

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
ESCOLA POLITÉCNICA DE SAÚDE JOAQUIM VENÂNCIO
LABORATÓRIO DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL EM TÉCNICAS LABORATORIAIS
EM SAÚDE

Thayanne Oliveira de Freitas Gonçalves

RESPOSTA IMUNE CONTRA A LEISHMANIOSE VISCERAL HUMANA E OS
ASPECTOS IMUNOPATOLÓGICOS DA CO-INFECÇÃO COM HIV

Rio de Janeiro

2011

Thayanne Oliveira de Freitas Gonçalves

RESPOSTA IMUNE CONTRA A LEISHMANIOSE VISCERAL HUMANA E OS
ASPECTOS IMUNOPATOLÓGICOS DA CO-INFECÇÃO COM HIV

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Escola Politécnica de Saúde Joaquim
Venâncio como requisito parcial para
aprovação no curso técnico de nível médio em
saúde com habilitação em Análises Clínicas.

Orientador: Flávia Coelho Ribeiro

Elisângela Oliveira de Freitas

Rio de Janeiro

2011

Thayanne Oliveira de Freitas Gonçalves

RESPOSTA IMUNE CONTRA A LEISHMANIOSE VISCERAL HUMANA E OS
ASPECTOS IMUNOPATOLÓGICOS DA CO-INFECÇÃO COM HIV

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Escola Politécnica de Saúde Joaquim
Venâncio como requisito parcial para
aprovação no curso técnico de nível médio em
saúde com habilitação em Análises Clínicas.

Aprovada em 21/11/2011

BANCA EXAMINADORA

(Dra. Flávia Coelho Ribeiro – FIOCRUZ / EPSJV / LATEC)

(Dra. Andrea Silva Alves – FIOCRUZ / IPEC / VIGILEISH)

(Ms. Paulo Roberto Soares Stephens – FIOCRUZ / IOC / Lab. Imunologia Clínica)

*Dedico este trabalho à minha mãe Elisângela,
à minha avó Zélia e ao meu avô Francisco
pelo incentivo aos meus estudos e por me
apoiarem a cada dia da minha vida.*

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer imensamente aos meus pais, Omar Gonçalves Laburu e Elisângela Oliveira de Freitas que sempre me apoiaram e estiveram ao meu lado nos momentos mais difíceis. E que me incentivam a sonhar cada vez mais e a construir caminhos com determinação e perseverança para alcançá-los.

Também quero agradecer aos meus avós Francisco Matias de Freitas e Zélia Fonseca de Oliveira que se preocupam comigo e me apoiam nas escolhas que faço e sempre tentam me mostrar o melhor caminho a seguir através de suas experiências.

Aos meus amigos que me incentivaram até a conclusão da monografia e com os quais eu me divirto nas horas vagas.

Às minhas orientadoras Flávia Coelho Ribeiro e Elisângela Oliveira de Freitas que tiveram paciência de tirar minhas dúvidas e de ler várias vezes os textos da monografia até a sua conclusão.

*“Uma mente que se abre a novas idéias jamais
volta ao seu tamanho original...”
(Albert Einstein)*

RESUMO

A leishmaniose é uma doença causada por protozoários digenéticos da família *Trypanosomatidae* e do gênero *Leishmania*. Estes parasitas apresentam morfologia semelhante, porém não são idênticos entre si. Deste modo, a leishmaniose pode ser dividida em três grupos distintos: leishmaniose tegumentar classificada como cutânea ou mucocutânea, e leishmaniose visceral (ALVAR et al., 2008). Assim, as diversas manifestações clínicas apresentadas dependerão das complexas interações resultantes da invasividade, dos tropismos e da patogeneicidade do parasita, bem como da suscetibilidade genética e da resposta imunológica do indivíduo (LIESE et al., 2008). A multiplicação e disseminação dos parasitas de *Leishmania* ocorrerão quando os hospedeiros não apresentarem uma resposta imune celular Th1 suficiente contra o parasita e, portanto, não possuem uma função protetora da infecção (PASSOS, 2006). Especificamente na leishmaniose visceral, a *L. (L.) donovani* e a *L. (L.) infantum (chagasi)* desenvolvem um espectro sistêmico da doença que se caracteriza pelo viscerotropismo, gerando a hepatoesplenomegalia e, sendo a forma mais severa da leishmaniose, pode levar à morte se não tratada rapidamente (ENGWERDA et al., 2004). Em relação ao vírus da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), de acordo com dados da OMS, estima-se que, no mundo, 39,5 milhões de pessoas são portadores do vírus HIV, sendo que um terço dessa população vive em áreas endêmicas de LV (WHO, 2010). Deste modo, é importante destacar que a associação entre a LV e o vírus do HIV exibe um efeito cumulativo na imunodepressão dos indivíduos acometidos pela co-infecção, apresentando uma evolução clínica diferenciada. Pacientes co-infectados apresentam contagens muito baixas de linfócitos TCD4+, o que conseqüentemente, fará com que os indivíduos afetados pelo vírus HIV apresentem LV persistente que pode ser subclínica, assintomática por longos períodos ou, como na maioria dos casos, pode levar o indivíduo a óbito (MARQUES et al., 2007).

Palavras-chaves: Leishmaniose Visceral. Co-infecção *Leishmania*/HIV. Resposta Imunológica.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Ilustração 1	Distribuição mundial da leishmaniose	10
Ilustração 2	Distribuição espacial dos casos de leishmaniose	11
Ilustração 3	Número de casos confirmados de leishmaniose por regiões	12
Ilustração 4	Casos confirmados de leishmaniose em 2008 por estado	12
Ilustração 5	Ciclo de vida da Leishmania	14
Ilustração 6	Células do sistema imunológico	25
Ilustração 7	Propriedade das citocinas	30
Ilustração 8	Funções efetoras das subpopulações de linfócitos TCD4 ⁺	32
Ilustração 9	Eventos iniciais na infecção por Leishmania	37
Ilustração 10	Interação entre os neutrófilos e a Leishmania na resposta inata	38
Ilustração 11	Mecanismos de escapes utilizados pela Leishmania	41
Ilustração 12	Inseto vetor da Leishmania durante o repasto sanguíneo	42
Ilustração 13	Números de casos da co-infecção Leishmania/HIV no Brasil	46
Ilustração 14	Sobrevivência de pacientes em tratamento com e sem a co-infecção	47
Ilustração 15	Formas clínicas da leishmaniose presentes nos casos de co-infecção	51
Quadro 1	Características das infecções concomitantes de Leishmania e HIV	48

LISTA DE SIGLAS

SFM – Sistema Fagocítico Mononuclear
LV – Leishmaniose Visceral
OMS – Organização Mundial da Saúde
HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana
IFI – Imunofluorescência Indireta
ELISA - Enzyme-linked immunosorbent assay
AIDS – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
NK – Natural Killer
APC – Células Apresentadoras de Antígenos
PMN – Neutrófilos Polimorfonucleares
MHC - Complexo Principal de Histocompatibilidade
IFN- γ – Interferon gama
IL – Interleucina
Ig – Imunoglobulina
TNF – Fator de Necrose Tumoral
TGF- β - Fator β de Crescimento
TLR – Receptores *Toll-like*
NO – Óxido Nítrico
iNOS – Sintetase de Óxido Nítrico
LPG – Lipofosfoglicano
HAART – Terapia Antiretroviral
Core-PI - Núcleo de Fosfatil Inositol
LTR – Gene de Transcrição Viral
NF- $\kappa\beta$ - Fator Transcricional do Vírus
CCR5⁺ - Receptor para a entrada do vírus nas células alvo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
1.1 EPIDEMIOLOGIA DA LEISHMANIOSE VISCERAL	10
1.2 CARACTERÍSTICAS DA LEISHMANIOSE	13
1.3 DIAGNÓSTICO	17
1.4 TRATAMENTO	18
1.5 CARACTERÍSTICAS DA CO-INFECÇÃO LV/HIV	19
2 JUSTIFICATIVA	22
3 OBJETIVOS	23
3.1 OBJETIVOS GERAIS	23
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
4 METODOLOGIA	24
5 RESPOSTA IMUNOLÓGICA	25
5.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DO SISTEMA IMUNOLÓGICO	25
5.2 MECANISMOS DA RESPOSTA INATA E ADAPTATIVA	27
5.3 MECANISMOS DE LIBERAÇÃO DAS CITOCINAS	29
6 RESPOSTA IMUNE CONTRA LEISHMANIOSE VISCERAL HUMANA	33
6.1 MECANISMOS DA RESPOSTA INATA CONTRA A LEISHMANIA	34
6.2 MECANISMOS DE ESCAPE DO PARASITA	39
6.3 MECANISMOS DA RESPOSTA ADAPTATIVA CONTRA A LEISHMANIA.	42
7 RESPOSTA IMUNE DA CO-INFECÇÃO LV/HIV	45
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	53
REFERÊNCIAS	54

1 INTRODUÇÃO

1.1 EPIDEMIOLOGIA DA LEISHMANIOSE

A leishmaniose é identificada, primariamente, como uma zoonose cuja transmissão ocorre via animal – vetor – homem, mas também pode acometer o homem em um ciclo de transmissão pela via homem – vetor – homem, passando a ser considerada uma antropozoonose (BRASIL, 2006). A leishmaniose é causada por protozoários digenéticos da família *Trypanosomatidae* e do gênero *Leishmania*. Cada parasita deste gênero apresenta morfologia semelhante, porém não são idênticos entre si. Deste modo, a leishmaniose pode ser dividida em três grupos distintos: leishmaniose tegumentar classificada como cutânea ou mucocutânea, e leishmaniose visceral (ALVAR et al., 2008).

Os casos de leishmaniose distribuem-se mundialmente, sobretudo nas áreas próximas ao Mediterrâneo, bem como em países da América, Ásia, África, Oriente Médio e Europa (PALATNIK-DE-SOUZA, 2009). Aparecem em 88 países desses continentes, sendo que 72 destes são países em desenvolvimento (CARNAÚBA Jr et al., 2009). Nestes últimos, a leishmaniose é considerada uma doença endêmica, de modo que 90% dos episódios da doença estão concentradas entre cinco países: Índia, Bangladesh, Nepal, Sudão e Brasil (MARQUES et al., 2007) (Ilustração 1).

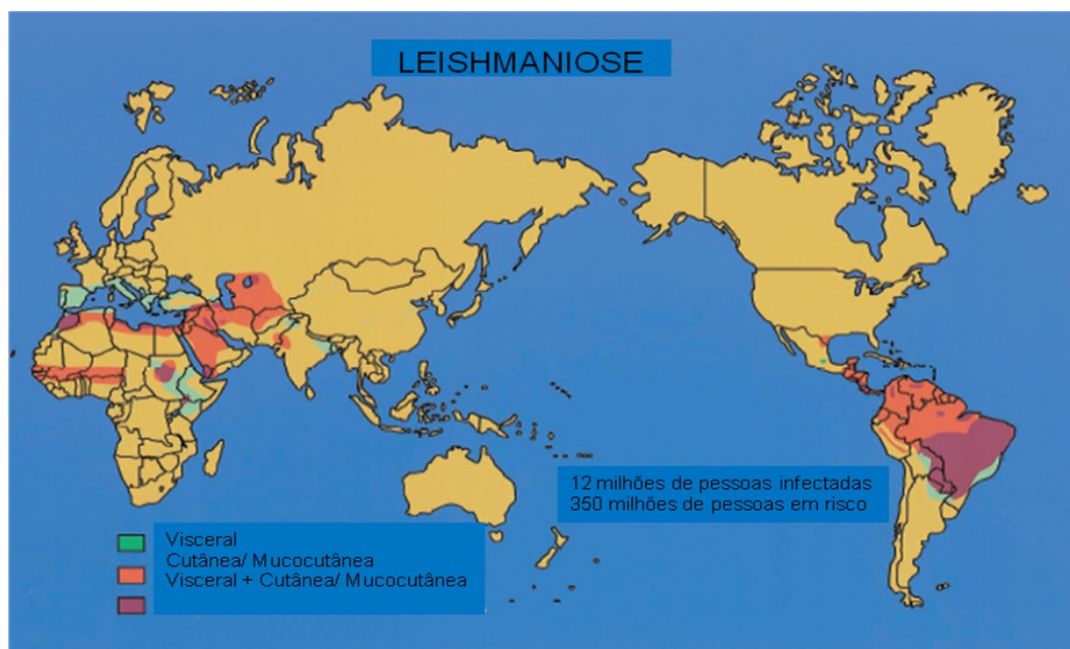
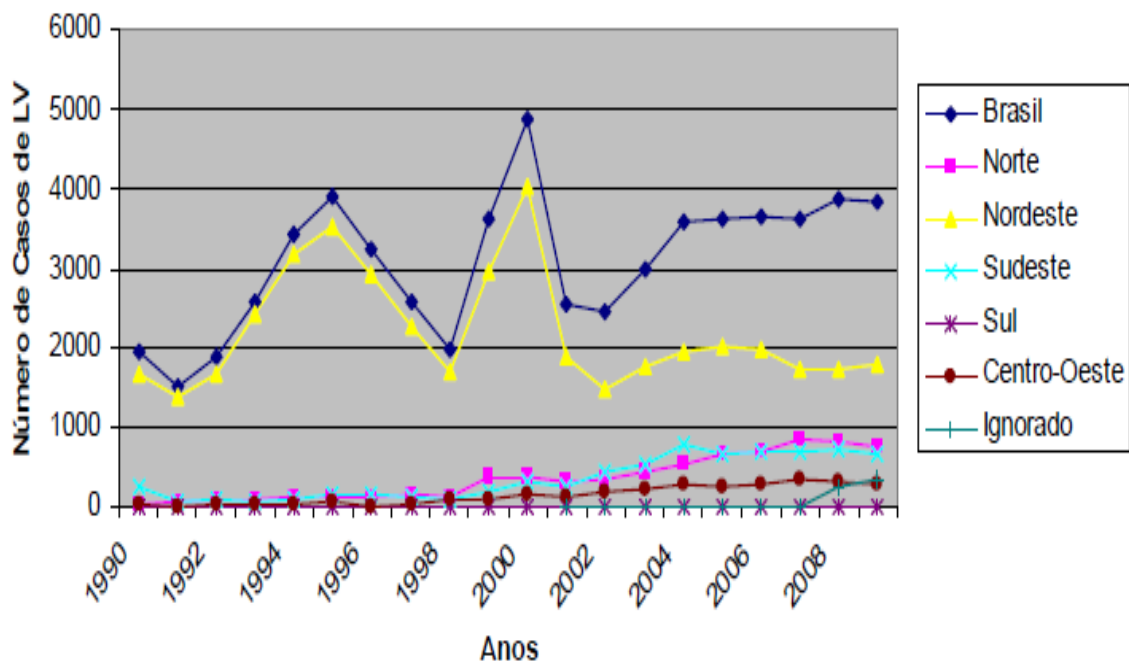


Ilustração 1: Distribuição da leishmaniose pelo mundo. (GÓMEZ; BAREA, 2007)

Novos casos de leishmaniose são registrados anualmente, de maneira que existe a estimativa de que, atualmente, exista uma prevalência de 12 milhões de casos de leishmaniose no mundo (WHO, 2010). O número de novos casos anuais da doença gira em torno de 2 milhões, dos quais 500.000 casos são de LV e de 1-1,5 milhões de casos são de leishmaniose tegumentar. No Brasil, são reportados anualmente de 2500 – 5000 novos casos de LV (CARNAÚBA JR. *et al.*, 2009), sendo que aproximadamente 90% dos casos de LV humana se reuniam na região Nordeste até o ano de 1993 (Ilustração 2). Em 2002, 64,02% dos casos correspondiam ao Nordeste, tendo a doença se difundido para o Norte (14,12%), o Centro-oeste (8,22%) e o Sudeste (13,63%). Além disso, o Brasil revelou um total de 50.060 casos de leishmaniose visceral entre 1990 e 2006, representando cerca de 90% do total de casos registrados nas Américas. Durante 2000 e 2006, por sua vez, ocorreu um aumento de aproximadamente 3.362 casos no país (NICO, 2010) (Ilustração 3).

Gráfico 1. Casos confirmados de LV no Brasil, por Regiões, no período de 1990 a 2009.



Fonte: SINAN/SVS/MS - dados atualizados até 09/07/2010.

Ilustração 2: Casos confirmados de LV em regiões brasileiras no período de 1990 a 2009

(http://www.dive.sc.gov.br/conteudos/zoonoses/Noticias/2010/Protocolo_Leishmaniose_viscerar_SC.pdf)

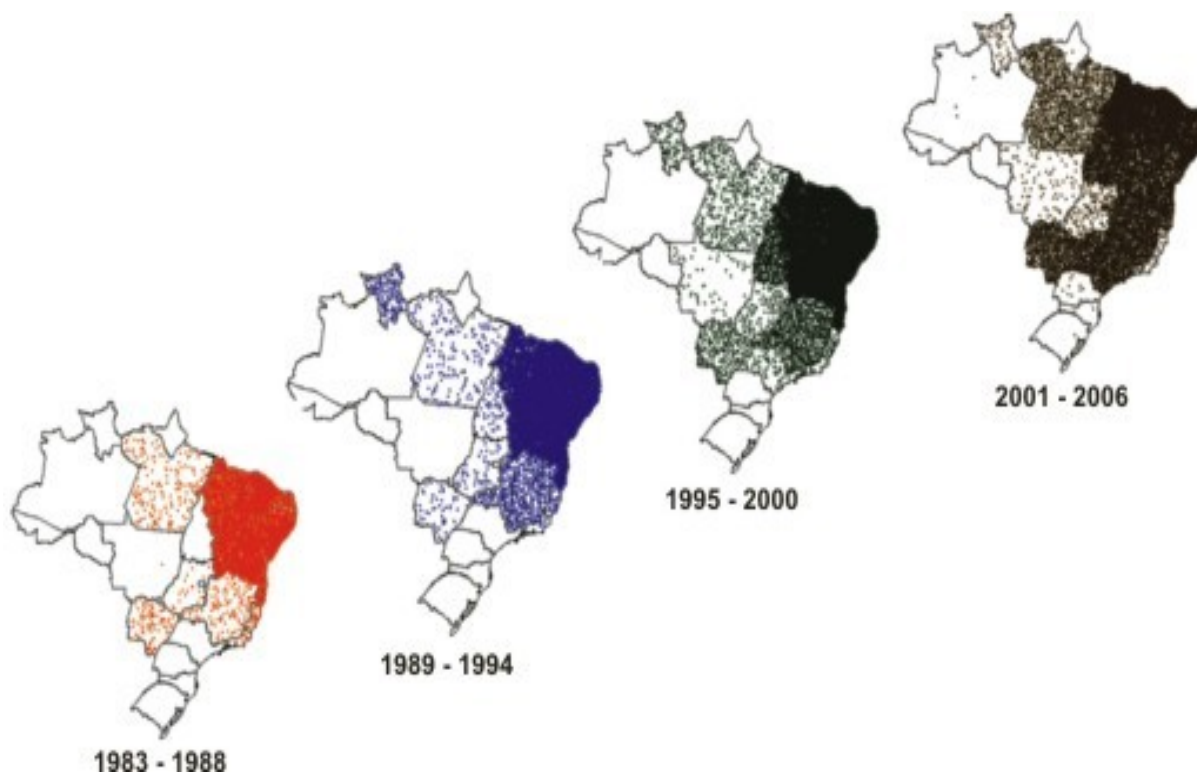


Ilustração 3: Distribuição espacial dos casos de LV no Brasil entre os anos de 1983 a 1988, 1989 a 1994, 1995 a 2000 e 2001 a 2006. (ALVES, 2009).

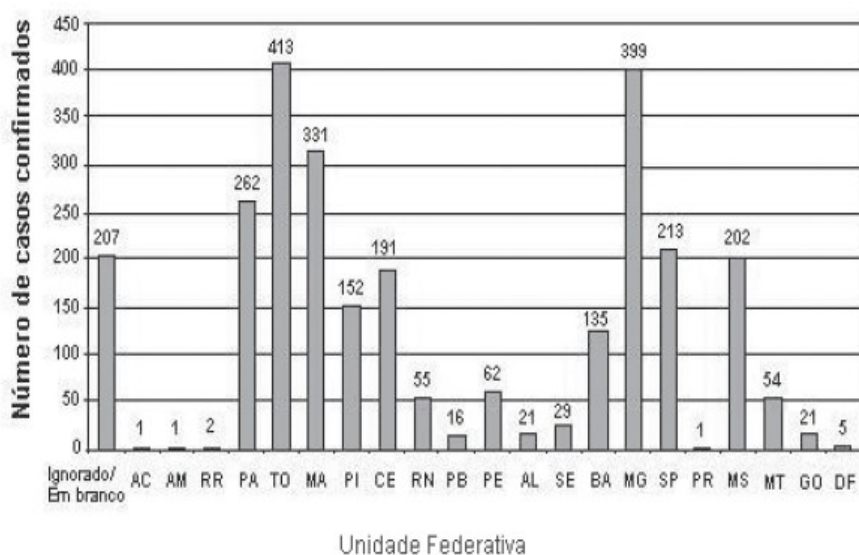


Figura 1. Casos de leishmaniose visceral confirmados por notificação no ano de 2008 por unidade federativa. Fonte: Sinan, 2009.

Ilustração 4: Casos de LV confirmados no ano de 2008 de acordo com os estados brasileiros (URIAS et al., 2009).

1.2 CARACTERÍSTICAS DA LEISHMANIOSE

A leishmaniose é caracterizada por sua diversidade e complexidade, sendo causada por mais de 20 espécies de *Leishmania*, as quais são transmitidas por cerca de 30 diferentes espécies de flebotomíneos (CHAPPIUS et al., 2007).

O gênero *Leishmania* possui um ciclo biológico heteroxênico, apresentando durante o seu desenvolvimento dois estágios: as promastigotas e as amastigotas. A promastigota é uma forma flagelada extracelular (móvel e alongada com 10-20 μm), as quais são encontradas no tubo digestivo das fêmeas hematófagas de flebotomíneo do gênero *Plebotomus*, no Velho Mundo e o *Lutzomyia*, no Novo Mundo. Por outro lado, as amastigotas possuem uma forma arredondada (diâmetro de 3-7 μm) e intracelular que se desenvolvem no sistema fagocítico mononuclear (SFM) do hospedeiro (BACELLAR; CARVALHO, 2005; CHAPPIUS et al., 2007)

As formas promastigotas da *Leishmania* são inoculadas na pele do hospedeiro vertebrado, juntamente com a saliva do flebotomíneo, no momento do repasto sanguíneo do vetor e são fagocitadas pelas células do SFM (macrófagos, monócitos, neutrófilos e células dendríticas), diferenciando-se nas formas amastigotas. Os parasitas intracelulares, então, se multiplicam por divisões binárias e conseguem romper os macrófagos infectados. Ao romperem essas células, as amastigotas são liberadas para infectar outros macrófagos e fagócitos, adquirindo uma localização final na pele, no baço, no fígado, na medula óssea e nos linfonodos (LIESE et al., 2008; MARQUES et al., 2007) (Ilustração 5).

O ciclo é completado quando flebotomíneos realizam o repasto sanguíneo em hospedeiros vertebrados infectados e ingerem as formas amastigotas da *Leishmania*. Neste caso, as amastigotas atingem o tubo digestório do vetor, onde após várias etapas diferenciam-se em promastigotas metacíclicas, fase infectiva do parasito. Portanto, é durante o repasto sanguíneo em mamíferos que os flebotomíneos inoculam os parasitas juntamente com a saliva, provocando assim, a infecção (REY, 2001; LIESE et al., 2008; NICO, 2010).

O gênero *Leishmania* possui diversos mamíferos como hospedeiros definitivos, sendo que, especificamente na leishmaniose visceral (LV), a raposa é o principal reservatório silvestre no Brasil e o cão, o domiciliar. Neste caso, o homem é considerado um hospedeiro ocasional (BACELLAR; CARVALHO, 2005; RIBEIRO, 2009).

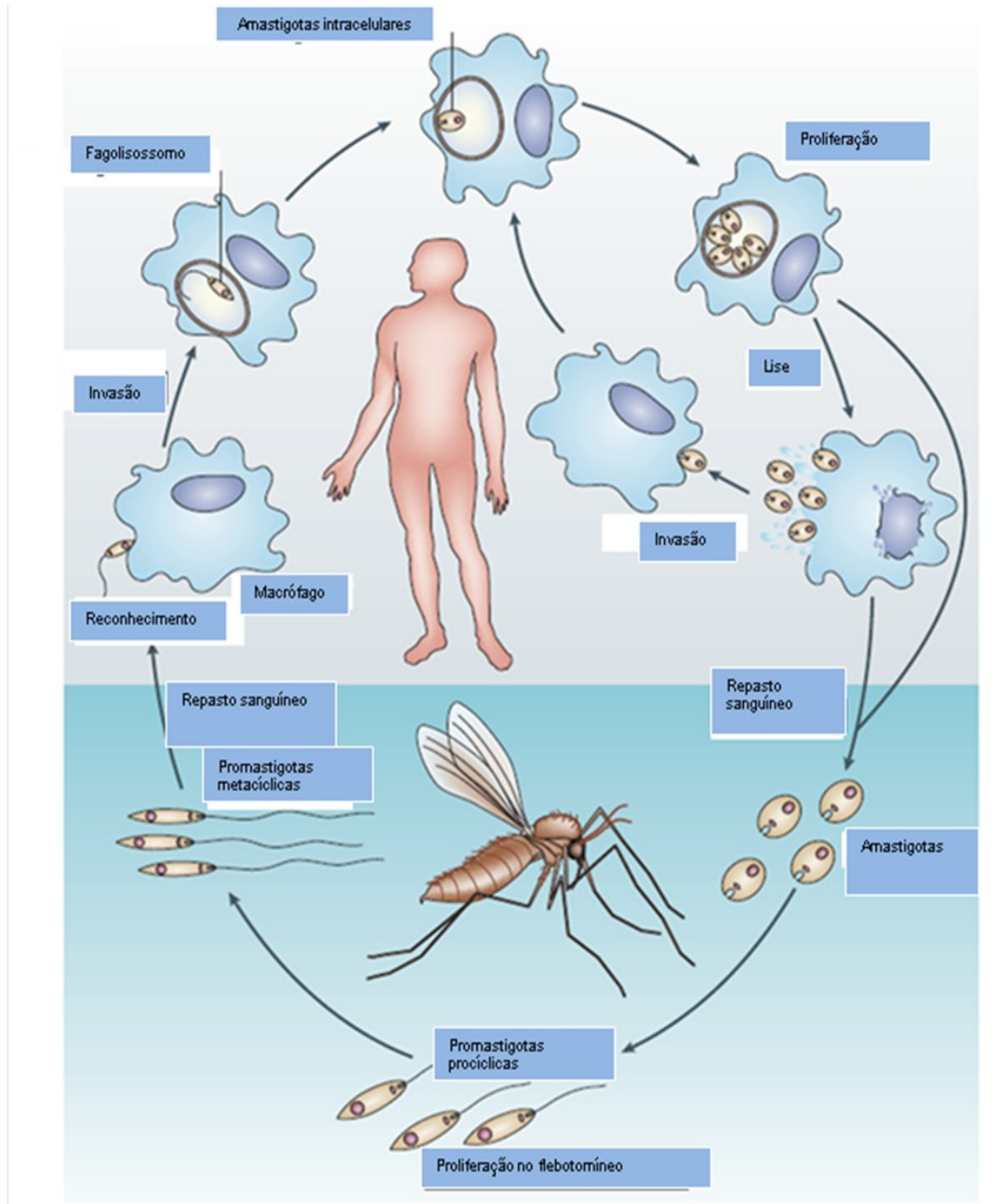


Ilustração 5: Ciclo digenético da leishmaniose (CHAPPIUS et al., 2007).

Atualmente, a leishmaniose é considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como a segunda mais importante doença provocada por protozoários e uma das mais negligenciadas do mundo (MARQUES et al., 2007; WHO, 2010). O Brasil aparece entre os cinco países mais afetados pela leishmaniose, apresentando incidências crescentes da doença (SCHRIEFER et al., 2005). Esta incide diferentemente de acordo com as regiões e aos períodos anuais e sazonais (PASSOS, 2006), sendo inúmeras as espécies de *Leishmania* capazes de infectar o homem. Desta maneira a interação entre o parasita e o hospedeiro

delinear a infecção resultante e sua evolução. Além disso, as diferentes manifestações clínicas apresentadas dependerão das complexas interações resultantes da invasividade, dos tropismos e da patogeneicidade do parasita, como também da suscetibilidade genética e da resposta imunológica do indivíduo (LIESE et al., 2008).

A multiplicação e disseminação dos parasitas de *Leishmania*, portanto, ocorrerá quando os hospedeiros não apresentarem uma resposta imune celular Th1 suficiente contra o parasita. Desta forma, a ausência da resposta imune será oposta aos elevados títulos de anticorpos, os quais não possuem uma função protetora da infecção, pelo contrário, será um indicador muito importante para constatação da infecção e da doença (PASSOS, 2006).

A leishmaniose pode ser dividida entre as formas: visceral e tegumentar (cutânea e mucocutânea), sendo que a leishmaniose tegumentar cutânea apresenta distribuição em todo o território brasileiro, sendo considerada uma doença benigna e de evolução crônica (BASANO; CAMARGO, 2004). Produz lesões exclusivamente cutâneas e o portador da doença pode desenvolver cerca de 200 lesões pelas partes visíveis do corpo. Entre as espécies do parasita que causam a doença estão: *Leishmania (Viannia) brazilienses*, *L. (V.) guyanensis*, *L. (V.) peruviana*, *Leishmania (Leishmania) tropica*, *L. (L.) major* e *L. (L.) mexicana*. A leishmaniose cutânea corresponde de 90% a 95% de todos os casos registrados de leishmaniose tegumentar (GUIMARÃES et al., 2005).

A leishmaniose tegumentar mucocutânea, por sua vez, está relacionada com o aparecimento de lesões destrutivas nas mucosas (nariz, faringe e tecidos circundantes). É provocada pela *L. (V.) brazilienses* e ocorre simultaneamente ou anos após a apresentação de um quadro de leishmaniose cutânea (GUIMARÃES et al., 2005). Além disso, a doença pode progredir para uma intensa destruição da mucosa nasal, provocando lesões desfigurantes e podendo causar complicações secundárias que levam à morte se não tratadas adequadamente (ANDRADE et al., 2005).

Por outro lado, os pacientes que desenvolvem a LV, apresentam o acometimento do fígado, do baço, da medula óssea e dos tecidos linfóides. Desta maneira, o agravamento dos casos clínicos de LV está vinculado à imunossupressão determinada pela doença e à possibilidade desta assumir formas graves ou letais quando concomitante com quadros de carência nutricional. Pode resultar em morte se não tratada precocemente e as espécies de parasitas que causam a doença são: *L. (L.) donovani*, *L. (L.) infantum* e *L. (L.) chagasi* (CHAPPIUS et al., 2007).

No Brasil, a LV, também chamada de Calazar (em hindu significa peste negra), atinge praticamente todas as regiões, sendo o Nordeste a área mais afetada (REY, 2001). Esse

espectro da doença no Novo Mundo e, principalmente no Brasil é causado por *L. (L.) chagasi*, enquanto que no Velho Mundo é provocada predominantemente pela *L. (L.) infantum*. Porém, nos últimos anos, através de evidências bioquímicas e moleculares acredita-se que a *L. (L.) infantum* e a *L. (L.) chagasi* pertencem à mesma espécie, sendo a única diferença a distribuição geográfica destas. Sendo assim, recebem a denominação de *L. (L.) infantum (chagasi)* (BRASIL, 2010).

Contrariamente às espécies de *Leishmanias* que causam a leishmaniose cutânea, a *L. (L.) donovani* e a *L. (L.) infantum (chagasi)* desenvolvem um espectro sistêmico da doença que se caracteriza pelo viscerotropismo (afinidade do parasita pelas vísceras do hospedeiro), gerando a hepatoesplenomegalia e, sendo a forma mais severa da leishmaniose, pode levar à morte se não tratada rapidamente (ENGWERDA et al., 2004).

A LV é uma doença gradual que atinge principalmente os indivíduos menores de 10 anos. Neste caso, a maior suscetibilidade de crianças ao desenvolvimento da LV está relacionada à relativa imaturidade imunológica agravada pelo estado de desnutrição (muito comum nas áreas endêmicas), bem como à maior exposição ao vetor em seus peri-domicílios (COSTA, 2005).

Originalmente, os ambientes propícios à disseminação da LV são aqueles com baixo nível socioeconômico, pobreza, saneamento básico precário e desnutrição frequente. No entanto, o crescente processo de urbanização, o desmatamento e a migração têm acarretado a expansão das áreas endêmicas da LV e no surgimento de novos casos da doença, sobretudo nos centros urbanos (RABELLO et al., 2003; NICO, 2010).

A leishmaniose visceral aparece como um crescente problema de saúde pública, já que frequentemente é fatal para o homem quando não tratada (PALATINCK-DE-SOUZA, 2009). O indivíduo acometido pela doença exibe febre irregular e prolongada, hepatoesplenomegalia acentuada, anemia, fadiga, fraqueza, edema da pele, bronquite, hipergamaglobulinemia e emagrecimento que pode evoluir para a caquexia e, possivelmente para o óbito (BACELLAR; CARVALHO, 2005).

A invasão parasitária no sangue e no SFM é disseminada para os linfonodos, baço e fígado. A febre ocorre precocemente durante todo o curso da infecção, antecedendo os outros sintomas e associando-se ao emagrecimento. A fadiga e a fraqueza são agravadas pela anemia, que é provocada pelo persistente estado inflamatório, destruição de hemácias e algumas vezes sangramento. A hepatoesplenomegalia, por sua vez, é gradual e pode variar de tamanho à medida que a doença avança, causando distensão abdominal e dor (CHAPPIUS et al., 2007). Os sintomas menos frequentes são: diarreia e vômito (CARVALHO, 2009).

1.3 DIAGNÓSTICO

Devido à alta letalidade (possibilidade de o indivíduo morrer devido à doença) da LV, o diagnóstico precoce é fundamental para o sucesso terapêutico e para a diminuição dos casos fatais da doença. Além disso, o diagnóstico permite a detecção de indivíduos assintomáticos e, conseqüentemente, pode prevenir transfusões de doadores cujo sangue esteja contaminado por *Leishmania* (NICO, 2010).

A primeira etapa para o diagnóstico da leishmaniose se baseia em parâmetros epidemiológicos e nos sintomas do paciente. Porém, esta apresenta limitações, uma vez que é semelhante ao encontrado em outras doenças como, por exemplo, na esquistossomose associada à enterobacteriose prolongada, malária, brucelose e na forma aguda da Doença de Chagas. Sendo assim, se torna necessário realizar exames clínicos parasitológicos ou sorológicos, de maneira que a liberação de um resultado definitivo dependerá da visualização das formas amastigotas do parasita ao microscópio óptico (GONTIJO; MELO, 2004; RIBEIRO, 2009).

Para a realização do exame parasitológico utilizam-se fragmentos de pele íntegra (biópsias) ou de punção aspirativa da medula óssea, baço ou fígado. Em seguida, estes materiais serão empregados na confecção de esfregaços em lâminas (coradas com Giemsa, Leishman ou Panótico), na histologia, são isolados em meios de cultura apropriados ou inoculados em animais de laboratório. A especificidade deste método é de 100%, porém a sensibilidade pode variar de acordo com a carga parasitária, o tipo de material biológico, o processo de coloração e também o profissional responsável. Em pacientes com elevado grau de parasitismo, o diagnóstico é rápido e seguro, enquanto que em animais ou humanos que sejam assintomáticos, a presença de poucas formas amastigotas nos tecidos dificulta a análise e torna o resultado impreciso (GONTIJO; MELO, 2004; LAURENTI, 2009).

A mais alta sensibilidade (98%) é encontrada em aspirados de baço, entretanto, estas juntamente com as punções de medula óssea são consideradas muito invasivas e, por isso, não é um mecanismo para a triagem epidemiológica. A pesquisa em sangue periférico deve ser priorizada para pacientes com HIV (GONTIJO; MELO, 2004).

Atualmente, os principais métodos utilizados para o diagnóstico da leishmaniose são os testes sorológicos para a detecção de anticorpos. Entre esses métodos pode-se destacar a Imunofluorescência Indireta (IFI), o “Enzyme-linked immunosorbent assay” (ELISA) e o “Westernblotting”. Os testes apresentam diferenças quanto à especificidade e sensibilidade e possuem limitações, uma vez que podem continuar a registrar resultados positivos após um

longo período de tratamento, não permitindo uma avaliação do sucesso terapêutico (GONTIJO; MELO, 2004; RIBEIRO, 2009).

Além disso, o principal empecilho para o imunodiagnóstico da leishmaniose é a reação cruzada com o *Trypanosoma cruzi*, protozoário causador da doença de Chagas (PASSOS, 2006). Sendo assim, para reduzir as taxas de letalidade, o grau de morbidade (nº de indivíduos que adquirem a doença em um determinado intervalo de tempo) e também os riscos de transmissão da doença, os programas epidemiológicos e profiláticos da LV incluem o controle do inseto vetor, o tratamento dos casos humanos e a remoção e, posterior eutanásia dos cães infectados soropositivos (PALATNIK-DE-SOUZA et al., 2008).

1.4 TRATAMENTO

No âmbito do tratamento da LV, apesar das divergências em relação ao seu custo, resposta imunológica e região endêmica da doença, se fundamenta em drogas leishmanicidas, sobretudo injeção de antimônios pentavalentes (CARNAÚBA Jr et al., 2009).

Durante o tratamento da LV pode-se utilizar drogas como, por exemplo, antimoniais pentavalentes, antimoniato de meglumina (Glutamine) e estibogluconato de sódio (Pestotan). Estas, são utilizadas por mais de 70 anos, correspondendo às primeiras drogas a serem utilizadas na terapia contra a leishmaniose e que continuam até os dias atuais como tratamento de escolha. Exigem hospitalização devido a administração endovenosa e ocasionam muitas reações adversas como arritmias cardíacas e pancreatite aguda (NICO, 2010).

O aumento da quantidade de casos da LV no mundo e o surgimento de resistência ou de reincidências da doença acarretou numa diminuição de 5% a 10% da eficiência dos antimoniais pentavalentes, necessitando, portanto, de novas estratégias terapêuticas no combate a doença. Desta maneira, inseriu-se a anfotericina B lipossomal e a Pentamidina no processo terapêutico, sendo a anfotericina considerada a melhor droga contra a doença e a primeira droga de escolha em tratamentos na Europa e nos Estados Unidos. Neste caso, a anfotericina B possui nefrotoxicidade e pode acarretar a queda nos níveis de potássio e magnésio do organismo, porém a presença de um envoltório lipossomal reduz sua toxicidade. É uma droga de elevado custo e, por isso, é excluída do tratamento de pacientes em países em desenvolvimento (RATH et al., 2003; NICO, 2010).

Por sua vez, a miltefosina é uma droga oral que foi desenvolvida como agente neoplásico, apresenta algumas propriedades anti-leishmania. Ocasionalmente ocasiona toxicidade gastrointestinal, aumento dos níveis de enzimas hepáticas e da creatinina no organismo, além

de ser teratogênica. Apesar disso, vem sendo utilizada para o tratamento de leishmaniose canina em países da Europa, de maneira que pode ter provocado a resistência da *L. (L.) infantum* (NICO, 2010)

A pentamidina é empregada em locais cujos pacientes não respondem satisfatoriamente ao tratamento com os antimoniais ou quando indivíduos com LV são hipersensíveis ao antimônio. No entanto, a pentamidina, assim como as outras, tem limitações em seu uso devido a alta toxicidade. Hipoglicemia, hipotensão, alterações cardiológicas, nefrotoxicidade e, inclusive, morte repentina já foram relatados (RATH et al., 2003).

No âmbito da biologia celular e da imunologia da leishmaniose ocorreram diversos avanços nas pesquisas, porém o tratamento não progrediu de forma proporcional. Além disso, a indústria farmacêutica pouco contribui para a produção de novos medicamentos e, por isso, a por várias décadas encontram-se as mesmas drogas de escolha. Isso, conseqüentemente, contribui para resistência do parasita e a dificuldade de sucesso terapêutico, sendo a combinação de drogas a principal alternativa para a redução do tempo de tratamento e do custo (RATH et al., 2003; GONTIJO; MELO, 2004; NICO, 2010).

1.5 ASPECTOS DA CO-INFECÇÃO LV/HIV

Em relação ao vírus da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), de acordo com dados da OMS, estima-se que, no mundo, 39,5 milhões de pessoas são portadores do vírus HIV, sendo que um terço dessa população vive em áreas endêmicas de LV (WHO, 2010). O período entre a aquisição do HIV e a manifestação da AIDS pode durar anos, já que os indivíduos podem se apresentar assintomáticos. Entretanto, o indivíduo portador do HIV está constantemente em risco em relação a infecções oportunistas, podendo a LV ser caracterizada como uma delas (ALEXANDRINO-DE-OLIVEIRA et al., 2010). Nesse caso, o HIV modifica o curso natural da leishmaniose. Isto é, a infecção por HIV aumenta as chances de desenvolvimento da LV em áreas endêmicas e, além disso, reduz a possibilidade de uma resposta terapêutica e aumenta significativamente a probabilidade de reincidências da LV (MARQUES et al., 2007; ALVAR et al., 2008).

O perfil de incidência da AIDS vem apresentando mudanças significativas nos últimos anos, uma vez que foram registrados um grande número de casos entre os indivíduos heterossexuais (BRITO et al., 2000). Além disso, baseando-se na epidemiologia da doença se encontram três importantes tendências que são a sua pauperização, interiorização e feminização. Estas, então, se tornam evidentes pela expansão da doença para populações de

baixa renda e com pouca escolaridade, de modo que apesar de prevalente em áreas urbanas gera uma elevação do número de casos entre os pequenos municípios. E, nas últimas décadas, um contingente cada vez maior de mulheres portadoras de HIV/ AIDS, pois estas são mais vulneráveis socialmente, seja pela opressão de classe social ou de gênero (BASTOS, 2001; PINTO et al., 2007).

Assim, na década de 80, os primeiros casos da co-infecção LV/HIV foram notificados em diversas partes da Europa, principalmente na Espanha, Itália, França e Portugal (MARQUES et al., 2007). A maioria dos casos descritos na Europa, porém, são observados em pacientes usuários de drogas injetáveis. Desta maneira existe a possibilidade de que a co-infecção seja causada pelo contato de seringas contaminadas pelo vírus HIV com sangue infectado por *Leishmania* (RUSSO et al., 2003, ALEXANDRINO-DE-OLIVEIRA et al., 2010).

A co-infecção LV/HIV é registrada em aproximadamente 2 a 9% de todos os casos de LV que são identificados em países endêmicos, sendo que essa proporção poderá aumentar significativamente. No entanto, a taxa de indivíduos infectados pela co-infecção é considerada indeterminada pelo fato da LV acometer, principalmente, as populações negligenciadas e também por não ser caracterizada como uma doença definidora da AIDS, o que acarreta a sua não notificação (MARQUES et al., 2007; ALVAR et al., 2008).

O diagnóstico clínico da co-infecção LV/HIV configura-se como um desafio médico, sobretudo pelo fato de que a infecção por *Leishmania* compartilha semelhanças com outras doenças oportunistas da AIDS já definidas como, por exemplo, a tuberculose extrapulmonar e a histoplasmose (ALEXANDRINO-DE-OLIVEIRA et al., 2010). Além disso, estudos procuram avaliar se a infecção por HIV favorece o desenvolvimento de uma leishmaniose recém-adquirida que seja assintomática, se possibilita a reativação de uma LV latente, ou se proporciona os dois casos (RUSSO et al., 2003).

A resposta imune celular é considerada o maior mecanismo de defesa contra a leishmaniose e, por isso, o estado imunológico do indivíduo poderá determinar a regressão espontânea da doença ou, por outro lado, o desenvolvimento progressivo desta (ALEXANDRINO-DE-OLIVEIRA et al., 2010). Com o desenvolvimento da LV, consequentemente desenvolvem-se as condições favoráveis para a progressão clínica dos pacientes infectados pelo vírus HIV. Sendo assim, o aumento da carga viral no organismo é a responsável pelo aumento das taxas de mortalidade apresentadas pelos pacientes acometidos pela co-infecção LV/HIV (OLIVIER et al., 2003).

A co-infecção LV/HIV tem ocasionado o reaparecimento da leishmaniose em pacientes assintomáticos ou considerados curados da doença. Isso sugere que a *Leishmania* pode ser considerada um parasita oportunista que geralmente causa resistência ao tratamento, bem como a aceleração no desenvolvimento da AIDS (ROBERTS et al., 2000)

Deste modo, é importante destacar que a associação entre a LV e o vírus do HIV exibe um efeito cumulativo na imunossupressão dos indivíduos acometidos pela co-infecção, apresentando uma evolução clínica diferenciada. Assim, pacientes co-infectados apresentam contagens muito baixas de linfócitos TCD4+, o que conseqüentemente fará com que os indivíduos afetados pelo vírus HIV apresentem LV persistente. Esta, então, poderá ser subclínica, assintomática por longos períodos ou, como na maioria dos casos, pode levar o indivíduo a óbito (MARQUES et al., 2007).

2 JUSTIFICATIVA

A leishmaniose visceral é uma patologia de grande importância epidemiológica devido a sua ampla incidência, alta letalidade e ao aparecimento de formas mais graves que conduzem os indivíduos a óbito se não tratadas. A doença tem sido urbanizada e novas epidemias vêm ocorrendo apesar da evolução de programas de controle (CHAPPIUS et al., 2007).

Além de configurar-se como uma doença severa, a leishmaniose pode agravar os sinais e sintomas em pacientes infectados pelo vírus HIV. Assim, torna-se importante destacar que ambas as doenças promovem a imunossupressão do indivíduo, de forma que a contagem dos linfócitos TCD4+ torna-se mais baixa, prejudicando a resposta imune do indivíduo no combate a esta co-infecção. Sendo a AIDS uma doença predominantemente urbana, o número de casos referentes à co-infecção por LV/HIV é crescente, principalmente pela urbanização da LV que se torna endêmica em localidades que também apresentam elevados índices de indivíduos portadores de HIV (ALVAR et al., 2008; COTA et al., 2011).

Nesta perspectiva, as taxas de mortalidade dos pacientes acometidos pela co-infecção são ascendentes e, portanto, estimulam a realização de pesquisas que permitam descrever as respostas imunes das respectivas doenças, comparando-as com a resposta imune da co-infecção. Isto, conseqüentemente poderá possibilitar a análise do perfil imunológico dos pacientes e também a realização de novas pesquisas relacionadas ao diagnóstico da co-infecção por LV/HIV. Além disso, é de suma importância a difusão de profilaxias que diminuam o aparecimento de novos casos e, portanto, do número de óbitos de indivíduos afetados pela co-infecção.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Revisar a resposta imune de indivíduos portadores de leishmaniose visceral americana frente à infecção por HIV.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever os aspectos imunopatológicos da leishmaniose visceral humana.
- Descrever as características imunológicas dos indivíduos infectados pelo vírus HIV.
- Descrever e comparar o perfil imunológico de pacientes acometidos pela LV, e pacientes portadores da co-infecção LV/HIV.

4 METODOLOGIA

A metodologia deste projeto fundamenta-se em levantamentos bibliográficos sobre o tema proposto, de maneira que estes permitam revisar a resposta imune da leishmaniose visceral americana e os aspectos imunopatológicos da co-infecção *Leishmania*/HIV. Nesta perspectiva, serão realizadas pesquisas de dados em dissertações e teses e, principalmente, busca de artigos científicos publicados em revistas indexadas no período de 2000 – 2011.

5 RESPOSTA IMUNOLÓGICA

5.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DO SISTEMA IMUNOLÓGICO

Diversos agentes infecciosos (protozoários, vírus, bactérias e fungos) são encontrados no meio-ambiente e são capazes de causar infecções ou levar o hospedeiro à morte. Sendo assim, o sistema imunológico tem como principal função proteger o indivíduo contra os diversos agentes infecciosos, eliminando-os do corpo ou minimizando os prejuízos que estes podem causar ao hospedeiro. Isto é, a resposta imune atua no reconhecimento da partícula estranha e, em seguida, na elaboração de uma resposta que a elimine do organismo (ROITT et al., 2003; MACHADO et al., 2004).

Todos os tipos de células participantes da resposta imune tem origem na medula óssea e estão incluídas entre as células mielóides - macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos e células dendríticas - e as linfóides - linfócito T, linfócito B e células Naturall Killer (NK) (ABBAS et al., 2003) (Ilustração 6).

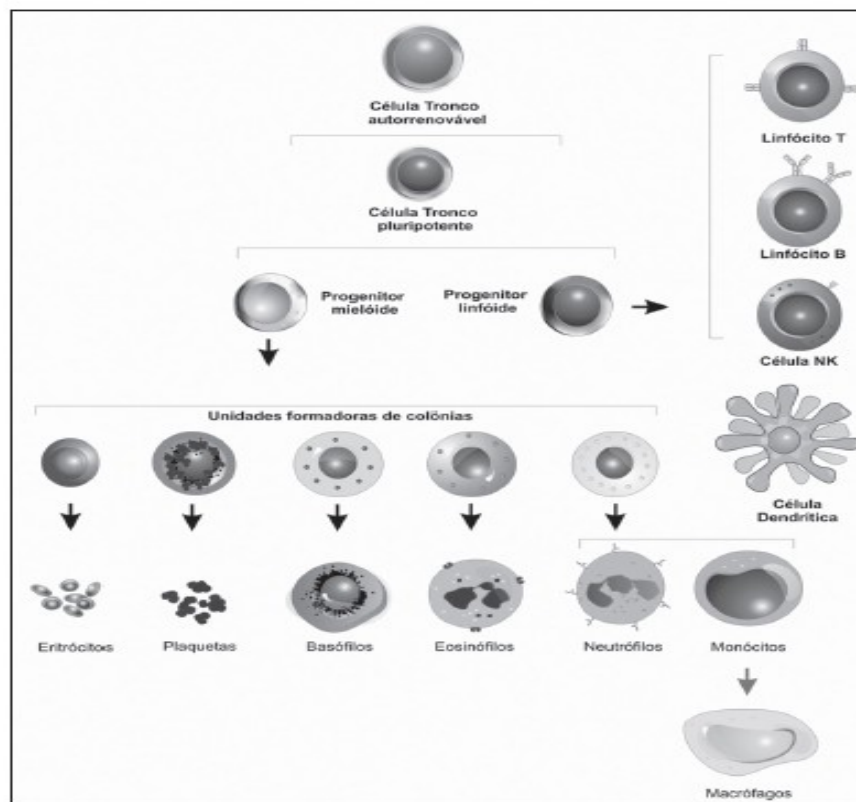


Ilustração 6: Células do sistema imunológico. (CRUVINEL et al., 2010)

Para a elaboração de uma resposta imune eficiente vários tipos celulares e moléculas solúveis liberadas por estes são indispensáveis. Nesta perspectiva, apesar de os leucócitos se apresentarem como células fundamentais para as respostas imunes, as demais células dos tecidos quando infectadas também atuam na resposta, uma vez que enviam sinais aos linfócitos e produzem uma resposta para as citocinas liberadas pelos macrófagos e pelas células T (ROITT et al., 2003). Apesar destas características, as células do sistema imune desenvolvem uma tolerância para as células e estruturas que são próprias do corpo, impedindo assim, a ocorrência de doenças auto-imunes (JANEWAY Jr., 2001).

Existem inúmeras formas de microorganismos infectarem o homem, de maneira que torna-se necessário uma diversidade de respostas imunes para controlar cada tipo de infecção. A espécie do patógeno e o local de sua entrada no organismo são determinantes para a elaboração desta resposta imune, sendo de suma importância a diferenciação entre patógenos extracelulares e intracelulares. No organismo, a resposta imune pode ser dividida em duas etapas essenciais: a imunidade inata e a adaptativa (JANEWAY Jr., 2001; ROITT et al., 2003).

A quantidade de indivíduos expostos à uma determinada infecção é bem superior ao número dos que desenvolvem a doença. Isso, portanto, indica que a grande parte das pessoas são capazes de eliminar o microorganismo e impedir a progressão da infecção. No entanto, algumas pessoas podem apresentar deficiências imunológicas, seja na imunidade inata (deficiência das células fagocíticas e do sistema complemento) ou da imunidade adaptativa (disfunções na produção de anticorpos e na produção de células T), sendo este um dos principais fatores que ocasionam a suscetibilidade às infecções (MACHADO et al., 2004).

Em sua totalidade, o sistema imune é formado por um conjunto de interações celulares, sendo sua primeira atividade o reconhecimento de microorganismos pelas células apresentadoras de antígenos (APC). Estas apresentam receptores específicos para os diferentes antígenos, de modo que esta ligação estimulará a produção de moléculas co-estimulatórias na superfície das APC e também as respostas iniciadas pelas células TCD4⁺ e TCD8⁺. Em seguida, acarretam a produção de anticorpos pelas células B (JANEWAY Jr., 2001).

5.2 MECANISMOS DA RESPOSTA INATA E ADAPTATIVA

A resposta inata corresponde à primeira linha de defesa do organismo e incluem barreiras físicas e químicas, componentes celulares, proteínas do sistema complemento e proteínas chamadas de citocinas. Dentre as células fagocitárias envolvidas nesta resposta encontram-se os monócitos, os macrófagos e os neutrófilos polimorfonucleares (PMN). Estas células atuam no reconhecimento dos microorganismos através de receptores inespecíficos encontrados em sua superfície e são responsáveis por fagocitá-los e, posteriormente, eliminá-los do corpo. No entanto, após encontros sucessivos com um mesmo patógeno não apresentam especificidade em sua resposta, logo a imunidade inata é caracterizada como uma resposta inespecífica (ROITT et al., 2003).

Os receptores de reconhecimento imunológico inato (*Toll-like*) desempenham uma importante função no reconhecimento do patógeno e no início da resposta inflamatória e imune. Neste caso, o estímulo dos receptores *Toll-like* por produtos microbianos, leva à ativação das vias de sinalização que, conseqüentemente, acarretam a indução de genes antimicrobianos e de citocinas inflamatórias. Além disso, desencadeiam a maturação das células dendríticas, estimulam moléculas co-estimulatórias e o aumento da capacidade de apresentação de antígenos. Assim, o reconhecimento microbiano por receptores *Toll-like*, na resposta inata, contribui diretamente nas respostas imunes adaptativas aos mais variados antígenos microbianos (JANEWAY; MEDZHITOV, 2002; PASARE; MEDZHITOV, 2004).

Por outro lado, a imunidade adaptativa está relacionada à memória, à diversidade e à especificidade, de modo que esta se torna mais eficiente após sucessivas exposições a um antígeno. Pode ser subdivida entre a imunidade humoral e a imunidade mediada por células. Estas são mediadas por diferentes componentes do sistema imune e auxiliam na eliminação de diferentes tipos de microorganismos. Assim, a imunidade humoral apresenta os anticorpos (produzidos pelos linfócitos B) como mediadores de suas respostas e, por isso é o principal mecanismo de defesa contra patógenos extracelulares e suas toxinas. Os anticorpos atuam no reconhecimento específico dos antígenos, sua neutralização e na ativação de diversos mecanismos efetores que são encarregados da eliminação de um patógeno do organismo (ABBAS, 2003).

Os leucócitos essenciais para a resposta adaptativa são os linfócitos, já que estas células reconhecem especificamente os diversos tipos de microorganismos, sejam eles intracelulares ou localizados em fluidos corporais e no sangue (ROITT et al., 2003). As partículas estranhas que estimulam as respostas específicas ou são atingidos por estas, são

denominados de antígenos. Estas células conseguem reconhecer para os diferentes antígenos uma grande variedade de componentes estruturais (epítomos) em um único complexo proteico. Sendo assim, o número total de receptores apresentando especificidades antigênicas que são encontrados em linfócitos é extremamente grande, o que possibilita o combate aos diferentes tipos de microorganismos potencialmente patogênicos. Os linfócitos podem ser separados nas formas básicas de linfócitos T, linfócitos B e células NK (ROITT et al., 2003).

Os linfócitos T apresentam algumas subpopulações e uma variedade de funções. Neste caso, uma subpopulação corresponde às células T auxiliares, que estão envolvidas no desenvolvimento das células B, uma vez que as auxilia em sua divisão e diferenciação celular e também na produção de anticorpos. E o outro grupo, as células T citotóxicas, atuam na eliminação de células infectadas por vírus ou por patógenos intracelulares através da interação com as células do organismo. Os linfócitos T auxiliares e citotóxicos apresentam receptores específicos para os diferentes antígenos em sua superfície celular mas não são capazes de reconhecer e responder a antígenos solúveis. Neste caso, atuam somente na identificação de antígenos que estão codificados no Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) de outras células (DEBENEDICTIS et al., 2001; ROITT et al., 2003).

Por sua vez, os linfócitos B atuam na produção de moléculas de superfície específicas para um determinado antígeno, denominadas de anticorpos. Portanto, uma vez tendo reconhecido seu antígeno específico, as células B se dividem e se diferenciam em plasmócitos, secretando grande quantidade destas moléculas solúveis, as quais são capazes de se ligar aos antígenos que, inicialmente, estimularam a ativação das células B (ROITT et al., 2003).

Os anticorpos são distribuídos nos fluidos corporais e localizam-se em superfícies de alguns tipos celulares. Nos linfócitos B são expressos como proteína de membrana integral na superfície, enquanto que suas formas secretadas são encontradas no plasma, nas secreções da mucosa ou, em menor quantidade, no líquido intersticial dos tecidos. Além disso, os anticorpos sintetizados e secretados podem se incluir na superfície de fagócitos mononucleares, de células NK ou de mastócitos, as quais possuem receptores específicos capazes de se ligar a eles (ABBAS, 2003).

As moléculas de MHC são responsáveis pela exposição dos antígenos expostos pela célula para o reconhecimento pelos linfócitos T, uma vez que estes últimos apresentam receptores específicos para os diferentes complexos peptídicos encontrados no MHC. Estes podem ser divididos em dois tipos: MHC de classe I (MHC I) e MHC de classe II (MHC II), que contém diferentes tipos de antígenos proteicos e os apresentam a diferentes

subpopulações de linfócitos T (TCD4⁺ ou TCD8⁺). Assim, o primeiro, apresenta os antígenos de microorganismos que sofreram fagocitose e os apresentam para as células TCD4⁺, enquanto que o segundo apresenta os antígenos intracelulares citosólicos para as células TCD8⁺ (ROITT et al., 2003; ABBAS, 2003).

A imunidade mediada por células, também denominada de imunidade celular, é mediada pelos linfócitos T. Além disso, apresenta-se relacionada com a resposta imunológica a microorganismos intracelulares como, por exemplo, vírus e protozoários, que são capazes de sobreviver e se proliferar no interior de macrófagos ou células do hospedeiro, onde ficam inacessíveis aos anticorpos. Sendo assim, a imunidade celular é uma importante defesa contra infecções, de modo que promove a destruição dos patógenos internalizados por fagócitos ou a lise de células que estejam infectadas (DEBENEDICTS et al., 2001).

Apesar da resposta imune inata e a adaptativa apresentarem funções diferenciadas, uma variedade de células e moléculas atuam de maneira integrada. Desta maneira, o início e o desenvolvimento da resposta imune adaptativa dependerá de células efetoras, isto é, de células participantes da resposta inata (JANEWAY Jr., 2001). Estas últimas, apesar de não serem específicas para um determinado antígeno desempenham um importante papel num processo conhecido como apresentação de antígenos e pode influenciar no direcionamento da resposta adaptativa. Além disso, a resposta adaptativa utiliza diversos elementos da imunidade inata para eliminar os microorganismos e, assim, muitas vezes, interagem e aumentam as atividades microbidas dos mecanismos de defesa das células efetoras. Em outras interações, os fagócitos utilizam os anticorpos liberados pelas células B que se apresentam ligados a receptores específicos de um patógeno (opsonização) para um reconhecimento mais eficiente desses antígenos (DEBENEDICTS et al., 2001; ROITT et al., 2003).

5.3 MECANISMOS DE LIBERAÇÃO DAS CITOCINAS

As citocinas se caracterizam como proteínas envolvidas na emissão de sinais entre as células no decorrer da resposta imune inata e adaptativa, sendo muito importantes na composição do sistema imunológico. Elas são produzidas em resposta aos microorganismos, de forma que diferentes citocinas estimulam diversas respostas das células envolvidas na imunidade e na inflamação. No período de ativação das respostas imunes, as citocinas estimulam o crescimento e a diferenciação de linfócitos, e na fase efetora são importantes para a eliminação dos microorganismos (ROITT et al., 2003).

A secreção de uma citocina ocorre como um evento curto e autolimitado, de maneira que sua síntese normalmente é iniciada por uma nova transcrição gênica em resposta a uma ativação celular. Assim, as diferentes citocinas podem ser pleiotrópicas, ou seja, ter a capacidade de agir sobre diferentes tipos celulares, ou também apresentar redundância, isto é, diferentes citocinas produzirem os mesmos efeitos funcionais. Além disso, possuem a capacidade de influenciar a produção e os efeitos biológicos de outras citocinas, podendo expressar uma interação antagonista ou produzir efeitos aditivos, também chamados de sinérgicos (ABBAS, 2003) (Ilustração 7).

O IFN- γ é uma citocina que desempenha importantes funções na imunidade inata e na adaptativa, sendo secretada pelas células NK, pelas células TCD8⁺ e pela subpopulação de células Th1. Deste modo, atua na elevação da atividade microbicida dos macrófagos para a eliminação de microorganismos, bem como inibe a diferenciação dos linfócitos TCD4⁺ em células Th2. Além disso, ativa os neutrófilos e estimulam a atividade citotóxica das células NK (ROITT et al., 2003).

Por sua vez, as interleucinas constituem um grande grupo (IL-1 a IL-17) de citocinas sintetizadas, em sua maioria, pelas células T. Apresentam diversas funções, contudo estão, principalmente, envolvidas na indução e diferenciação de outras células que expressem receptores específicos para cada interleucina (ABBAS, 2003).

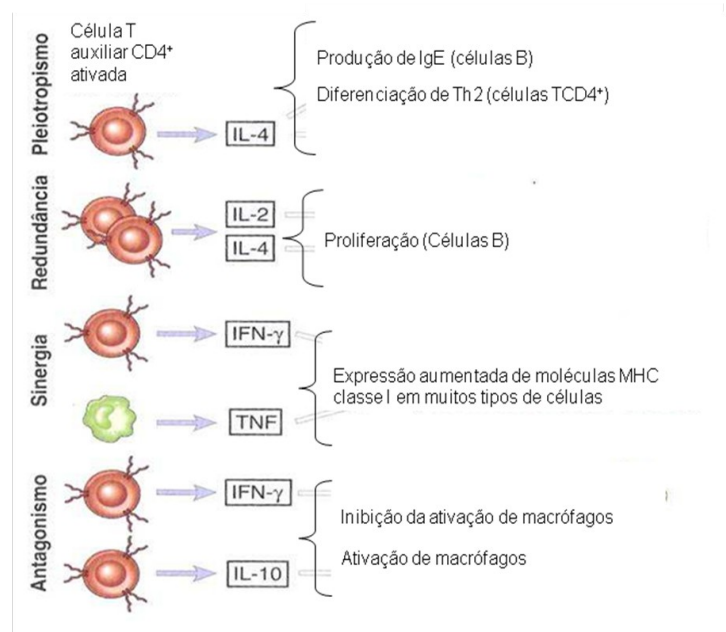


Ilustração 7: Propriedades das citocinas (ABBAS, 2003)

Uma das mais importantes interleucinas é a IL-12, a qual é a mediadora fundamental para a resposta imune inata contra os patógenos intracelulares bem como para a ativação da imunidade mediada por células, que é a resposta adaptativa para esses microorganismos. A IL-12 foi identificada como um estimulante para a atividade citotóxica das células NK e dos linfócitos TCD8⁺, mas sua ação mais importante é a ativação da síntese de IFN- γ a partir da diferenciação dos linfócitos TCD4⁺ em células Th1 (ABBAS, 2003).

Por outro lado, a IL-4 é essencial para a produção de anticorpos IgE e para a diferenciação dos linfócitos TCD4⁺ em células Th2 e para a expansão desta subpopulação. A IL-4 apresenta um efeito antagonista aos do IFN- γ , de maneira que inibe a atividade microbicida dos macrófagos e as respostas imunes mediadas por células (ROITT et al., 2003; ABBAS, 2003).

O fator de necrose tumoral (TNF) é secretado em respostas inflamatórias agudas por bactérias gram-negativas e outros microorganismos infecciosos. É sintetizado, principalmente, pelos fagócitos mononucleares ativados e atua no recrutamento de neutrófilos e monócitos para eliminarem os microorganismos presentes nos sítios de infecção. No entanto, em infecções graves pode ter uma síntese exacerbada e, conseqüentemente, resultar no agravamento sistêmico da infecção (ABBAS, 2003).

Por fim, encontra-se o fator β de crescimento (TGF- β) cuja principal função é inibir a proliferação e a ativação dos linfócitos e de outros leucócitos, o que, conseqüentemente, inibirá a ativação dos macrófagos (ROITT et al., 2003).

Para a elaboração de uma resposta aos antígenos dos microorganismos, os linfócitos TCD4⁺ auxiliares são capazes de se diferenciar em subpopulações de células efetoras que produzem distintos grupos de citocinas. Logo, executam diferentes funções efetoras e são designadas entre células Th1 e Th2 de acordo com as citocinas que produzem. Ambas as subpopulações desenvolvem-se a partir de linfócitos TCD4⁺ virgens e o tipo de diferenciação é especificado pelos estímulos iniciais durante a resposta imune, de forma que a IL-12 e a IL-4 são indutoras, respectivamente, das células Th1 e Th2 (LEVINGS; RONCAROLO, 2000) (Ilustração 8).

A atividade fundamental das células Th1 é a defesa mediada por fagócitos contra as infecções, sobretudo, de microorganismos intracelulares. O IFN- γ produzido pelas células Th1 estimulam a ativação dos fagócitos, amplificando a destruição intracelular dos microorganismos e promove a secreção de anticorpos IgG opsonizantes (IgG2) e fixadores do complemento, que facilitam a fagocitose desses patógenos. Além disso, a IL-12 secretada pelas células Th1 juntamente com a produção de IFN- γ estimula a proliferação de células

TCD8⁺, as quais estão relacionadas com a eliminação das células infectadas através do mecanismo de citotoxicidade (BACELLAR; CARVALHO, 2005).

A subpopulação Th2 apresenta-se nas respostas imunes mediadas pela IgE e pelos eosinófilos e mastócitos. Neste caso, são induzidas pela IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13 e fundamentais para a imunidade contra infecções por helmintos e nas reações alérgicas. Os anticorpos sintetizados durante esta resposta não ativam eficientemente o complemento e também não possibilitam a fagocitose. Além disso, as citocinas produzidas pelas células Th2 antagonizam as ações do IFN- γ e a ativação dos macrófagos (LEVINGS; RONCAROLO, 2000).

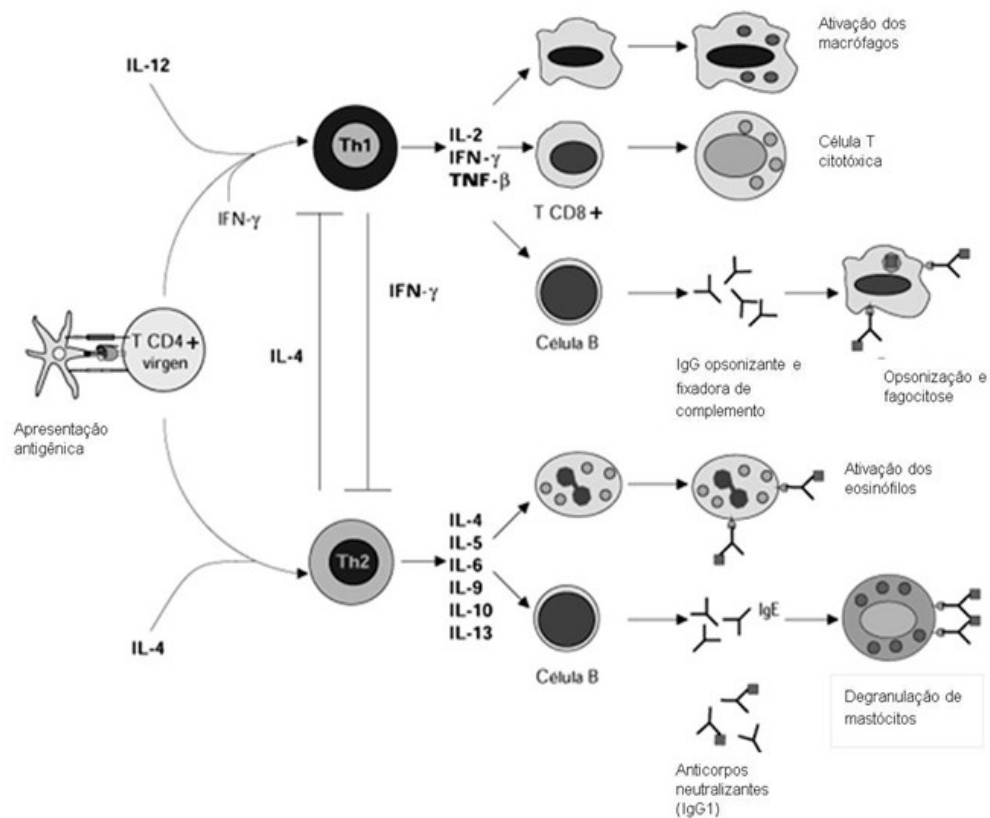


Figura 6: Funções efetoras das subpopulações de linfócitos TCD4+ (Th1 e Th2) (LÓPES-MORENO, 2002).

Ilustração 8: Funções efetoras das subpopulações de linfócitos TCD4⁺ (Th1 e Th2) (LÓPES-MORENO, 2002).

6 RESPOSTA IMUNE CONTRA A LEISHMANIOSE VISCERAL AMERICANA

Uma eficiente imunidade para a eliminação dos parasitas de *Leishmania* está relacionada com o desenvolvimento de uma resposta capaz de ativar as atividades leishmanicidas dos macrófagos (BACELLAR; CARVALHO, 2005; McFARLANE et al., 2008). Assim, apesar do parasita gerar uma grande resposta humoral, a presença de anticorpos não representa uma proteção para o indivíduo. Determinadas infecções iniciais podem não manifestar sintomas clínicos, de maneira que a proliferação dos parasitas ao nível intracelular pode persistir e alcançar o nível crônico que pode se apresentar localizado ou difundido pelos órgãos viscerais (TRIPATHI et al., 2007).

Nos pacientes que apresentam desenvolvimento da LV ocorre a diminuição da resposta imune celular contra a *Leishmania* que, por sua vez, está relacionada com a queda na proliferação linfocitária e na sua capacidade de produzir IFN- γ . Portanto, os pacientes portadores de LV apresentam o teste de hipersensibilidade tardia negativo e as células mononucleares presentes no sangue periférico não produzem IFN- γ , IL-2 e IL-12 quando em contato com antígenos do parasita (BACELLAR; CARVALHO, 2005; McFARLANE et al., 2008). Sendo assim, a resistência ao parasita está vinculada à produção de IFN- γ pelas células TCD4⁺ da linhagem Th1, as quais são estimuladas pela produção de IL-12. Por outro lado, a suscetibilidade e, portanto, a multiplicação e disseminação da *Leishmania* estão relacionadas com a progressão da resposta imune Th2, a qual produz IL-4, IL-5 e IL-10 que, nesta doença, são as citocinas responsáveis pela imunossupressão do indivíduo (BACELLAR; CARVALHO, 2005).

Apesar de a resposta imune adaptativa ser essencial para a destruição da *Leishmania*, a resposta imune inata também exerce um papel importante na resistência do hospedeiro contra infecções por parasitas intracelulares. Nesta perspectiva, a resposta inata poderia atuar tanto no controle do crescimento do patógeno durante os estágios iniciais da infecção como também na liberação de citocinas para o microambiente onde as células T específicas para o parasita se encontram (PERUHYPE-MAGALHÃES et al., 2005). Desta maneira, as células imunes (macrófagos, células dendríticas, células natural killer e células TCD4⁺ e TCD8⁺), as citocinas (IFN- γ e IL-12) e moléculas efetoras (produção de óxido nítrico por indução da sintetase de óxido nítrico) são os componentes fundamentais para uma resposta imune eficaz contra o parasita (LIESE et al., 2008).

As células encontradas na primeira fase da infecção são responsáveis pela resposta inespecífica, isto é, pela resposta inata do organismo e podem influenciar no desenvolvimento

da resistência ou da suscetibilidade do indivíduo à doença (BACELLAR; CARVALHO, 2005). Entre as células que desempenham uma função contra os parasitas da *Leishmania* estão os monócitos/ macrófagos, os neutrófilos, os eosinófilos, as células *Natural Killer* (NK) e os mastócitos (LIESE et al., 2008). Dentre essas células, os neutrófilos são responsáveis, principalmente, pela diminuição da carga parasitária de *Leishmania* nas células do baço. (PERUHYPE-MAGALHÃES et al., 2005).

As células imunes apresentam características funcionais diferenciadas, de maneira que migram em direção aos tecidos a partir de estímulos quimiotáticos (BONILLA-ESCOBAR, 2005). Além disso, possuem receptores em suas superfícies que possibilitam a sua interação com microorganismos e outras células e também grânulos internos constituídos de proteínas e enzimas que ao serem liberadas são nocivas para os microorganismos ou para os tecidos quando liberados em quantidades excessivas (JANEWAY; MEDZHITOV, 2002; BONILLA-ESCOBAR, 2005).

6.1 MECANISMOS DA RESPOSTA INATA NO COMBATE À LEISHMANIA

Entre as células da resposta inata que carregam receptores *Toll-like* estão os macrófagos, células dendríticas, mastócitos, neutrófilos, eosinófilos e células NK, cujas funções podem ser ativadas durante o processo de resposta inflamatória. Esses receptores são capazes de reconhecer estruturas comuns a diversos patógenos ou os produtos que estes produzem, acarretando a ativação da imunidade inata (PASARE; MEDZHITOV, 2004). Através da sinalização dos *Toll-like* e pela indução de genes microbianos e das citocinas e quimiocinas inflamatórias durante a resposta imune, tais células se diferenciam rapidamente em células efetoras de curta duração cujo papel principal é livrar-se da infecção, sendo isto alcançado sem o estímulo à resposta imune adaptativa (JANEWAY; MEDZHITOV, 2002; PASARE; MEDZHITOV, 2004).

No controle da *Leishmania*, os receptores TLR2, TLR3 e TLR4 foram observados nas respostas imunes das células NK e de macrófagos. Além destes, o TLR9 foi identificado como um receptor indispensável para a produção de IL-12 por células dendríticas maduras e para a indução da citotoxicidade das células NK e a secreção de IFN- γ nas infecções de LV (LIESE et al., 2008).

Para o desenvolvimento de uma resposta imune eficaz contra a *Leishmania*, inicialmente, os estímulos gerados pela presença do parasita na pele resultará na migração de neutrófilos, eosinófilos e células NK para o sítio de infecção. Esta indução pode ser direta,

quando as moléculas da própria *Leishmania* estimulam a chegada dos neutrófilos e eosinófilos, ou indireta, quando o parasita estimula a produção de citocinas como, por exemplo, a IL-8 ou proteínas inflamatórias (MIP- α e MIP- β) e quimiotáticas (MCP-1) dos macrófagos. Estas citocinas, portanto, estimularão a migração dos neutrófilos, células NK e monócitos, respectivamente (BONILLA-ESCOBAR, 2005).

No momento em que as células da resposta imune alcançam o sítio de infecção, iniciam uma interação com o patógeno que poderá determinar a resistência ou suscetibilidade do hospedeiro à infecção. Além disso, a presença de determinada célula imune no local de inflamação poderá definir se a contenção do parasita no organismo do hospedeiro será maior ou menor (BONILLA-ESCOBAR, 2005).

As células NK, por exemplo, desempenham importantes funções na resposta imune à LV, sendo fundamental para a interligação entre a resposta imune inata e a adaptativa mediada por células. Neste caso, as células NK estimulam a produção do fator de necrose tumoral (TNF- α) e de IFN- γ , que são as principais citocinas no estímulo às funções efetoras dos macrófagos e no desenvolvimento da resposta Th1 (PERUHYPE-MAGALHÃES et al., 2005).

Por sua vez, os neutrófilos são as células essenciais para o início de uma resposta inflamatória e para a destruição de diferentes microrganismos invasores através de intermediários de oxigênio ou pela liberação de enzimas líticas armazenadas em seus grânulos. Além disso, durante a resposta inflamatória, o neutrófilo é responsável pela liberação de citocinas e quimiocinas capazes de recrutarem células apresentadoras de antígenos para o sítio de infecção (McFARLANE et al., 2008; PRATES et al., 2011).

Os neutrófilos contribuem para a destruição da *Leishmania* na primeira semana de infecção, sendo fundamental para o desenvolvimento da resistência ao parasita, uma vez que estimula a proliferação da subpopulação Th1. Em pacientes infectados por *L. infantum* a ausência de neutrófilos não provoca alterações significativas na quantidade de parasitas no fígado, mas permitem a proliferação destes no baço. Por sua vez, em infecções por *L. donovani* há um aumento nos índices de parasitas tanto no fígado quanto no baço decorrente da maior liberação de IL-10 nestes órgãos infectados (McFARLANE et al., 2008; PRATES et al., 2011).

Um fator essencial para a eliminação de amastigotas dentro dos granulomas hepáticos é a liberação de NO. Deste modo, a ausência de neutrófilos no microambiente dos órgãos infectados por *Leishmania* estimulam o desenvolvimento de uma resposta imune da subpopulação Th2, ou seja, possibilita o aumento da carga parasitária. Logo, a ausência dessas

células imunes gera a progressão da LV com consequente aumento da carga parasitária no baço e na medula óssea e um pequeno aumento no tamanho do fígado (McFARLANE et al., 2008).

A resposta imune protetora no fígado está relacionada à formação de granulomas que a partir da produção de IFN- γ e IL-12 e baixos níveis de TNF- α contribuem para o controle da proliferação do parasita. No baço, a esplenomegalia corresponde à resistência do parasita e é uma característica da LV, sobretudo nas infecções por *L. donovani*. Neste órgão, a falta de neutrófilos pode ser relacionada com a elevação dos níveis séricos de IL-4 e IL-10 e, consequentemente, com a queda da produção de IFN- γ pelas células TCD4⁺ e TCD8⁺ (McFARLANE et al., 2007).

Após a primeira semana de infecção por *L. donovani*, a ausência de neutrófilos não influencia diretamente na variação do número de *Leishmanias* no fígado, pois este órgão contém cerca de 80% a 90% dos macrófagos teciduais. Ou seja, a atuação de neutrófilos no fígado não apresenta grande relevância. Logo, a suscetibilidade do indivíduo à infecção por *Leishmania* ocasiona, predominantemente, a esplenomegalia, dificuldades na maturação dos granulomas hepáticos, bem como diminuição da atividade do nitrato sintetase (enzima que catalisa a síntese de NO (iNOS)) (McFARLANE et al., 2008).

Durante o repasto sanguíneo da fêmea hematófaga de flebotomíneo ocorre a inoculação das formas promastigotas metacíclicas da *Leishmania* no hospedeiro. Sendo assim, o parasita se adere a um fagócito a partir de receptores presentes em sua superfície celular e, após ser fagocitado, permanece dentro do fagosossomo. Este, em seguida, é associado a vários lisossomos para destruir o patógeno, de maneira que apresentam todo o maquinário necessário para a destruição da *Leishmania* (HANDMAM; BULLEN, 2002) (Ilustração 9).

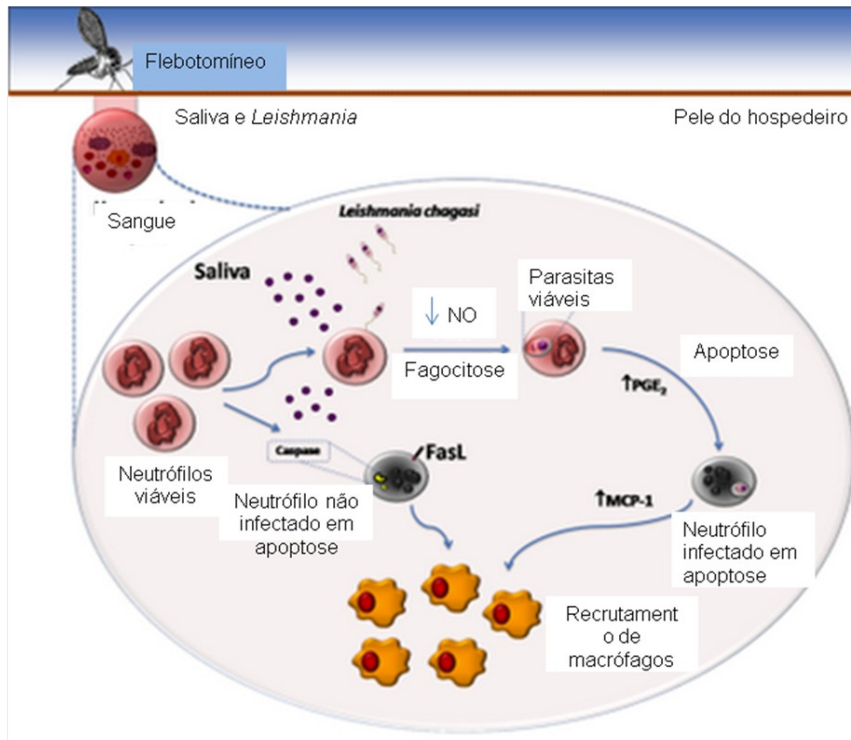
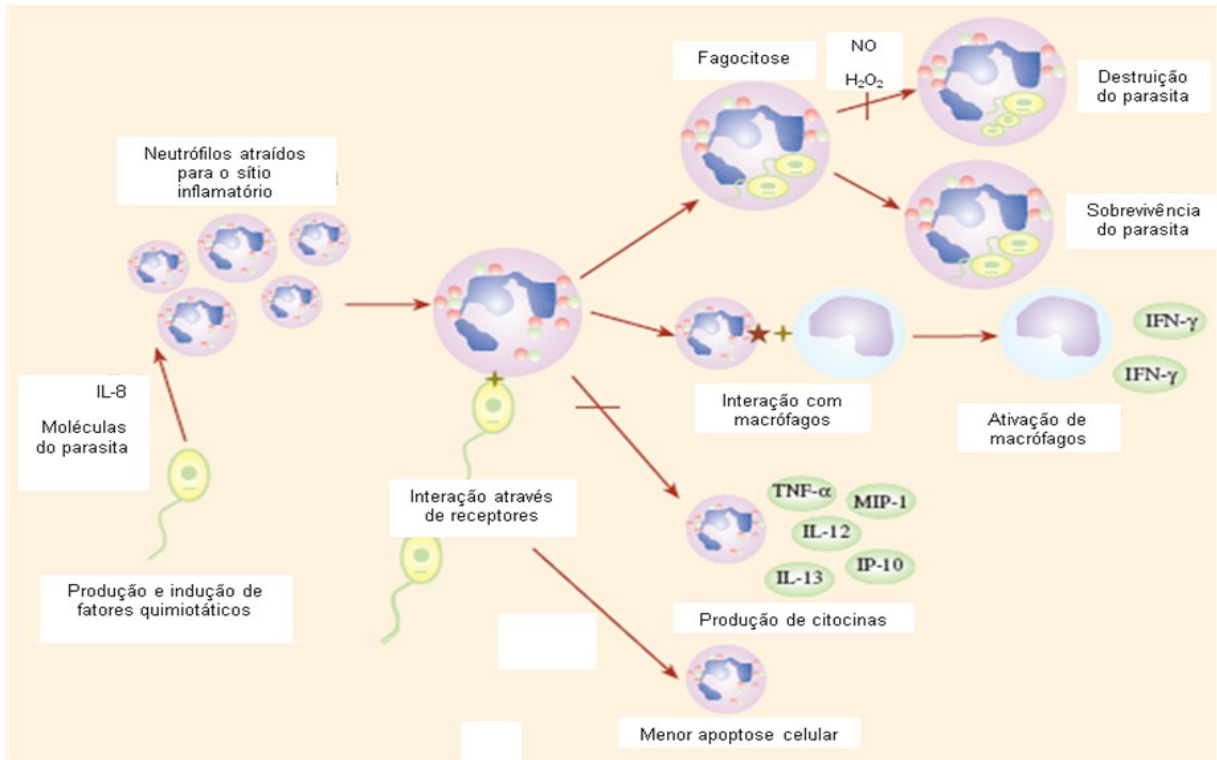


Ilustração 9: Eventos iniciais na infecção por *Leishmania* (PRATES et al., 2011)

As formas promastigotas são fagocitadas, inicialmente, por neutrófilos. Estas células são as primeiras a migrarem para o local de infecção e podem ser destruídas através da ação de produtos do metabolismo oxidativo, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), atividade enzimática e produção de óxido nítrico (NO). Os neutrófilos infectados começam a secretar quimiocinas como a IL-8 e MIP-1 β , moléculas importantes para atrair mais neutrófilos e macrófagos para o sítio de infecção (BACELLAR; CARVALHO, 2005) (Ilustração 10).

Dentro do fagolisossomo dos macrófagos, principalmente, a *Leishmania* sofre uma série de alterações bioquímicas e metabólicas através das quais ela se transforma na forma amastigota intracelular. Neste caso, a *Leishmania* é capaz de sobreviver no meio intracelular, pois resiste às enzimas microbidas e ao pH ácido do meio. Pode também inibir a fusão do vacúolo com o fagolisossomo e, além disso, aproveitar os nutrientes que entram na célula para a sua sobrevivência. Ou seja, desenvolvem mecanismos de escape para a atividade microbida do macrófago, de maneira que conseguem se proliferar e romperem os macrófagos para infectarem outras células, disseminando a infecção (HANDMAM; BULLEN, 2002).



↗ Vias da resposta imune que são alteradas pelos mecanismos de escape da *Leishmania*.

Ilustração 10: Interação entre os neutrófilos e a *Leishmania* na resposta inata (BONILLA-ESCOBAR, 2005).

O controle da LV é dependente da imunidade mediada por células, porém, dentre as células fagocitárias, os macrófagos apresentam duas características distintas e opostas durante a instalação intracelular da *Leishmania*. De um lado, é a principal célula responsável pelo controle e destruição dos protozoários parasitas intracelulares através de mecanismos oxidativos ou não-oxidativos. Por outro lado, funciona como hospedeiro para a *Leishmania*, proporcionando um ambiente celular estável que permite a sobrevivência e proliferação desta e, conseqüentemente, a permanência e disseminação da infecção (BACELLAR; CARVALHO, 2005; MOUGNEAU et al., 2011).

Nesta perspectiva, para controlar a proliferação intracelular da *Leishmania*, torna-se indispensável à produção de NO pela iNOS, uma vez que a *Leishmania* é suscetível aos reativos intermediários de nitrogênio gerados por neutrófilos e macrófagos. A iNOS é estimulada, principalmente, pela liberação de IFN-γ, o qual estimula a ação microbicida mediada pelo NO. Assim, a liberação de NO acarreta na morte das *Leishmanias* que parasitam os macrófagos e durante o desenvolvimento da LV a iNOS é fundamental para o controle da carga parasitária no fígado (BACELLAR; CARVALHO, 2005; LIESE et al., 2008).

Além disso, a morte programada da célula (apoptose) é um processo vantajoso para o organismo hospedeiro. Isto é, as células fagocíticas evitariam a sobrevivência dos parasitas por um tempo muito prolongado em seu interior, além de diminuir os danos aos tecidos provocados por suas degranulações. Entretanto, a apoptose pode ser induzida ou retardada por estímulos produzidos pelos patógenos. No caso da leishmaniose, tanto a presença intracelular do parasita como seus constituintes podem inibir ou retardar a apoptose dos macrófagos. Deste modo, os parasitas sobrevivem por mais tempo e podem infectar outras populações celulares (PERUHYPE-MAGALHÃES et al., 2005).

A atividade leishmanicida do macrófago pode ser influenciada pela produção do fator de crescimento (TGF- β). Esta citocina está relacionada com a inibição das atividades dos macrófagos, diminuição da produção de IFN- γ e redução na expressão de moléculas de MHC II. Além disso, está relacionado com a supressão da produção de NO em macrófagos infectados por *Leishmania*, ou seja, favorece o desenvolvimento da infecção (BACELLAR; CARVALHO, 2005).

Níveis de NO produzidos por macrófagos ativados por IFN- γ ou pelo fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) estão relacionados com a resistência à infecção. Por outro lado, os não possuidores do gene de iNOS não tem a capacidade de controlá-la. Logo, percebe-se que os macrófagos e as células NK apresentam funções importantes no combate à *Leishmania*. Isto é, a produção de IL-12 por macrófagos é capaz de estimular a citotoxicidade e a produção de IFN- γ pelas células NK, além de favorecer o desenvolvimento da imunidade mediada por células, neste caso, a Th1 (PERUHYPE-MAGALHÃES et al., 2005; MOUGNEAU et al., 2011).

6.2 MECANISMOS DE ESCAPE DO PARASITA

A *Leishmania* consegue suportar, inibir ou controlar a atividade leishmanicida do macrófago e sob determinadas circunstâncias pode dificultar a indução das respostas imunes inata e adaptativa (TRIPATHI et al., 2007). Além de sobreviver e se desenvolver no interior de macrófagos como outros patógenos, a *Leishmania* é capaz de desenvolver mecanismos peculiares para a sua sobrevivência no interior celular e, portanto, manter o seu ciclo de vida. Nesta perspectiva, torna-se necessário que o parasita não só resista às condições adversas encontradas no flebotomíneo, mas também ao sistema imune do hospedeiro antes de entrar no macrófago. Logo, para impedir a sua destruição, a *Leishmania* apresenta em sua superfície celular moléculas de lipofosfoglicano (LPG), metaloprotease gp63 e vários receptores que

facilitem a sua endocitose. Em seguida, a *Leishmania* é capaz de impedir a sua destruição no fagolisossomo do macrófago através de adaptações que inibem os mecanismos de defesa celular (CUNNINGHAM, 2002).

Usando diversos receptores, as promastigotas podem também entrar nas células dendríticas da epiderme, nas quais ocorrerá a transformação para as formas amastigotas. Apesar de os parasitas não conseguirem se multiplicar nessas células, elas fornecem um ambiente favorável à sua sobrevivência, pois não produzem NO (CUNNINGHAM, 2002).

Em suma, o engolfamento de promastigotas de *Leishmania* por células do sistema imune ausentes de iNOS, provavelmente as células dendríticas, proporcionará a permanência e multiplicação do parasita, logo o desenvolvimento da leishmaniose. Por outro lado, quando ocorre o engolfamento de promastigotas por macrófagos, os parasitas desenvolvem mecanismos de escape que favorecem a sua sobrevivência no hospedeiro. Assim, são capazes de produzir moduladores de citocinas que diminuam os níveis de moléculas solúveis fundamentais para a sua destruição como, por exemplo, o NO. Além disso, podem interferir no processo de apresentação de antígenos através de uma menor expressão de moléculas de MHC ou diminuir os caminhos de sinalização entre as células infectadas e os linfócitos T (CUNNINGHAM, 2002) (Ilustração 11).

Um dos primeiros mecanismos de resposta imune à *Leishmania* é a ativação do sistema complemento. Apesar de as promastigotas metacíclicas não apresentarem resistência à lise por esse mecanismo, elas conseguem utilizá-lo para a entrada no macrófago, uma vez que estes reconhecem os receptores do complemento. Neste caso, as moléculas de C_{3b} são depositadas na superfície celular do parasita, mas as longas moléculas de LPG evitam que o complexo de ataque à membrana (C_{5b-9}) seja formado na membrana das promastigotas e, conseqüentemente, que as *Leishmanias* sejam destruídas (CUNNINGHAM, 2002).

Sendo assim, após a endocitose, a *L. infantum (chagasi)* atinge diversos órgãos liberando TGF- β e, assim como a *L. donovani* suprime a resposta macrofágica do hospedeiro e a produção de IFN- γ . Neste caso, os parasitas apresentam tropismo pelo fígado e pelo baço, nos quais se desenvolvem respostas imunes que poderão contribuir para o aumento a carga parasitária ou para a eliminação da *Leishmania* (TRIPATHI et al., 2007).

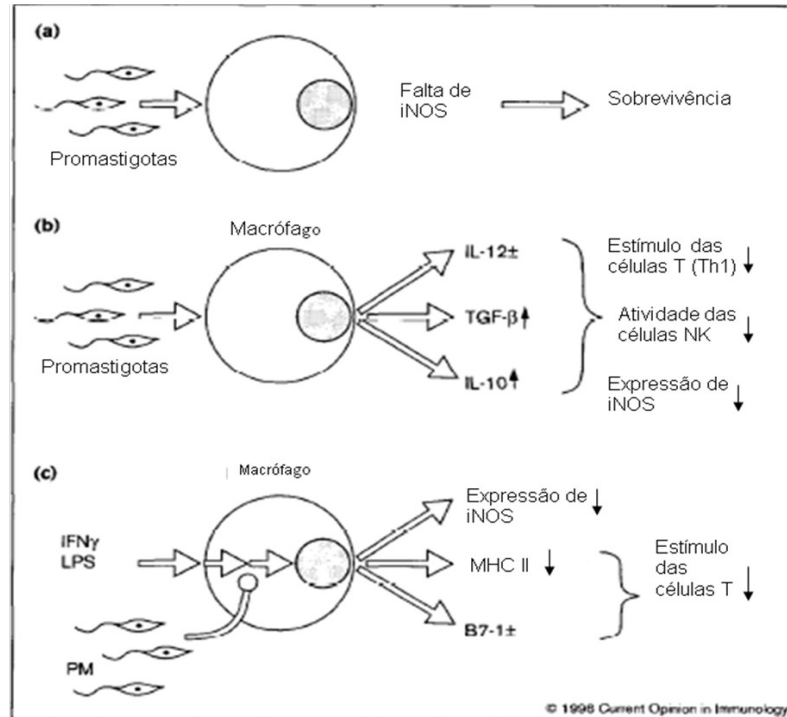


Ilustração 11: Mecanismos de escapes utilizados pela Leishmania. (BOGDAN et al., 1996)

Outro fator que favorece a manutenção da Leishmania no hospedeiro pode ser encontrado no momento de inoculação, pois a saliva do inseto vetor apresenta um papel essencial no processo inflamatório. Neste caso, aumenta a vasodilatação e o fluxo sanguíneo, além de apresentar peptídeos que inibem a produção de $\text{TNF-}\alpha$ pelos macrófagos e reduz a sua capacidade de liberação de NO. Durante o repasto sanguíneo, a saliva do flebotomíneo pode também inibir a coagulação e reduzir a ativação da resposta inflamatória, de forma que pode direcionar a resposta imune do organismo em direção à subpopulação Th1 ou Th2 (ALMEIDA et al., 2003; PRATES et al., 2011) (Ilustração 12).

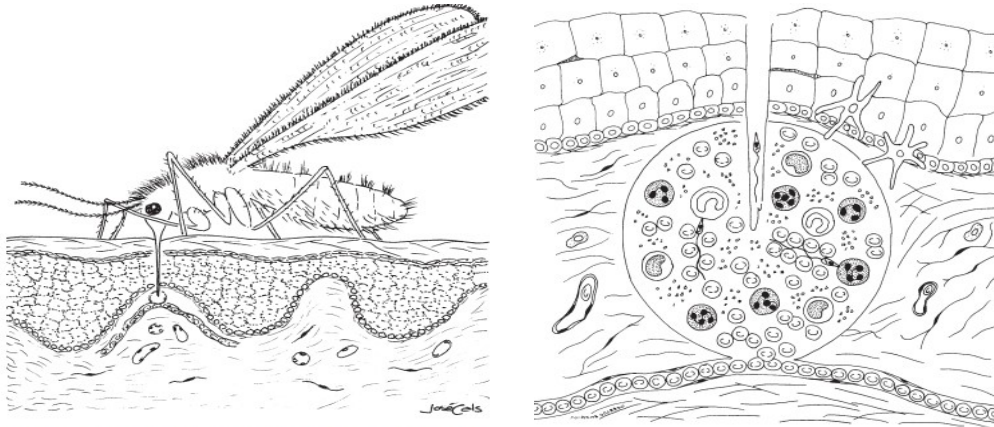


Ilustração 12: Inseto vetor da *Leishmania* durante o repasto sanguíneo (ALMEIDA et al., 2003)

6.3 MECANISMOS DA RESPOSTA ADAPTATIVA CONTRA A LEISHMANIA

Apesar da ativação da resposta inata, na maioria dos casos, esta não é suficiente para combater os parasitas de *Leishmania*, por isso, torna-se necessário ativar a resposta adaptativa. Sendo assim, o sistema imune inato é capaz de induzir a especificidade do sistema imune adaptativo aos antígenos de *Leishmania* através da expressão de moléculas de MHC na superfície das células especializadas na apresentação de antígenos (JANEWAY; MEDZHITOV, 2002).

No processo de desenvolvimento de uma resposta imune específica para a *Leishmania* é essencial que as células inatas apresentem os epítomos do patógeno para os linfócitos T. No caso da LV, uma apresentação de antígenos adequada estimulará a proliferação de linfócitos TCD4⁺ da subpopulação Th1 e, conseqüentemente, a ativação dos macrófagos que irão controlar a infecção (BONILLA-ESCOBAR, 2005).

A ausência de células T acarreta o desenvolvimento da leishmaniose após a inoculação do parasita no hospedeiro, enquanto que a presença de células T normais favorece a resistência. Sendo assim, na resposta imune adaptativa à *Leishmania*, as células TCD4⁺ da linhagem Th1 apresentam papel fundamental na resistência e as células TCD8⁺ participam mais efetivamente da memória imunológica do que da eliminação do parasita (GOTO; LINDOSO, 2004; TRIPATHI et al., 2007).

A IL-12 é a principal citocina para a progressão de uma resposta imune protetora contra a *Leishmania* (Th1) e para o controle e cura da infecção. É fundamental para desencadear as atividades das células NK e, portanto, controla a sobrevivência do parasita no hospedeiro (GOTO; LINDOSO, 2004; LIESE et al., 2008).

Existem diversos mecanismos relacionados à imunidade contra as leishmanioses. No caso da LV, os pacientes resistentes à infecção possuem uma resposta imune baseada no aumento da resposta linfoproliferativa de células TCD4⁺ e TCD8⁺, na produção de IL-2, IFN- γ e IL-12, a qual está ligada à produção do TGF- β . Por outro lado, a suscetibilidade está vinculada à resposta imune mediada pela linhagem Th2 e, conseqüentemente, pela produção de IL-4 e IL-10, que são citocinas mediadoras das alterações imunológicas observadas na LV (GOTO; LINDOSO, 2004; BACELLAR; CARVALHO, 2005; McFARLANE et al., 2007).

Portanto, em indivíduos suscetíveis, a resposta imune do indivíduo estimula a proliferação da linhagem de células Th2 e a produção de IL-4 e IL-10. Estas citocinas são responsáveis pela inibição das atividades leishmanicidas dos macrófagos e acarretam o desenvolvimento da doença. Nos pacientes que apresentam LV ativa, há um aumento nas taxas de eosinófilos e na produção de IL-4 e IL-10, além de uma diminuição na produção de IL-12, IFN- γ , TNF- α . Deste modo, percebe-se que o desenvolvimento de uma resposta Th2 é fundamental para a multiplicação do parasita e, conseqüentemente, para o estabelecimento e progressão da doença (PERUHYPE-MAGALHÃES et al., 2005).

A IL-10 desempenha as suas funções e, ao mesmo tempo, inibe a secreção de citocinas que estejam vinculadas à resposta Th1. Esta inibição pode ocorrer no período de transcrição do mRNA ou no pós-transcricional, mas em todos os casos está associado à progressão dos sinais e sintomas característicos da LV, favorecendo a proliferação da *Leishmania* nos sítios de infecção (McFARLANE et al., 2008). Indivíduos portadores de LV podem aumentar a expressão de mRNA de IL-10 na medula óssea ou nas células dos nódulos linfáticos. Sendo assim, a adição de anticorpos monoclonais anti-IL-10 acarreta na reestruturação da resposta linfoproliferativa dos linfócitos com elevação da linhagem Th1 e a produção de IFN- γ pelas células monocíticas do sangue periférico (TRIPATHI et al., 2007).

Dentre as diferentes respostas imunes apresentadas pelos indivíduos acometidos pela LV, tem-se que os pacientes assintomáticos desenvolvem melhores mecanismos antiparasitários, estando associados à proteção contra a doença e a ausência de sinais e sintomas clínicos. Em outros casos, os indivíduos curados apresentam um aumento nas taxas de neutrófilos e células NK, que estão ligados ao aumento de monócitos e da produção de IL-12. Sendo assim, pode-se perceber a existência de uma relação entre as citocinas e células da resposta imune inata com certos fatores da resposta adaptativa que possibilitam a criação de um ambiente de células específicas contra a *Leishmania* ou, caso contrário, na proliferação do parasita (PERUHYPE-MAGALHÃES et al., 2005).

Em pacientes com LV ativa, a forma clínica da doença será determinada de acordo com a resposta imune apresentada pelo indivíduo. Logo, a infecção sistêmica é caracterizada pela disseminação da *Leishmania* pelos linfonodos, baço, fígado, medula óssea e outros órgãos e aumento na quantidade de anticorpos circulantes. Além disso, há a ausência da resposta mediada por células Th1, uma diminuição na produção de IL-12, IFN- γ e alta produção de IL-4 e IL-10. Sendo assim, apresentam o aumento do fígado e do baço (hepatoesplenomegalia), que são sinais característicos da doença e consequências da elevação da carga parasitária nesses órgãos (PERUHYPE-MAGALHÃES et al., 2005; TRIPATHI et al., 2007).

Por outro lado, em indivíduos assintomáticos encontrados em regiões endêmicas, é observado o desenvolvimento de uma resposta Th1 protetora e permanente, de maneira que a estimulação da produção de IL-12 tem maior expressividade nestes pacientes e naqueles que foram curados da doença, ao contrário dos pacientes que apresentam a forma ativa da doença (PERUHYPE-MAGALHÃES et al., 2005; LIESE et al., 2008).

Após a cura, os níveis de IFN- γ , IL-4 e IL-10 são mantidos, de maneira que sugerem um equilíbrio das respostas imunes Th1 e Th2. Apesar da expressão de IL-10 estar associada às propriedades inibitórias dos macrófagos do hospedeiro, neste caso, o aumento de sua expressão pode indicar um papel de balanceamento. Ou seja, impede uma extrema polarização da resposta imune e, conseqüentemente, diminui os danos teciduais (TRIPATHI et al., 2007; MOUGNEAU et al., 2011).

O resultado da infecção por *Leishmania* é determinado pelo equilíbrio entre as duas subpopulações de células T específicas para o antígeno. Assim, as infecções por espécies do parasita que provocam a LV apresentam desenvolvimento diferenciados, podendo resultar em uma infecção subclínica com a presença de uma imunidade protetora ou progredir para a doença clínica que pode ser fatal se não tratada rapidamente (TRIPATHI et al., 2007). Esses fatores e as manifestações clínicas da doença, portanto, serão determinadas por diferentes características do hospedeiro e do parasita que podem estar relacionadas à carga genética do indivíduo, à virulência e à espécie da *Leishmania* ou à área de inoculação do parasita (ALVAR et al., 2008).

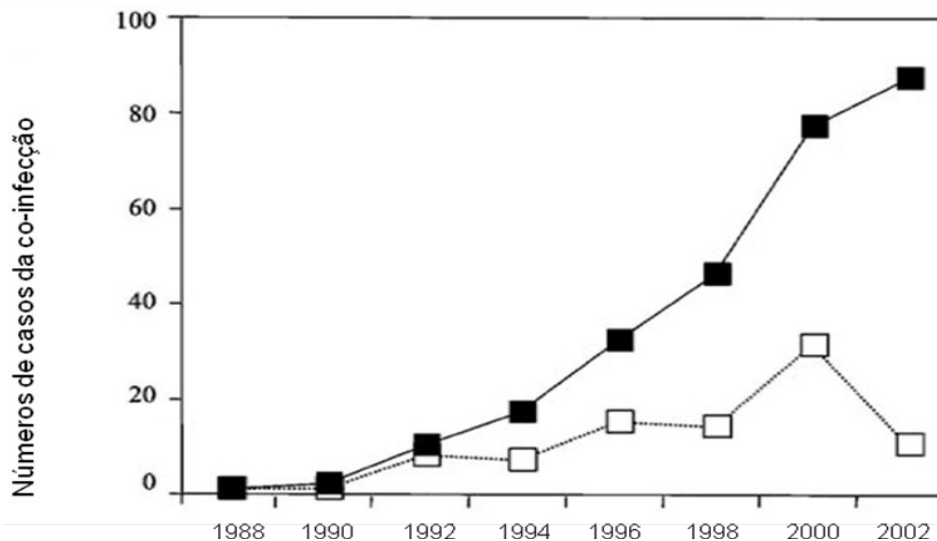
7 RESPOSTA IMUNE DA CO-INFECÇÃO LV/HIV

A leishmaniose é considerada um problema de saúde pública, sobretudo nas áreas tropicais e subtropicais do mundo, de modo que as maiores taxas de indivíduos apresentando a co-infecção LV/HIV distribuem-se por essas áreas. De acordo com dados clínicos e epidemiológicos, a *Leishmania* pode ser encontrada como um parasita oportunista em pacientes imunocomprometidos pela AIDS (OLIVIER et al., 2003).

A concomitância entre a leishmaniose e a infecção por HIV foi registrada pela primeira vez em 1985 na medida em que surgiram diversos casos da co-infecção em 35 países da Europa. A implantação da terapia anti-retroviral (HAART) acarretou a diminuição das taxas de indivíduos co-infectados nessas localidades, uma vez que este tratamento estimula a reconstituição do sistema imune e, conseqüentemente, o aumento da contagem de linfócitos TCD4+ e a queda da carga viral (LINDOSO, 2006; ALVAR et al., 2008; COTA et al., 2011). Entretanto, os índices de indivíduos co-infectados têm aumentado em diversas áreas onde essas duas doenças se sobrepõem, principalmente, pela urbanização da LV, mas também pode ser originada do excesso de migrantes que adquirem o HIV nas áreas urbanas e, em seguida retornam para as zonas rurais onde a leishmaniose é endêmica (RABELLO et al., 2003; ALVAR et al., 2008).

Nas áreas endêmicas de leishmaniose, a infecção por HIV amplia os riscos de pacientes desenvolverem LV, além de reduzir as probabilidades de resposta terapêutica e aumentar as chances de reincidências. Ao mesmo tempo, a LV constrói um ambiente favorável ao progresso da infecção por HIV no hospedeiro e, conseqüentemente, para o desenvolvimento da AIDS. Desta forma, a associação entre a LV e o HIV atinge as células imunes do indivíduo, provocando uma ineficiência da resposta imunológica e, portanto, o desenvolvimento da co-infecção (ALVAR et al., 2008).

O Brasil é considerado o ponto de partida para a disseminação da AIDS na América do Sul, tendo o primeiro caso registrado em 1983. Os investimentos do país em medidas de prevenção e tratamento da AIDS contribuíram para a manutenção da prevalência de indivíduos infectados, porém ocorreu um aumento da infecção por HIV em regiões onde a leishmaniose também está presente. Sendo assim, de 16.120 casos de LV registrados no Brasil entre 2001 e 2005, 2% (315) deles correspondiam a casos da co-infecção LV/HIV (ALVAR et al., 2008) (Ilustração 13).



□

■

Ilustração 13: Números de casos da co-infecção Leishmania/HIV no Brasil em períodos bienais (■) e cumulativos (□) (RABELLO et al., 2003).

A existência de uma co-infecção do vírus HIV com determinados microorganismos, inclusive com os parasitas de Leishmania, pode acarretar a progressão de uma patologia direta e a sua morbidade. Além disso, pode funcionar como um importante e ativo componente para o desenvolvimento da infecção por HIV em direção à AIDS. Ou seja, o vírus apresenta um grande período de latência, de modo que o indivíduo mesmo sem desenvolver a AIDS irá apresentar variadas e repetidas infecções oportunistas devido ao seu estado de imunossupressão (OLIVIER et al., 2003).

As infecções oportunistas podem induzir respostas inflamatórias e ocorrências de sinalização celular no hospedeiro que são capazes de estimular a replicação viral. Neste sentido, a ativação celular após a infecção por patógenos oportunistas pode levar a ativação de determinadas sequências dos elementos regulatórios (LTR) do HIV-1, os quais podem induzir a expressão de genes do HIV e, portanto, a aceleração na replicação viral e o desenvolvimento da doença (OLIVIER et al., 2003).

Durante a co-infecção LV/HIV, a *Leishmania* tem os macrófagos como células-alvo, enquanto que o HIV atinge os linfócitos TCD4⁺ e também pode utilizar os macrófagos como veículo de disseminação pelo corpo do hospedeiro. Sendo assim, a existência dos dois patógenos no organismo produz efeitos cumulativos no sistema imune que favoreçam as suas sobrevivências. Neste caso, a *Leishmania* através de seus mecanismos de escape e de suas moléculas de lipofosfoglicanos (LPG) permite a maior replicação do HIV e a progressão da AIDS, ao mesmo tempo em que, o HIV debilita o sistema imune, favorecendo a sobrevivência da *Leishmania* (ALVAR et al., 2008) (Ilustração 14).

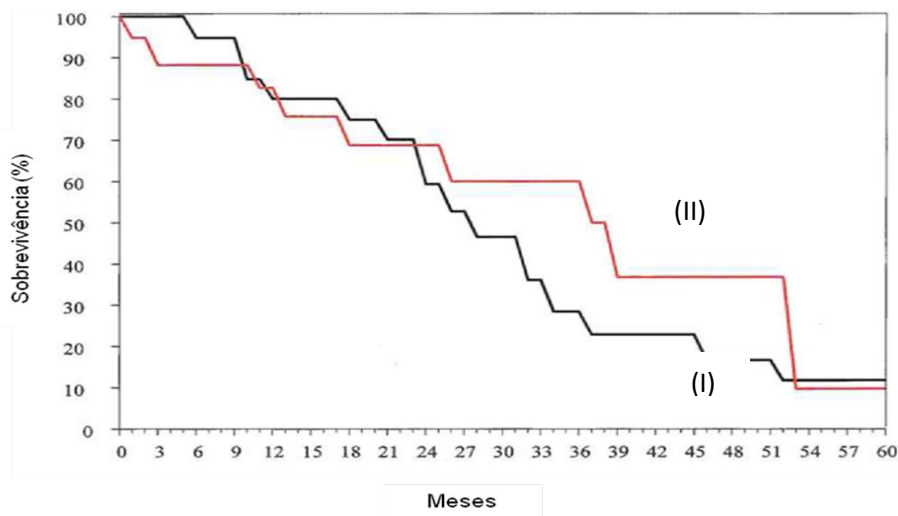


Ilustração 14: Sobrevivência de pacientes co-infetados com LV/HIV (I) e pacientes com AIDS e sem LV (II) que receberam tratamento na Itália (RUSSO et al., 2003).

A superfície celular da *Leishmania* é formada por uma camada de LPG além de diversos componentes estruturais que poderiam induzir a replicação viral em diferentes células monocíticas infectadas pelo HIV (ALVAR et al., 2008). Após a inoculação das promastigotas metacíclicas de *Leishmania* no hospedeiro humano, o LPG é o principal glicoconjugado expresso e organizado de maneira a permitir a entrada, a permanência e a sobrevivência do parasita no espaço intracelular dos macrófagos. Desta forma, após a endocitose do parasita pelo macrófago, a *Leishmania* perde grande parte de sua camada de LPG, restando somente componentes intramembranares como, por exemplo, o núcleo de fosfatil inositol (core-PI) o qual somente é encontrado na superfície das formas amastigotas (OLIVIER et al., 2003).

Portanto, quando o parasita se encontra dentro do fagolisossomo, a função do LPG está relacionada à alteração dos componentes de sinalização das células do hospedeiro e também à

inibição de diversas atividades macrofágicas, inclusive a produção de radicais oxigenados. Assim, a *Leishmania* desenvolve diversos mecanismos de escape que diminuem a capacidade do sistema imune de combater a infecção desencadeada pelo HIV. Portanto, contribui diretamente para a sobrevivência do vírus, favorecendo a imunossupressão do indivíduo (OLIVIER et al., 2003).

Durante a co-infecção LV/HIV, a LPG de *Leishmania* acelera o processo de replicação viral dentro das células monocíticas de um paciente com infecção viral latente e, além disso, pode induzir a transcrição de LTR do HIV e sua replicação nos linfócitos TCD4⁺ (OLIVIER et al., 2003). Mas, o parasita não interfere diretamente na expressão viral e sim, configura o ciclo de vida do vírus através de fenômenos indiretos que estimulam a liberação de TNF- α , de IL-1 e pode regular a expressão de genes de replicação do HIV pelo fator transcripcional (NF-k β) (ALVAR et al., 2008).

Durante a LV, a imunidade está diretamente relacionada a progressão da infecção, de maneira que a presença de uma resposta linfoproliferativa das células Th1 está relacionada à resistência (COTA et al., 2011). O desenvolvimento da infecção viral pode gerar a diminuição ou a ausência de uma imunidade protetora, permitindo assim, a proliferação da *Leishmania* nas células do hospedeiro que, conseqüentemente, atuarão no estímulo à replicação do HIV ou de seus produtos (OLIVIER et al., 2003) (Quadro 1).

Efeitos da infecção de *Leishmania* sobre a infecção por HIV

CAUSA	CONSEQUÊNCIA
↑ Transcrição do LTR do HIV	↑ Expressão do gene para a replicação do HIV
LPG da <i>Leishmania</i>	Acelera a replicação viral em células monocíticas
↑ TNF- α e IL-1	↑ Expressão do gene de HIV
↑ Expressão do receptor CCR5	↑ Infecção por HIV → ↑ carga viral

Efeitos da infecção de HIV sobre a infecção por *Leishmania*

CAUSA	CONSEQUÊNCIA
Imunossupressão	↑ Sobrevivência de <i>Leishmania</i> Aparecimento de <i>Leishmania</i> em localizações atípicas Leishmaniose mais severa

↓ Resposta Th1 (Th1 → Th2)	↓ Resposta protetora para patógenos intracelulares (↓ atividade macrófágica, ↓ produção de citocinas e ↓ fagocitose)
↑ Resposta Th2	↑ Taxa de reincidências clínicas após tratamento
↑ TGF- β (inibidor da resposta imune)	↑ Suscetibilidade para a leishmaniose sistêmica

Quadro 1: Características das infecções concomitantes de Leishmania e HIV / Fonte: Autor

A imunidade mediada por células é profundamente interrompida durante a infecção por HIV, uma vez que o vírus pode interagir com linfócitos, monócitos, macrófagos e células B. Isto é, o HIV corrobora com a destruição de células T e macrófagos que incapacitam o sistema imune do hospedeiro, impedindo que este previna e combata diversas infecções oportunistas. Neste caso, as taxas de destruição das células TCD4⁺ se encontram correlacionadas com o aparecimento das infecções oportunistas e também com o agravamento das manifestações clínicas. (OLIVIER et al., 2003).

Um organismo infectado por HIV pode provocar defeitos no funcionamento das células apresentadoras de antígenos do hospedeiro. Isto ocorre uma vez que o vírus pode, eventualmente, infectar macrófagos para se disseminar pelo organismo e, portanto, induzir a secreção de citocinas relacionadas à subpopulação Th2. Como as respostas eficazes para o controle das infecções dependem frequentemente da presença de citocinas da linhagem de células Th1, o perfil imunológico dos pacientes torna-se favorável a multiplicação e disseminação dos parasitas. Assim, a imunossupressão induzida pela infecção por HIV pode permitir a progressão de uma infecção latente de Leishmania e, por isso, facilitar o desenvolvimento da LV (OLIVIER et al., 2003). Isto é, a infecção pelo vírus pode estimular a liberação de IL-4 e IL-10 e diminuir a produção de IFN- γ , IL-2 e IL-12 pelas células monocíticas do sangue periférico, de maneira que induzem a proliferação da linhagem Th2 e, portanto, permite a sobrevivência da Leishmania (ALVAR et al., 2008).

Pacientes co-infectados apresentam altas taxas de linfócitos T, as quais apresentam em sua superfície celular receptores CCR5⁺ logo, há uma grande quantidade de receptores circulantes devido a estímulos da Leishmania. O CCR5⁺ é o principal receptor do HIV responsável pela entrada do vírus nas células-alvo, estando também relacionado à alta expressão de uma alta carga viral e pela progressão acelerada da infecção do HIV. Entretanto, a replicação viral não é a única consequência da co-infecção, pois nestes pacientes, também se observam altas incidências da disseminação da Leishmania com o aumento da parasitemia do sangue periférico, o que funciona como um indicador do aumento parasitário incontrolado (ALVAR et al., 2008).

Ambos os microorganismos podem invadir e se proliferar nos macrófagos, estabelecendo interações que exacerbem os efeitos das infecções. Logo, o aumento da carga parasitária ocorre em maiores proporções durante a concomitância com o HIV do que em uma infecção somente por *Leishmania*, uma vez que o vírus causa danos nas funções efetoras do sistema imunológico e, sobretudo nas atividades macrofágicas como a fagocitose, a destruição de patógenos intracelulares e a produção de citocinas. Além disso, o ciclo de vida do vírus HIV é caracterizado por um período de latência e subsequente replicação viral que permite a proliferação de patógenos oportunistas que possam modificar o perfil imunológico do indivíduo e aumentar as consequências da infecção por HIV (ALVAR et al., 2008).

A infecção por *Leishmania* também está associada a prejuízos as células do sistema imune e a queda dos índices de células TCD4⁺ do organismo. Sendo assim, a resistência e suscetibilidade do hospedeiro estão relacionados, respectivamente, as respostas Th1 e Th2. Além disso, a produção de TNF- α auxilia na progressão da infecção viral e é relatada em indivíduos com LV ativa. Ou seja, ambas as infecções geram uma depressão do sistema imune (OLIVIER et al., 2003).

Nesta perspectiva, o desenvolvimento da LV em indivíduos imunocompetentes está correlacionada a ativação das células B (resposta humoral) e consequente supressão das respostas imunes mediadas por células, que são eficazes contra o parasita. Este último padrão de resposta imune é essencial para o processo de recuperação do indivíduo e também para a proteção contra outras infecções, de maneira que é reestabelecido após o sucesso terapêutico. Os pacientes co-infectados com HIV apresentam menores concentrações de anticorpos anti-leishmania e, em muitos casos, maiores taxas de reincidências clínicas de LV após o tratamento contra a leishmaniose do que os imunocompetentes (OLIVIER et al., 2003).

As infecções por *Leishmania* e HIV apresentam características semelhantes em relação às mudanças que provocam nas subpopulações de células monocíticas do hospedeiro. Estas alterações podem ser caracterizadas pela diminuição do número de células TCD4⁺ e NK, de forma que os indivíduos co-infectados expressam prejuízos sinérgicos sobre o sistema imune, mas as consequências da infecção por HIV podem prevalecer sobre as da LV (OLIVIER et al., 2003).

Os índices de células TCD4⁺ no sangue periférico dos pacientes co-infectados são semelhantes aquelas encontradas em indivíduos HIV positivo/ LV negativo. Além disso, taxas de células TCD8⁺ apresentam-se elevadas durante a co-infecção após o tratamento da leishmaniose, indicando que estas células desempenham papel importante na resposta imune

pós-tratamento ou também pode corresponder a uma substituição das células TCD4⁺ devido a diminuição desta na circulação (OLIVIER et al., 2003).

As manifestações clínicas dos pacientes co-infectados dependem das espécies de *Leishmania* infectantes e das células participantes da resposta imune do hospedeiro. A infecção por *Leishmania* pode permanecer assintomática ou apresentar sinais e sintomas que sejam restritos à pele ou às mucosas (na leishmaniose tegumentar) ou, em outros casos, se distribuir pelos sistemas viscerais do corpo (na LV). Todas as formas de leishmaniose se configuram como infecções oportunistas em pacientes com HIV, sendo, no Brasil, 43%, 20% e 37% dos casos de co-infecção devido à leishmaniose mucocutânea, cutânea e visceral, respectivamente (RABELLO et al., 2005; ALVAR et al., 2008) (Ilustração 15).

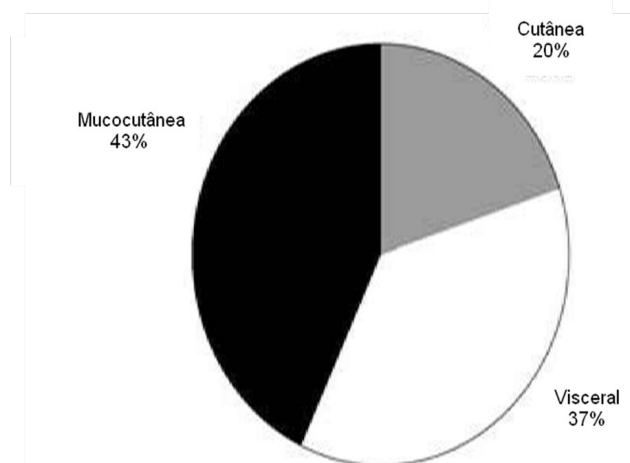


Ilustração 15: Formas clínicas da leishmaniose presentes nos casos de co-infecção registrados no Brasil em junho de 2002 (RABELLO et al., 2003).

Os pacientes que apresentam leishmaniose em co-infecção com o HIV possuem, geralmente, características clínicas semelhantes à dos indivíduos não co-infectados como, por exemplo, febre, perda de peso e hepatoesplenomegalia. A distribuição dos parasitas pelo organismo são parecidas com aquelas de imunocompetentes, porém há casos onde a *Leishmania* pode aparecer em localizações atípicas como, por exemplo, em tecidos do intestino (OLIVIER et al., 2003; LINDOSO, 2006; ALVAR et al., 2008). Além disso, os pacientes podem desenvolver uma leishmaniose mais severa e mais resistente ao tratamento e, em alguns casos, o indivíduo pode desenvolver leishmaniose tegumentar embora tenha sido infectado por espécies de *Leishmania* específicas para leishmaniose visceral (OLIVIER et al., 2003; LINDOSO, 2006).

Em indivíduos co-infectados, a presença de ambos os patógenos modifica a resposta imunológica através de complexos mecanismos que atuam sinergicamente para a queda de uma resposta Th1 evidenciando-se, nestes casos, uma resposta do tipo Th2 (exacerbada pelo vírus) que produz altos níveis de IL-4 e IL-10. Em indivíduos imunocompetentes, os casos agudos de LV respondem satisfatoriamente ao tratamento anti-leishmanial, de modo que ocorre uma melhora da infecção e o desaparecimento de sinais e sintomas da doença. Porém, em co-infectados esse tratamento é dificultado e, portanto, um controle frequente da doença torna-se necessário (OLIVIER et al., 2003; COTA et al., 2011).

Em satisfatórios tratamentos terapêuticos de pacientes imunocompetentes, ocorre uma redução da carga parasitária no organismo através da destruição dos parasitas, o que resulta na queda das concentrações séricas de anticorpos anti-leishmania com a restauração de parcela da imunidade mediada por células. Entretanto, em indivíduos imunodeprimidos, a recuperação de uma resposta protetora contra a *Leishmania* é dificultada, já que nesses pacientes, a resposta estabelecida após o tratamento não se caracteriza como eficaz contra o parasita (OLIVIER et al., 2003; COTA et al., 2011). Isto é, pacientes co-infectados por LV/HIV são capazes de produzir uma resposta protetora contra a *Leishmania* após o tratamento contra o parasita, no entanto, esta é perdida devido ao aumento da replicação viral que geralmente provoca reincidências da leishmaniose. Isto acontece, principalmente, pelo efeito sinérgico dos microorganismos sobre as células TCD4⁺, o que leva a uma depressão nos mecanismos de atuação do sistema imune (ALVAR et al., 2008; COTA et al., 2011).

Nos casos de co-infecção, a resposta humoral desenvolvida pode ser parcial ou fraca se comparada com indivíduos imunocompetentes, de modo que as pequenas taxas de anticorpos circulantes no sangue periférico não são resultados do tratamento e, sim dos prejuízos à imunidade causados pela infecção por HIV (OLIVIER et al., 2003).

A multiplicação de *Leishmania* no meio intracelular de macrófagos aumentam as taxas de replicação do HIV a partir da produção de TNF- α . Sendo assim, as concentrações séricas de TNF- α presentes em indivíduos com HIV e *Leishmania* e também a proporção de replicação viral são maiores do que em pacientes apresentando apenas a infecção por HIV ou a LV (OLIVIER et al., 2003).

Outra citocina importante para a progressão das infecções por LV/HIV é o TGF- β . Este é um potente inibidor da resposta imune, sendo liberado durante a infecção por HIV para diminuir a eficácia do sistema imunológico, e na infecção por *Leishmania*, aumentando a suscetibilidade do hospedeiro para a leishmaniose sistêmica (OLIVIER et al., 2003).

Os pacientes que apresentam a co-infecção LV/HIV também podem utilizar a HAART para controlar a evolução da infecção pelo HIV em direção à AIDS. Neste caso, o tratamento procura elevar as taxas de células TCD4⁺ do indivíduo, fato que também, em alguns casos, poderia impedir o avanço da LV. O uso da HAART permite que os pacientes apresentem menores probabilidades de reincidência da LV e melhorem suas contagens de células TCD4⁺ quando comparados com aqueles que não utilizam a HAART. Neste caso, o tratamento favorece uma mudança imunológica do padrão de resposta imune Th2 para Th1 em indivíduos infectados com LV/HIV. Ou seja, controla a proliferação dos microorganismos no hospedeiro com mais eficiência (COTA et al., 2011).

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A infecção pelo vírus HIV atinge milhares de pessoas em todo o mundo sendo responsável por severos danos a saúde da população, principalmente, por deixar os indivíduos infectados mais vulneráveis às infecções oportunistas. Assim como o HIV, a leishmaniose visceral também se caracteriza como um sério problema de saúde pública, visto que sua incidência em determinadas regiões é elevada e um grande número de pessoas está exposto à infecção. Vale ressaltar que esta doença quando não tratada rapidamente pode levar o paciente a óbito.

Um dado bastante preocupante é o aumento dos casos da co-infecção pelo mundo, apresentado especialmente na Europa. Nesta perspectiva, torna-se necessário o desenvolvimento de novas medidas profiláticas e tratamentos que promovam melhorias na qualidade de vida dos indivíduos infectados. Portanto, devem-se aprofundar os conhecimentos nas relações entre parasita e hospedeiro e, conseqüentemente, nas respostas imunológicas desencadeadas pelo hospedeiro para o combate a estes patógenos.

A resposta imunológica durante a LV envolve as células TCD4⁺ da subpopulação Th2, a qual é induzida por diversos mecanismos de escape da Leishmania e permite que o parasita sobreviva no meio intracelular dos macrófagos e se dissemine pelo organismo do indivíduo. Por sua vez, o HIV tem as células TCD4⁺ como alvo para a infecção, de forma que impede o desenvolvimento de uma resposta imune eficaz.

Desta forma, a concomitância de infecções por Leishmania e HIV acarreta a imunossupressão do paciente e se caracteriza por uma evolução mais acelerada dos sinais e sintomas clínicos. Isso ocorre, uma vez que cada patógeno favorece a sobrevivência do outro, potencializando a progressão das infecções. Durante a co-infecção, a resposta imunológica

desencadeada é semelhante a dos indivíduos que possuem apenas a LV, isto é, o sistema imunológico apresenta uma resposta Th2.

Neste sentido, a co-infecção LV/ HIV se apresenta como um problema de saúde emergente, sobretudo pela urbanização da leishmaniose e pela ruralização da AIDS. Logo, novas pesquisas devem ser desenvolvidas visando melhorias quanto à prevenção, ao diagnóstico precoce e tratamentos eficazes.

REFERÊNCIAS

ABBAS, ABUL K.; LICHTMAN, ANDREW H.; POBER, JORDAN S. Imunologia celular e molecular. 4ª edição. Rio de Janeiro: **Editora Revinter**, 2003.

ALEXANDRINO-DE-OLIVEIRA, PRISCILLA et al. HIV/AIDS-associated visceral leishmaniasis in patients from na endemic área in Central-west Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.105, n.5, p. 692-697, ago. 2010.

ALMEIDA, MC et al. Leishmanial infection: analisys of its first steps. A review. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.98, n.7, p. 861-870, out. 2003.

ALVAR, JORGE et al. The relationship between leishmaniasis and AIDS: the second 10 years. **Clinical Microbiology Reviews**, Espanha, v.21, n. 2, p. 334-359, abr. 2008.

ALVES, WANESKA ALEXANDRA. Ministério da Saúde. **Secretaria de Vigilância em Saúde**, Brasília, v.6, n.71, p. 25-29, 2009.

ANDRADE, Bruno B. et al. Métodos diagnósticos da leishmaniose tegumentar: fatos, falácias e perspectivas. **Gazeta médica da Bahia**, Bahia, v.75, n. 1, p. 75-82, jan./ jun. 2005.

BACELLAR, OLÍVIA; CARVALHO, EDGAR M. Imunopatogênese da leishmaniose visceral. **Gazeta Médica da Bahia**, Bahia, v.75, n.1, p. 24-34, jan/ jun. 2005.

BASANO, SÉRGIO ALMEIDA; CAMARGO, LUÍS MARCELO ARANHA. Leishmaniose tegumentar americana: histórico, epidemiologia e perspectiva de controle. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, Rondônia, v.7, n. 3, set. 2004.

BASTOS, FRANCISCO INÁCIO. A feminização da epidemia de AIDS no Brasil: determinantes estruturais e alternativas de enfrentamento. **Associação Brasileira Interdisciplinar de AIDS**, Rio de Janeiro, n.3, p. 1-28, 2001.

BOGDAN, CHRISTIAN et al. Invasion, control and persistence of *Leishmania* parasites. **Current Opinion in Immunology**, Alemanha, v.8, p. 517-525, 1996.

BONILLA-ESCOBAR, DIANA LUCÍA. Respuesta inmune a La leishmaniasis: algo más que linfocitos T. **Piel**, Colômbia, v. 20, n. 8, p.383-395, out. 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral: normas e manuais técnicos. Brasília, Editora MS, 2006.

_____. Ministério da Saúde. Disponível em:
<<http://www.saude.rio.rj.gov.br/saude/pubsms/cgi/public/cgilua.exe/web/templates/htm/v2/printerview.htm?editionsectionid=2&user=reader&infoid=24>>. Consultado em 6 nov. 2010.

BRITO, ANA MARIA DE; CASTILHO, EUCLIDES AYRES DE; SZWARCOWALD, CÉLIA LANDMANN. AIDS e infecção pelo HIV: uma epidemia multifacetada. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. Recife, v. 34, n.2, 207-217, mar. / abr. 2000.
CARNAÚBA Jr., DIMAS et al. Atypical disseminated leishmaniasis similar to post-kala-azar dermal leishmaniasis in a Brazilian AIDS patients infected with *Leishmania (Leishmania) infantum* chagasi: a case report. **International Journal of Infection Diseases**, v.13, n.6, p. 504-507, nov. 2009.

CARVALHO, FLÁVIA LOPES. Co-infecção por *Leishmania sp.* em indivíduos vivendo com HIV/AIDS. **Universidade Federal do Maranhão**. Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. Programa de pós-graduação em saúde materno infantil. São Luís, 2009.

C

HAPPIUS, FRANÇOIS et al. Visceral leishmaniasis: what are the needs for diagnosis, treatment and control? **Nature Reviews Microbiology**, Suíça, v. 5, p. 873-882, nov. 2007.

COSTA, JACKSON M.L. Epidemiologia das leishmanioses no Brasil. **Gazeta Médica da Bahia**, Bahia, v.75, n.1, p. 3-17, jan./ jun. 2005.

COTA, GLÁUCIA F.; SOUSA, MARCOS R. DE; RABELLO, ANNA. Predictors of visceral leishmaniasis relapse in HIV infected patients: a systematic review. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, Brasil, v.5, n.6, p. e1153, jun. 2011.

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**, São Paulo, v. 50, n.4, p. 434-461, maio 2010.

CUNNINGHAM, ANNA C. Parasitic adaptative mechanisms in infection by *Leishmania*. **Experimental and Molecular Pathology**, Tennessee, v. 72, n. 2, p.132-141, abr. 2002.

DEBENEDICTS, CHRISTINE MD et al. Immune functions of the skin. **Elsevier**, Nova York, v.19, p. 573-585, 2001.

ENGWERDA, CHRISTIAN R.; ATO, MANABU; KAYE, PAUL M. Macrophages, pathology and parasites persistence in experimental visceral leishmaniasis. **Elsevier**, Austrália, v.20, n.11, p. 524-530, nov. 2004.

GÓMEZ, OSVALDO MIRANDA; BAREA, IVÁN GONZÁLEZ. Leishmaniasis cutânea. **Revista Cubana de Medicina Militar**, Cuba, v.36, n.4, out./ dez. 2007.

GONTIJO, CÉLIA MARIA FERREIRA; MELO, MARIA NORMA. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, Minas Gerais, v.7, n.3, p. 338-349, set. 2004.

GOTO, H; LINDOSO, J.A.L. Immunity and immunosuppression in experimental visceral leishmaniasis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, São Paulo, v.37, n.4, p. 615-623, abr.2004.

GUIMARÃES, LUIZ HENRIQUE et al. Aspectos clínicos da leishmaniose tegumentar. **Gazeta Médica da Bahia**, Bahia, v.75, n.1, jan/ jun. 2005.

HANDMAN, EMANUELA; BULLEN, DENISE V.R. Interaction of *Leishmania* with the host macrophage. **Elsevier Science**, Austrália, v.18, n.8, p. 332-334, ago. 2002.

JANEWAY Jr, CHARLES A. How the immune system protects the host from infection. **Elsevier**, Estados Unidos, v.3, p. 1167-1171, 2001.

_____, CHARLES A; MEDZHITOV, RUSLAN. Innate Immune recognition. **Annu. Rev. Immunol.**, Estados Unidos, v.20, p.197-216, 2002.

LAURENTI, MÁRCIA DALASTRA. Correlação entre o diagnóstico parasitológico e sorológico na leishmaniose visceral americana canina. **Boletim Epidemiológico Paulista**, São Paulo, v.6, n.67, p. 13-23, jul. 2009.

LEVINGS, MEGAN K.; RONCAROLO, MARIA-GRAZIA. T-regulatory 1 cells: A novel subset of CD4+ T cells with immunoregulatory properties, **Elsevier**, Itália, v.106, p. 109-112, jul. 2000.

LIESE, JAN; SCHLEICHER, ULRIKE; BOGDAN, CHRISTIAN. The innate immune response against *Leishmania* parasites, **Elsevier**, Alemanha, v.213, n.3-4, p. 377-387, maio 2008.

LINDOSO, JOSÉ ANGELO LAULETTA. Comportamento oportunista das leishmanioses. **Boletim Epidemiológico Paulista**, São Paulo, v.3, n.32, p. 8-12, ago. 2006.

LÓPEZ-MORENO, HÉCTOR SAMUEL. Cestodiasis tisulares: participación de los linfocitos T cooperadores 1 y 2. **Salud Pública México**, Cuernavaca, v.44, n. 2, maio/ abr. 2002.

MACHADO, PAULO R. L. et al. Mecanismo de resposta imune às infecções. **Anal Brasileiro de Dermatologia**. Rio de Janeiro, v. 79, n.6, p. 647-664, nov./ dez. 2004.

MARQUES, NUNO et al. Leishmaniose visceral e infecção por vírus da imunodeficiência humana: na era da terapêutica anti-retrovírica de alta eficácia. **Acta. Med. Port.**, Coimbra, v.20, p. 291-298, jan. 2007.

McFARLANE, EMMA et al. Neutrophils contribute to development of a protective immune response during onset of infection with *Leishmania donovani*. **American Society for Microbiology**, Suíça, v. 76, n.2, p.532-541, fev. 2008.

MOUGNEAU, EVELYNE; BIHL FRANCK; GLAICHENHAUS, NICOLAS. Cell biology and immunology of leishmania. **Immunology Review**. v.240, n.1, p. 286-296, mar. 2011.

NICO, D. Desenvolvimento de uma vacina sintética contra a leishmaniose visceral a partir da Nucleosídeo hidrolase de *Leishmania (L.) donovani*. Tese de doutorado apresentada ao IMPPG/UFRJ, Rio de Janeiro, 2010.

OLIVIER, M et al. The pathogenesis of Leishmania/HIV co-infection: cellular and immunological mechanism. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, Liverpool, v.97, n. 1, p.79-98, maio 2003.

PALATNIK-DE-SOUSA, CLARISA B. et al. FML vaccine against canine visceral leishmaniasis: from second-generation to synthetic vaccine. **Expert Reviews Vaccines**, Brazil, v.7, n.6, p. 833-851, 2008.

_____, CLARISA B. et al. Decrease of the incidence of human and canine visceral leishmaniasis after dog vaccination with Leishmune® in Brazilian endemic areas. **Vaccine**, Brasil, v.27, p. 3505-3512, abr. 2009.

PASARE, CHANDRASHEKHAR; MEDZHITOV, RUSLAN. Toll-like receptors: linking innate and adaptative immunity, **Elsevier**, Estados Unidos, v.6, n.15, p. 1382-1387, dez. 2004.

PASSOS, SARA TIMÓTEO. Resposta imune a antígenos recombinantes de *Leishmania* e imuno-modulação na leishmaniose tegumentar. Tese de doutorado. **Universidade Federal da Bahia**. Instituto de Ciências da Saúde. Programa de pós-graduação em imunologia, 2006.

PERUHYPE-MAGALHÃES V. et al. Immune response in human visceral leishmaniasis: analysis of the correlation between innate immunity cytokine profile and disease outcome. **Scandinavian Journal of Immunology**, Brasil, v. 62, n.5, p.487-495, nov. 2005.

PINTO, AGNES CAROLINE S. et al. Compreensão da pandemia de AIDS nos últimos 25 anos. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, v. 19, n.1, p. 45-50, abr.2007.

PRATES, DEBORACI BRITO et al. *Lutzomyia longipalps* saliva drives apoptosis and enhances parasites burden in neutrophils. **Journal of Leukocyte Biology**, Bahia, v.90, set. 2011.

RABELLO, A; ORSINI M, DISCH, J. *Leishmania*/HIV co-infection in Brazil: an appraisal. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, Belo Horizonte, v.97, n.1, p.17-28, out. 2003.

RATH, SUSSANE et al. Antimoniais empregados no tratamento da leishmaniose: estado da arte. **Química Nova**, São Paulo, v.26, n.4, p. 550-555, jan. 2003.

REY, L. Parasitologia. Capítulos 10, 15, 16, 17, 18 e 19. **Editora Guanabara Koogan**, Rio de Janeiro, 3ª edição. 2001.

RIBEIRO, FLÁVIA COELHO. Avaliação das técnicas de ELISA e “Immunoblotting (IgG e subclasses específicas) no diagnóstico por *Leishmania (Leishmania) brasiliensis* e *Leishmania (Leishmania) chagasi* em cães. FIOCRUZ, 2009.

ROBERTS, LYNDEN; HANDMAN, EMANUELA; FOOTE, SIMON J. Leishmaniasis. **British Medical Journal**. Austrália, v.321, p. 801-804, set. 2000.

ROITT, IVAN; BROSTOFF, JONATHAN; MALE, DAVID. *Imunologia*. 6ª edição. São Paulo: **Editora Manole**, 2003.

RUSSO, R. et al. Clinical survey of *Leishmania*/HIV co-infection in Catania, Italy: the impact of highly active antiretroviral therapy (HAART). **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, Itália, 97, n. 1, p.149-155, out. 2003.

SCHRIEFER, ANA LUIZA F. et al. Papel do parasita e do hospedeiro na expressão clínica das leishmanioses. **Gazeta Médica da Bahia**, Bahia, v.75, n.1, jan/ jun. 2005.

TRIPATHI, PARUL; SINGH VINOD; NAIK SITA. Immune response to leishmania: paradox rather than paradigm. **Immunology and Medical Microbiology**, Índia, v.51, n.2, p. 229-242, nov. 2007.

URIAS, ELAINE V.R. et al. Prevalência de adultos infectados por *Leishmania leishmania* chagasi entre doadores de sangue do Hemocentro Regional de Montes Claros, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, Minas Gerais, fev. 2009.

WHO. Leishmaniasis. Disponível em <<http://www.who.int/leishmaniasis/en/>>. Consultado em 5 novembro 2010.

Secretaria de Estado da Saúde de Santa Catarina. Disponível em:

<http://www.dive.sc.gov.br/conteudos/zoonoses/Noticias/2010/Protocolo_Leishmaniose_visceeral_SC.pdf> Acesso em: 22 julho 2011.

Diretoria de Vigilância Epidemiológica e Laboratório Central de Saúde Pública. Protocolo de vigilância epidemiológica, manejo clínico e aspectos laboratoriais para Leishmaniose visceral. Santa Catarina, p. 1-17, set. 2010, il. color. Disponível em:

<http://www.dive.sc.gov.br/conteudos/zoonoses/Noticias/2010/Protocolo_Leishmaniose_visceeral_SC.pdf> Acesso em: 22 julho 2011.