar infecção de difícil controle, para prevenir futuras sequelas relacionadas a infecções, principalmente levando-se em consideração que ainda não há vacina aprovada para prevenir a doença justamente pela variedade fisiopatológica que parasitas *Leishmania*

apresentam (GERMANÓ et al., 2020; BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018; GUEDES et al., 2010).

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os artigos analisados descrevem a existência de fatores que influenciam na virulência da infecção por *Leishmania*, sendo eles: características do próprio protozoário, a imunocompetência do indivíduo e condições do repasto sanguíneo dos flebotomíneos (como saliva e quantidade de parasitas presentes). Nas características do protozoário podemos citar atributos de *Leishmania spp.* no geral, como moléculas específicas de membrana que permitem sua internalização e sobrevivência dentro dos macrófagos. Também foram apresentados o tipo de resposta imune que irão provocar, que acabam por favorecer a expansão da doença.

Todavia, ao se tratar de *L. amazonensis* é necessária maior atenção, visto que essa espécie apresenta peculiaridades na resposta imunológica, muitas vezes diferente ao que ocorre nas outras espécies. Cita-se resposta deficiente da imunidade adaptativa (anergia), preferencialmente por linfócitos T auxiliares, com baixa produção de citocinas na evolução da doença, que possibilita maior cronificação, em conjunto com a ativação de cinases que facilitam sua permanência dentro das células hospedeiras. Ainda, na resposta para *L. amazonensis* há a presença, ativação e liberação de alguns mediadores imunológicos que podem não ser efetivos para o controle do parasita como: linfócitos B, anticorpos e IL-10; aparente não-interação do IFN- $\gamma$  no controle da doença, diferentemente de outras espécies; e a importância de TNF- $\alpha$  para a eliminação dos parasitas e cicatrização das feridas, que levantaria um importante alvo para estabelecer prognóstico e terapêutica.

Dessa forma, evidencia-se a necessidade de se estudar os mecanismos específicos da resposta frente à infecção por *L. amazonensis*, visto que a base imunológica desses achados não é completamente compreendida e se diferem em muitos aspectos dos dados encontrados em outras espécies de *Leishmania*.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, Olga Laura Sena; SANTOS, Jussamara Brito. Avanços no tratamento da leishmaniose tegumentar do novo mundo nos últimos dez anos: uma revisão sistemática da literatura. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 3, p. 497–506, jun. 2011. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0365-05962011000300012&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962011000300012&lng=pt&tlng=pt). Acesso em: 28 dez. 2021.
- AOKI, Juliana Ide; HONG, Ahyun; ZAMPIERI, Ricardo Andrade; FLOETER-WINTER, Lucile Maria; LARANJEIRA-SILVA, Maria Fernanda. In: Vivo Infection with *Leishmania amazonensis* to Evaluate Parasite Virulence in Mice. **Journal Of Visualized Experiments**, [s.l.], n. 156, p. 1-9, 20 fev. 2020. MyJove Corporation. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3791/60617>. Acesso em: 21 dez. 2021.
- AOKI, Juliana Ide; LARANJEIRA-SILVA, Maria Fernanda; MUXEL, Sandra Marcia; FLOETER-WINTER, Lucile Maria. The impact of arginase activity on virulence factors of *Leishmania amazonensis*. **Current Opinion In Microbiology**, [s.l.], v. 52, p. 110-115, dez. 2019. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2019.06.003>. Acesso em: 17 dez. 2021.
- ARANHA, F. C.; RIBEIRO, U.; Jr, BASSE, P.; CORBETT, C. E.; LAURENTI, M. D. Interleukin-2-activated natural killer cells may have a direct role in the control of *Leishmania (Leishmania) amazonensis* promastigote and macrophage infection. **Scandinavian journal of immunology**, 62(4), 334–341, out, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2005.01681.x>. Acesso em: 17 jan. 2021.
- BANETH, G.; KOUTINAS, A. F.; SONALO-GALLEGO, L.; BOURDEAU, P.; FERRER, L. **Canine leishmaniosis - new concepts and insights on an expanding zoonosis**: part one. *Trends in parasitology*, 24(7), 324–330, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pt.2008.04.001>. Acesso em: 17 dez. 2021.
- BURZA, Sakib; CROFT, Simon L; BOELAERT, Marleen. Leishmaniasis. **The Lancet**, v. 392, n. 10151, p. 951–970, set. 2018.
- CAÑEDA-GUZMÁN, I. C.; SALAIZA-SUAZO, N.; FERNÁNDEZ-FIGUEROA, E. A.; CARRADA-FIGUEROA, G.; AGUIRRE-GARCÍA, M.; BECKER, I. NK cell activity differs between patients with localized and diffuse cutaneous leishmaniasis infected with *Leishmania mexicana*: a comparative study of TLRs and cytokines. **PloS one**, 9(11), e112410, nov. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112410>. Acesso 15 dez. 2021.
- CANTACESSI, Cinzia; DANTAS-TORRES, Filipe; NOLAN, Matthew J.; OTRANTO, Domenico. The past, present, and future of *Leishmania* genomics and transcriptomics. **Trends In Parasitology**, [S.L.], v. 31, n. 3, p. 100-108, mar. 2015. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2014.12.012>. Acesso em: 15 dez. 2021.

CARDOSO, Flávia de Oliveira; SOUZA, Celeste Da Silva Freitas de; MENDES, Verônica Gonçalves; ABREU-SILVA, Ana Lúcia; COSTA, Sylvio Celso Gonçalves da; CALABRESE, Kátia Da Silva. Immunopathological Studies of *Leishmania amazonensis* Infection in Resistant and in Susceptible Mice. **The Journal Of Infectious Diseases**, [S.L.], v. 201, n. 12, p. 1933-1940, 15 jun. 2010. Oxford University Press (OUP). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1086/652870>. Acesso em: 14 dez. 2021.

CARGNELUTTI, Diego Esteban et al. Impact of Tumor Necrosis Factor Receptor P55 Deficiency in Susceptibility of C57BL/6 Mice to Infection with *Leishmania (Leishmania) Amazonensis*. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 49, n. 2, p. 271–275, abr. 2016. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1684118214000668>. Acesso em: 19 dez. 2021.

CARNEIRO, Matheus B.; PETERS, Nathan C. The Paradox of a Phagosomal Lifestyle: how innate host cell-*leishmania amazonensis* interactions lead to a progressive chronic disease. **Frontiers In Immunology**, [S.L.], v. 12, p. 1-22, 7 set. 2021. Frontiers Media SA. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2021.728848>. Acesso em: 21 dez. 2021.

CHÁVEZ-GALÁN, L., Olleros, M. L., Vesin, D., & Garcia, I. (2015). Much More than M1 and M2 Macrophages, There are also CD169(+) and TCR (+) Macrophages. *Frontiers in immunology*, 6, 263, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00263>. Acesso em: 22 dez. 2021.

CRUVINEL, Wilson de Melo et al. Sistema Imunitário: Parte I. Fundamentos Da Imunidade Inata Com Ênfase Nos Mecanismos Moleculares e Celulares Da Resposta Inflamatória. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 50, n. 4, p. 434–447, ago. 2010. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0482-50042010000400008&lng=pt&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0482-50042010000400008&lng=pt&nrm=iso&tlng=en). Acesso em: 07 jan. 2022.

GUEDES, Herbert Leonel de Matos et al. Serine Proteases of *Leishmania Amazonensis* as Immunomodulatory and Disease-Aggravating Components of the Crude LaAg Vaccine. **Vaccine**, v. 28, n. 33, p. 5491–5496, jul. 2010. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0264410X10006602>. Acesso em: 03 jan. 2022.

Evaluation of Experimental Infection with *L. (L.) Amazonensis* in X-Linked Immunodeficient Mice. **Journal of Parasitology**, v. 103, n. 6, p. 708, 1 dez. 2017. Disponível em: <https://bioone.org/journals/journal-of-parasitology/volume-103/issue-6/16-145/Evaluation-of-Experimental-Infection-with-L-L-Amazonensis-in-X/10.1645/16-145.full>. Acesso em: 07 jan. 2022.

FIRMINO-CRUZ, Luan et al. Immunomodulating Role of IL-10-Producing B Cells in *Leishmania Amazonensis* Infection. **Cellular Immunology**, v. 334, p. 20–30, dez. 2018. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0008874918302612>. Acesso em: 10 jan. 2022.



FORTÉA, José Osorio y; PRINA, Eric; LALLAVE, Emilie de; LECOEUR, Hervé; LANG, Thierry; MILON, Geneviève. Unveiling pathways used by *Leishmania amazonensis* amastigotes to subvert macrophage function. **Immunological Reviews**, [S.L.], v. 219, n. 1, p. 66-74, out. 2007. Wiley. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-065x.2007.00559.x>. Acesso em: 14 jan. 2022.

FREITAS, Vanessa Cabreira. **O processo de interação de Leishmania (Leishmania) chagasi com Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis e a importância do lipofosfoglicano (LPG)**. 2010. 210 f. Tese (Doutorado em Ciências na área de concentração Doenças Infecciosas e Parasitárias) - Centro de Pesquisas René Rachou. Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, 2010.

Frezard, F. J. G. A caminho da cura da leishmaniose visceral canina. **Canal Ciência** [online], 2015. Disponível em: <https://canalciencia.ibict.br/ciencia-em-sintese1/ciencias-exatas-e-da-terra/241-a-caminho-da-cura-da-leishmaniose-visceral-canina>. Acesso em: 07 jan. 2022.

GALLO, Paul; GONÇALVES, Ricardo; MOSSER, David M. The Influence of IgG Density and Macrophage Fc (Gamma) Receptor Cross-Linking on Phagocytosis and IL-10 Production. **Immunology Letters**, v. 133, n. 2, p. 70–77, out. 2010. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165247810001914>. Acesso em: 07 jan. 2022.

GERALDO, M. M.; COSTA, C. R.; BARBOSA, F. M.; VIVANCO, B. C.; GONZAGA, W. F.; NOVAES E BRITO, R. R.; POPI, A. F.; LOPES, J. D.; XANDER, P. In vivo and in vitro phagocytosis of *Leishmania (Leishmania) amazonensis* promastigotes by B-1 cells. **Parasite immunology**, 38(6), 365–376, abr. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/pim.12324>. Acesso em: 14 jan. 2022.

GERMANÓ, María José et al. Evaluation of different total *Leishmania amazonensis* antigens for the development of a first-generation vaccine formulated with a Toll-like receptor-3 agonist to prevent cutaneous leishmaniasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 115, p. e200067, 2020. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0074-02762020000100328&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762020000100328&lng=en). Acesso em: 14 jan. 2022.

GIBSON-CORLEY, Katherine N. et al. A Deficiency in the B Cell Response of C57BL/6 Mice Correlates with Loss of Macrophage-Mediated Killing of *Leishmania Amazonensis*. **International Journal for Parasitology**, v. 40, n. 2, p. 157–161, fev. 2010. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0020751909004299>. Acesso em: 12 jan. 2022.

GUIMARÃES-COSTA, A. B.; Nascimento, M. T.; Froment, G. S.; SOARES, R. P.; MORGADO, F. N.; Conceição-Silva, F.; SARAIVA, E. M. *Leishmania amazonensis* promastigotes induce and are killed by neutrophil extracellular traps. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 106(16), 6748–6753, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.0900226106>. Acesso em: 05 jan. 2022.

GURUNG, P.; KANNEGANTI, T. D. Innate immunity against Leishmania infections. **Cellular microbiology**, 17(9), 1286–1294, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/cmi.12484>. Acesso em: 03 jan. 2022.

ISNARD, A.; SHIO, M. T.; Olivier, M. Impact of Leishmania metalloprotease GP63 on macrophage signaling. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, 2 – 72, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00072>. Acesso em: 07 jan. 2022.

An In Vitro Model of Antibody-Enhanced Killing of the Intracellular Parasite Leishmania Amazonensis. **PLoS ONE**, v. 9, n. 9, p. e106426, 5 set. 2014. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0106426>. Acesso em: 12 jan. 2022.

KILLICK-KENDRICK, R. The biology and control of Phlebotomine sand flies. **Clinics In Dermatology**, [s.l.], v. 17, n. 3, p. 279-289, 6 maio 1999. Elsevier BV. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/s0738-081x\(99\)00046-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0738-081x(99)00046-2). Acesso em: 12 jan. 2022.

LAINSON, Ralph. The Neotropical Leishmania species: a brief historical review of their discovery, ecology and taxonomy. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, Belém, v. 1, n. 2, p. 13-32, mar. 2010. Instituto Evandro Chagas. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5123/s2176-62232010000200002>. Acesso em: 09 jan. 2022.

LAURENTI, M.D.; ÖRN, A.; SINHORINI, I.L.; CORBETT, C.e.P. The role of complement in the early phase of Leishmania (Leishmania) amazonensis infection in BALB/c mice. **Brazilian Journal Of Medical And Biological Research**, [s.l.], v. 37, n. 3, p. 427-434, mar. 2004. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-879x2004000300021>. Acesso em: 09 jan. 2022.

MAGALHÃES, Sandra Célia Muniz; RAMOS DE MOURA, Káthia Viviane. A expansão da Leishmaniose Tegumentar Americana no município de Montes Claros - Minas Gerais. **Hygeia - Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, v. 11, n. 21, p. 80 - 92, 28 dez. 2015.

MALE, David. **Imunologia**. [s.n.], 2014. Disponível em: <http://public.ebookcentral.proquest.com/choice/publicfullrecord.aspx?p=1939388>. Acesso em: 10 dez. 2021.

**Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar** [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Brasília: Ministério da Saúde, 2017.

**Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. 2. ed. atual. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2010.

MARQUES, Patrícia da Silva; FONSECA-MARTINS, Alessandra M. da; CARNEIRO, Monique Pacheco Duarte; AMORIM, Natália R.T.; PÃO, Camila R. Rodrigues de; CANETTI, Claudio; DIAZ, Bruno L.; GUEDES, Herbert L. de Matos; BANDEIRA-MELO, Christianne. Eosinophils increase macrophage ability to control intracellular Leishmania amazonensis infection via PGD2 paracrine activity in vitro. **Cellular**

**Immunology**, [S.L.], v. 363, p. 104316, maio 2021. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cellimm.2021.104316>. Acesso em: 12 dez. 2021.

MARTINEZ, Pedro A.; PETERSEN, Christine A. Chronic Infection by *Leishmania Amazonensis* Mediated through MAPK ERK Mechanisms. **Immunologic Research**, v. 59, n. 1–3, p. 153–165, ago. 2014. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s12026-014-8535-y>. Acesso em: 14 dez. 2021.

MESQUITA JÚNIOR, Danilo et al. Sistema Imunitário - Parte II: Fundamentos Da Resposta Imunológica Mediada Por Linfócitos T e B. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 50, n. 5, p. 552–580, out. 2010. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0482-50042010000500008&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0482-50042010000500008&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt). Acesso em: 10 dez. 2021.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Leishmaniose Tegumentar (LT)**. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/l/leishmaniose-tegumentar-lt>. Acesso em: 10 jan. 2022.

MINISTÉRIO DA SAÚDE: DATASUS. Leishmaniose Tegumentar Americana - Casos confirmados notificados no sistema de informação de agravos de notificação - Brasil. **DATASUS**. int. 2020a. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/ltabr.def>. Acesso em: 14 dez. 2021.

MISRA, P., & SINGH, S. Site specific microbiome of *Leishmania* parasite and its cross-talk with immune milieu. **Immunology letters**, 216, 79–88, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2019.10.004>. Acesso em: 14 dez. 2021.

Leishmaniose Visceral - Casos confirmados notificados no sistema de informação de agravos de notificação - Brasil. **DATASUS**.int. 2020b. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/leishvbr.def>. Acesso em: 09 dez. 2021.

MUXEL, Sandra Marcia et al. *Leishmania (Leishmania) Amazonensis* Induces Macrophage MiR-294 and MiR-721 Expression and Modulates Infection by Targeting NOS2 and L-Arginine Metabolism. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 44141, abr. 2017.

NEVES, David Pereira. et al. *Parasitologia Humana*. 11ª edição. São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

NEVES, Leandro Ourives et al. Estudo clínico randomizado comparando antimoniatado de meglumina, pentamidina e anfotericina B para o tratamento da leishmaniose cutânea ocasionada por *Leishmania guyanensis*. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 86, n. 6, p. 1092–1101, dez. 2011. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0365-05962011000600005&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962011000600005&lng=pt&tlng=pt). Acesso em: 14 dez. 2021.

NOGUEIRA, P. M.; ASSIS, R. R.; TORRECILHAS, A. C.; SARAIVA, E. M.; PESSOA, N. L.; CAMPOS, M. A.; MARIALVA, E. F.; RÍOS-VELASQUEZ, C. M., PESSOA; F.

A., SECUNDINO, N. F., RUGANI, J. N., NIEVES, E., TURCO, S. J., MELO, M. N., & SOARES, R. P. Lipophosphoglycans from *Leishmania amazonensis* Strains Display Immunomodulatory Properties via TLR4 and Do Not Affect Sand Fly Infection. *PLoS neglected tropical diseases*, 10(8), e0004848, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004848>. Acesso em: 14 dez. 2021.

NOVAES E BRITO, R. R.; TOLEDO, M. S., Labussiere, G. M., Dupin, T. V., de Campos Reis, N. F., Perez, E. C., & Xander, P. B-1 cell response in immunity against parasites. *Parasitology research*, 118(5), 1343–1352, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06211-2>. Acesso em: 14 dez. 2021.

PEREIRA, Bernardo Acácio Santini. **Leishmania (Leishmania) amazonensis**: Participação de fatores do hospedeiro e do parasito no curso da infecção experimental em camundongos. Tese (Doutorado em Biologia Parasitária) - Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro. 2010.

PIETRZAKI CERUTTI, Pedro Henrique et al. Métodos diagnósticos da leishmaniose tegumentar americana: uma revisão de literatura. **Revista de Patologia do Tocantins**, v. 4, n. 4, p. 55, 28 nov. 2017.

REAL, F.; FLORENTINO, P. T.; REIS, L. C.; RAMOS SANCHEZ, E. M.; VERAS, P. S.; GOTO, H.; MORTARA, R. A. Cell-to-cell transfer of *Leishmania amazonensis* amastigotes is mediated by immunomodulatory LAMP-rich parasitophorous extrusions. **Cellular microbiology**, 16(10), 1549–1564, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/cmi.12311>. Acesso em: 10 dez. 2021.

REAL, F.; VIDAL, R. O.; CARAZZOLLE, M. F.; MONDEGO, J. M. C.; COSTA, G. G. L.; HERAI, R. H.; WURTELE, M.; CARVALHO, L. M. de; FERREIRA, R. C. e; MORTARA, R. A. The Genome Sequence of *Leishmania (Leishmania) amazonensis*: functional annotation and extended analysis of gene models. **Dna Research**, [S.L.], v. 20, n. 6, p. 567-581, 15 jul. 2013. Oxford University Press (OUP). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/dnares/dst031>. Acesso em: 14 dez. 2021.

SAUTER, I. P.; MADRID, K. G.; ASSIS, J. B.; SÁ-NUNES, A.; TORRECILHAS, A. C.; STAQUICINI, D. I.; PASQUALINI, R.; ARAP, W.; CORTEZ, M. TLR9/MyD88/TRIF signaling activates host immune inhibitory CD200 in *Leishmania* infection. **JCI insight**, 4(10), e126207, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1172/jci.insight.126207>. Acesso em: 17 dez. 2021.

SCOTT, Phillip; NOVAIS, Fernanda O. Cutaneous Leishmaniasis: Immune Responses in Protection and Pathogenesis. **Nature Reviews Immunology**, v. 16, n. 9, p. 581–592, set. 2016. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/nri.2016.72>. Acesso em: 14 dez. 2021.

SILVEIRA, Fernando T; LAINSON, Ralph; CORBETT, Carlos EP. Clinical and immunopathological spectrum of American cutaneous leishmaniasis with special reference to the disease in Amazonian Brazil: a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 3, p. 239–251, maio 2004. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0074-02762004000300001&lng=en&tng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762004000300001&lng=en&tng=en). Acesso em: 10 dez. 2021.

SILVEIRA, F. T.; LAINSON, R.; GOMES, C. M. de Castro; LAURENTI, M. D.; CORBETT, C. E. P. Immunopathogenic competences of *Leishmania* (V.) *braziliensis* and *L.* (L.) *amazonensis* in American cutaneous leishmaniasis. **Parasite Immunology**, [S.L.], v. 31, n. 8, p. 423-431, ago. 2009. Wiley. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3024.2009.01116.x>. Acesso em: 10 dez. 2021.

SOONG, Lynn; HENARD, Calvin A.; MELBY, Peter C. Immunopathogenesis of Non-Healing American Cutaneous Leishmaniasis and Progressive Visceral Leishmaniasis. **Seminars in Immunopathology**, v. 34, n. 6, p. 735–751, nov. 2012. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00281-012-0350-8>. Acesso em: 17 dez. 2021.

STEVERDING, Dietmar. The History of Leishmaniasis. **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 1, p. 82, dez. 2017. Disponível em: <http://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-017-2028-5>. Acesso em: 10 dez. 2021.

TAVARES, N. M.; ARAÚJO-SANTOS, T.; AFONSO, L.; NOGUEIRA, P. M.; LOPES, U. G.; SOARES, R. P.; BOZZA, P. T.; BANDEIRA-MELO, C.; BORGES, V. M.; BRODSKY, C. Understanding the mechanisms controlling *Leishmania amazonensis* infection in vitro: the role of LTB4 derived from human neutrophils. **The Journal of infectious diseases**, 210(4), 656–666, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiu158>. Acesso em: 14 dez. 2021.

TOLEDO, Celina Roma Sánchez de et al. Vulnerability to the transmission of human visceral leishmaniasis in a Brazilian urban area. **Revista de Saúde Pública**, v. 51, n. 0, 2017. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-89102017000100239&lng=en&tng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102017000100239&lng=en&tng=en). Acesso em: 14 jan. 2022.

Toledo, M.; CRONEMBERGER-ANDRADE, A.; BARBOSA, F.; REIS, N.; DUPIN, T. V.; SOARES, R. P.; TORRENCILHAS, A. C.; XANDER, P. Effects of extracellular vesicles released by peritoneal B-1 cells on experimental *Leishmania* (*Leishmania*) *amazonensis* infection. **Journal of leukocyte biology**, 108(6), 1803–1814, dez. Disponível em: 2020. <https://doi.org/10.1002/JLB.3MA0220-464RR>. Acesso em: 10 dez. 2021.

TOMIOTTO-PELLISSIER, F.; BORTOLETI, B.; ASSOLINI, J. P.; GONÇALVES, M. D.; CARLOTO, A.; MIRANDA-SAPLA, M. M.; CONCHON-COSTA, I.; BORDIGNON, J.; PAVANELLI, W. R. Macrophage Polarization in Leishmaniasis: Broadening Horizons. **Frontiers in immunology**, 9, 2529, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02529>. Acesso em: 14 jan. 2022.

TORRES-GUERRERO, Edoardo et al. Leishmaniasis: A Review. **F1000Research**, v. 6, p. 750, 26 maio 2017. Disponível em: <https://f1000research.com/articles/6-750/v1>. Acesso em: 10 jan. 2022.

UENO, Norikiyo; WILSON, Mary E. Receptor-Mediated Phagocytosis of *Leishmania*: Implications for Intracellular Survival. **Trends in Parasitology**, v. 28, n. 8, p. 335–344, ago. 2012. Disponível em:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1471492212000852>. Acesso em: 02 jan. 2022.

VAN WYNSBERGHE, N.R.; CANTO-LARA, S.B.; SOSA-BIBIANO, E.I.; RIVERO-CÁRDENAS, N.A.; ANDRADE-NARVÁEZ, F.J. Comparison of small mammal prevalence of *Leishmania (Leishmania) mexicana* in five foci of cutaneous leishmaniasis in the State of Campeche, Mexico. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, [S.L.], v. 51, n. 2, p. 87-94, abr. 2009. FapUNIFESP Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s0036-4665200900020000>. Acesso em: 10 jan. 2022.

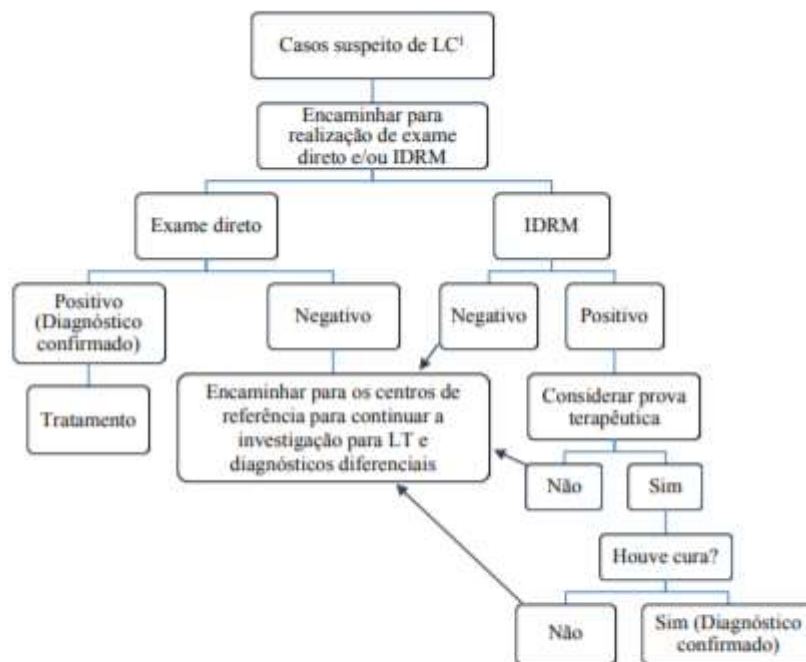
WORLD HEALTH ORGANIZATION: WHO. Leishmaniasis. **Who**. int. 2020. Disponível em: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>. Acesso em: 14 jan. 2022.

WYREPKOWSKI, Claudia Dantas Comandolli et al. Aspectos farmacológicos da terapia medicamentosa utilizada para a leishmaniose cutânea: uma revisão de literatura. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 12, n. 8, p. e3352, 26 jun. 2020. Disponível em: <https://acervomais.com.br/index.php/saude/article/view/3352>. Acesso em: 14 jan. 2022.

## ANEXOS

## ANEXO A - Diagnóstico da leishmaniose tegumentar cutânea

Fluxograma 1 – Diagnóstico da leishmaniose tegumentar cutânea



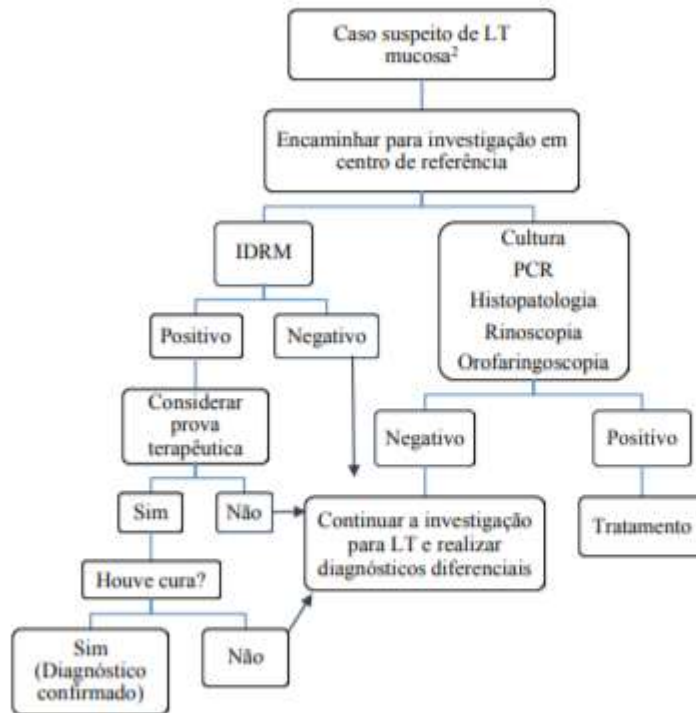
Fonte: SVS/MS

<sup>1</sup> **Caso suspeito de LT cutânea:** indivíduo com presença de lesões de pele ulceradas ou não com 3 semanas ou mais de evolução em paciente residente ou exposto à área de transmissão.

Fonte: Ministério da Saúde; Secretaria de Vigilância em Saúde, 2017.

## ANEXO B - Diagnóstico da leishmaniose tegumentar mucosa

**Fluxograma 2** – Diagnóstico da leishmaniose tegumentar mucosa



Fonte: SVS/MS

<sup>2</sup>**Caso suspeito de LT mucosa:** indivíduo com presença de lesão de mucosa de vias aéreas superiores, principalmente nasal, em paciente residente ou exposto à área de transmissão.

Fonte: (Ministério da Saúde; Secretaria de Vigilância em Saúde, 2017)