



**FACULDADE MARIA MILZA  
CURSO DE BACHARELADO EM BIOMEDICINA**

**JAMILE BRAGA SAMPAIO**

**O PAPEL DOS RECEPTORES TLR2 E TLR9 NA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR  
AMERICANA**

**GOVERNADOR MANGABEIRA – BA  
2017**

**JAMILE BRAGA SAMPAIO**

**O PAPEL DOS RECEPTORES TLR2 E TLR9 NA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA**

Monografia apresentada ao Curso de Biomedicina da Faculdade Maria Milza, como requisito para obtenção do título de graduanda.

Orientadora: Profa. Msc. Ana Paula Castro Melo  
Co-orientador: Prof. Dr. Vinicius Pinto Costa Rocha

**GOVERNADOR MANGABEIRA – BA  
2017**

### Dados Internacionais de Catalogação

S192p	<p data-bbox="488 1458 762 1487">Sampaio, Jamile Braga</p> <p data-bbox="488 1507 1332 1592">O papel dos receptores TLR2 e TLR9 na leishmaniose tegumentar americana / Jamile Braga Sampaio. – Governador Mangabeira – Ba, 2017.</p> <p data-bbox="544 1626 600 1655">41 f.</p> <p data-bbox="544 1688 1150 1749">Orientadora: Profa. Ma. Ana Paula Castro Melo Coorientador: Prof. Dr. Vinícius Pinto Costa Rocha</p> <p data-bbox="488 1783 1332 1843">Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Faculdade Maria Milza, 2017.</p> <p data-bbox="488 1877 1332 1937">1. Leishmania braziliensis. 2. Epidemiologia. 3. TLR2I. 4. TLR9. Melo, Ana Paula Castro. II. Rocha, Vinícius Pinto Costa. III. Título.</p> <p data-bbox="1018 1966 1198 1995">CDD 616.9364</p>
-------	--

**JAMILE BRAGA SAMPAIO**

**O PAPEL DOS RECEPTORES TLR2 E TLR9 NA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR  
AMERICANA**

Aprovada em \_\_/\_\_/\_\_

**BANCA DE APRESENTAÇÃO**

---

**Msc. Ana Paula Castro Melo  
Famam- Faculdade Maria Milza**

---

**Dr. Carlos Eduardo Sampaio Guedes  
Famam- Faculdade Maria Milza**

---

**Msc. Beatriz Rocha Simões Dias  
Fiocruz-Fundação Oswaldo Cruz**

**GOVERNADOR MANGABEIRA – BA  
2017**

**Dedico esse trabalho a Deus por me fortalecer em toda essa caminhada e a minha família pelo apoio e companheirismo nessa trajetória e aos amigos pela paciência e carinho.**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades e não somente nestes anos como universitária, mas em todos os momentos é o maior mestre que alguém pode conhecer.

Aos meus pais José Carlos e Janice Braga, pelo amor, incentivo nas horas difíceis de desânimo, cansaço e apoio incondicional, pelo exemplo de vida que eles são e por serem meus grandes alicerces.

Obrigada ao meu irmão Jobson Braga, que nos momentos de minha ausência dedicados ao estudo, sempre fizeram entender que o futuro é feito a partir da constante dedicação no presente e por todas as madrugadas que foi me buscar no ponto do transporte, por todo o dinheiro emprestado e por compartilhar muitas vezes das minhas aflições e medos.

Agradeço aos meus avôs Maria Vitorina e Edvaldo (in memória) por sempre acreditarem em mim, por sempre dizer que eu iria conseguir e por muitas vezes financiar os meus estudos e por todo carinho e amor do mundo que vocês sempre me deram. Obrigada!

Obrigada aos meus tios e tias Jailza, Neuza, Janeide, Jean, Junior, Roberto, Marcos por acreditarem em minha capacidade e por não me deixarem desistir nas dificuldades.

Primos e primas Rebeca, Felipe, Ighor, Avinny Gustavo, muito obrigada por cada momento de riso e alegria que passamos juntos, foram momentos como esses que me fizeram esquecer que as dificuldades existiam e que a família é a nossa base.

Meus agradecimentos aos meus amigos Amanda, Dálisson, Leia, Gabrielle, Priscila, Renildo, Samuel, Eliana, Laiane, Maria Clara, Roseane, Francielle, vocês são amigos que Deus me deu para fortalece-me nessa jornada longa, cansativa.

Agradeço de todo meu coração a família que construir nos últimos 4,5 anos com as minhas gatinhas Olivaneide, Aline, Karine, Noemi que além de amigas se tornaram irmãs que compartilharam de toda caminhada, esforço, desânimo, choro e alegrias dessa jornada. Obrigada lindas!

Obrigada Olivaneide, por ser parecida comigo, por cada briga, carinho, amor por todas as vezes que precisamos uma da outra para situações acadêmicas e pessoais.

Obrigada Aline e Karine por serem sempre as minhas razões quando estava a perder, cada “ôo Mil”, cada “Milly vai da certo” sei que são presentes de Deus na minha vida.

Obrigada Noemi por sempre estimular a busca pelo melhor de cada uma de nós em sala, na vida.

Ao professor Vinícius por assumir comigo a responsabilidade de orientar, e confiar que eu seria capaz de realizar as atividades proposta e pelo empenho dedicado a elaboração desse trabalho.

A minha orientadora Ana Paula Castro pela orientação, apoio, dedicação na elaboração desse trabalho, pelo suporte no pouco tempo que lhe coube, pelas correções e incentivos.

Agradeço a todos os professores por me proporcionar o conhecimento não apenas racional, mas a manifestação do caráter e afetividade da educação no processo de formação profissional e pessoal, por tanto que se dedicaram a mim, não somente por terem me ensinado, mas por terem me feito aprender. A palavra mestre, nunca fará justiça aos professores dedicados aos quais me orgulho de ter conhecido e guardado para minha vida pessoal.

Ao professor Msc. Carlos Danilo por todas as nossas conversas, todos os incentivos e por toda sua atenção, dedicação e esforço para que eu pudesse ter confiança e segurança na realização da minha graduação.

A professora Msc. Lara Cristine por está sempre a me incentivar na buscar de novos caminhos durante a minha formação acadêmica e pessoal, pela paciência, dedicação e ensinamentos.

A professora Dra. Luciana Aragão por sempre me mostrar que da vida acadêmica podemos construir grandes amizades fortalecidas com o passar do tempo. Obrigada Lú!

A professora Msc. Luciene Figueiredo por mostrar que na graduação somos capazes criar laços e caminhos brilhantes, para sermos melhores cada dia. Obrigada linda!

Ao professor Msc. Márcio Pires por toda atenção, compromisso, instrução nessa minha caminhada acadêmica, seu estímulo para a formação do meu senso crítico em relação à vida pessoal e profissional e pelo seu empenho a me ensinar no estágio curricular I em acupuntura. Obrigada!

A Instituição FAMAM - Faculdade Maria Milza pelo ambiente criativo e amigável que proporciona conhecimento e respeito.

Ao seu corpo docente, direção e administração que oportunizaram a janela que hoje vislumbro um horizonte superior, trabalhando incansavelmente para que nós, alunos, possamos contar com um ensino de qualidade.

A EMBRAPA por me proporcionar conhecimento, estreitar relacionamentos interpessoais e me fazer amar o campo da pesquisa, sempre visando o melhor para a sociedade.

Ao meu orientador Emanuel Felipe por todos os conselhos dados, pela oportunidade de ingressar na iniciação científica e por se tornar um amigo que terei para vida toda. Obrigada!

A todos que direta e indiretamente contribuíram para que a minha formação acadêmica acontecesse e dizer que sem o apoio de vocês nada disso seria possível. Muito obrigada!



*“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível.”*

*(Charles Chaplin)*

## RESUMO

As leishmanioses constituem um conjunto de doenças infecciosas, causada por protozoários do gênero *Leishmania* e transmitida através da picada da fêmea de insetos *flebotomíneos* durante o repasto sanguíneo. Cerca de 30 espécies do parasito são conhecidas, das quais 20 causam doença em seres humanos. Devido à alta morbidade das leishmanioses, esta doença constitui um dos graves problemas de saúde pública. A forma tegumentar caracteriza-se por lesões dermatológicas crônicas que podem gerar ou não deformidades nos indivíduos, podendo apresentar-se sob a forma cutânea (lesão clássica); muco-cutânea, difusa e disseminada. Após ser inoculada a forma promastigota metacíclica (infectiva) no indivíduo a resposta imunológica é ativada oferecendo uma proteção contra o patógeno, ativando os receptores de reconhecimento padrões moleculares (PRRs, do inglês *pattern recognition receptors*) que vão ativar componentes microbianos conhecidos como padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs, do inglês *pathogens associated molecular patterns*), sendo os receptores mais importantes de PRRs os receptores do tipo Toll (TLRs, do inglês *toll like receptors*). Os componentes da resposta imune inata, como os receptores do tipo toll irão determinar o padrão de resposta contra *Leishmania* durante a infecção. Este trabalho teve como objetivo realizar uma revisão bibliográfica da participação dos TLRs na patogênese da leishmaniose tegumentar americana (LTA). Foram avaliados trabalhos onde os receptores do tipo TLR2 e TLR9 estão envolvidos na patogênese da LTA; a busca foi realizada através de bases de dados científicas as informações necessárias para a realização da revisão de literatura, usando descritores *Toll-like receptors; American Tegumentary Leishmaniasis; Leishmania braziliensis; TLR2 e TLR9 e Leishmania spp.* Artigos publicados no período de 2000 até 2017, em inglês e/ou português foram selecionados, as ideias de autores sobre o papel dos receptores tipo TLRs na LTA. Trabalhos que não abordarem o tema TLR2 e TLR9 na participação da patogênese da LTA foram excluídos. Com base na revisão de literatura, Neste trabalho foi sugerido que a LTA é capaz de induz a ativação de células do sistema imune inata através de receptores do tipo TLR e ativar a produção de citocinas pró-inflamatórias para combater a patogêneses. Após a infecção do parasito no indivíduo, as células imunes que estão presentes no tecido epitelial (macrófagos residentes, células de Langerhans, mastócitos e linfócitos B e T) são ativadas para eliminar o patógeno, e os que resistirem essa primeira barreira irá atrair para o local, mas células do sistema imune que terão em sua superfície e em seus endossomos receptores do tipo TLR2 e TLR9 respectivamente ativando resposta imunológica. Nesta revisão é possível observar que existe a geração de uma resposta hiperinflamatória persistente, onde é plausível observar uma resposta mista do tipo Th1 e Th2. A resposta do tipo Th1 é a, mas importante para a LTA, porque vai determinar a manifestação clínica da doença que se apresentará na forma cutânea e esta relacionada com o controle da mesma, e a do tipo Th2 vai ser responsável pela susceptibilidade da infecção e está envolvida na indução da resposta humoral.

Palavras-chave: *Leishmania braziliensis; TLR2; TLR9; American Tegumentary Leishmaniasis.*

## ABSTRACT

Leishmaniasis constitute a group of infectious diseases, caused by protozoa of the genus *Leishmania* and transmitted through the female bite of phlebotomine insects during blood repast. About 30 species of the parasite are known, of which 20 cause disease in humans. Due to the high morbidity of leishmaniasis, this disease is one of the serious public health problems. The tegumentary form is characterized by chronic dermatological lesions that may or may not generate deformities in individuals, and may present as cutaneous (classic lesion); mucous-cutaneous, diffuse and disseminated. After inoculating the metacyclic (infective) promastigote form in the individual the immune response is activated by providing protection against the pathogen by activating the pattern recognition receptors (PRRs) that activate microbial components known as associated molecular patterns to pathogens (PAMPs), the most important receptors of PRRs being Toll-like receptors (TLRs). The components of the innate immune response, such as toll-type receptors, will determine the pattern of response against *Leishmania* during infection. This work aimed to perform a literature review of the participation of TLRs in the pathogenesis of American tegumentary leishmaniasis (ACL). We evaluated studies where TLR2 and TLR9 receptors are involved in the pathogenesis of LTA; the search was performed through scientific databases the information needed to perform the literature review, using descriptors Toll-like receptors; American Tegumentary Leishmaniasis; *Leishmania braziliensis*; TLR2 and TLR9 and *Leishmania* spp. Articles published between 2000 and 2017 in English and / or Portuguese were selected, authors' ideas on the role of TLR receptors in LTA. Studies that did not address the theme TLR2 and TLR9 in the participation of the LTA pathogenesis were excluded. Based on the literature review, In this work it has been suggested that LTA is able to induce the activation of cells of the innate immune system through TLR receptors and activate the production of proinflammatory cytokines to combat pathogens. After infection of the parasite in the individual, the immune cells that are present in the epithelial tissue (resident macrophages, Langerhans cells, mast cells and B and T lymphocytes) are activated to eliminate the pathogen, and those that resist that first barrier will attract the local, but cells of the immune system that will have on their surface and in their receptor endosomes type TLR2 and TLR9 respectively activating immune response. In this review it is possible to observe that there is a persistent hyperinflammatory response, where it is plausible to observe a mixed Th1 and Th2 response. The Th1 type response is a but important for LTA because it will determine the clinical manifestation of the disease that will be present in the cutaneous form and is related to its control, and Th2 type will be responsible for the susceptibility of the infection and is involved in the induction of humoral response.

Key words: *Leishmania braziliensis*; TLR2; TLR9; American Tegumentary Leishmaniasis.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 01</b> – Distribuição dos casos de Leishmaniose no Brasil no ano de 2015.....	22
<b>Figura 02</b> – Ciclo biológico da <i>Leishmania spp</i> .....	24
<b>Figura 03</b> – Formas clínicas da LTA.....	26
<b>Figura 04</b> – Receptores da família Toll-like.....	30
<b>Figura 05</b> – Interação Leishmania/TLR.....	31

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 01</b> – Espécies causadoras de LTA.....	20
<b>Tabela 02</b> - Casos de leishmaniose tegumentar americana. Brasil, grandes regiões e unidades federadas.....	22

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

- CD 14** – do inglês, cluster of differentiation 14
- CD 80** – do inglês, cluster of differentiation 80
- CD 86** – do inglês, cluster of differentiation 86
- CPG** – regiões do DNA onde citosina encontra-se ligada a guanina
- CR1** – receptor de complemento tipo 1
- CR3** – receptor de complemento tipo 3
- DNA** – do inglês, deoxyribonucleic acid
- HIV** – do inglês, Human Immunodeficiency Virus
- IDRM** – Intradermorreação de Montenegro
- IFN- $\gamma$**  – interferon gama
- IL-1** – interleucina 1
- IL-6** – interleucina 6
- IL-8** – interleucina 8
- IL-12** – interleucina 12
- IRAK-1** – do inglês, interleukin-1 receptor-associated kinase 1
- IRAK-4** – do inglês, interleukin-4 receptor-associated kinase 4
- LC** – leishmaniose cutânea
- LCD** – leishmaniose cutânea disseminada
- LCL** – leishmaniose cutânea localizada
- LD** – leishmaniose difusa
- LM** – leishmaniose mucocutânea ou mucosa
- LPG** – lipofosfoglicano
- LPS** – lipopolissacarídeo
- LTA** – leishmaniose tegumentar americana
- MAPK** – do inglês, mitogen-activated protein kinases
- MyD88** – do inglês, myeloid differentiation primary response protein 88
- NF- $\kappa$ B** – do inglês, nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
- NK** – do inglês, Natural Killer cell
- PAMPs** – do inglês, pathogens associated molecular patterns
- PBMCs** – do inglês, peripheral blood mononuclear cells
- pH** – potencial hidrogeniônico

**PRRs** – do inglês, pattern recognition receptors

**RNA** – do inglês, ribonucleic acid

**RNAcd** – do inglês, Double-stranded RNA

**RNAcs** – do inglês, single-stranded RNA

**SINAN** – Sistema de Informação de Agravos e Notificação

**TM** – transmembrana

**TRAF:6** – do inglês, TNF receptor-associated factor 6

**TRIF** – do inglês, TIR-domain-containing adapter-inducing interferon- $\beta$

**Th1** – T- helper 1

**Th2** – T- helper 2

**TLRs** – do inglês, Toll-like receptors

**TNF- $\alpha$**  – do inglês, tumor necrosis factor alpha

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>17</b>
<b>2 METODOLOGIA</b> .....	<b>19</b>
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>20</b>
3.1 LEISHMANIOSE .....	20
3.1.1 Epidemiologia .....	21
3.1.2 Ciclo Biológico .....	23
3.1.3 Formas clínicas da Leishmaniose Tegumentar .....	25
3.1.4 Fisiopatogenia .....	26
3.2 RESPOSTA IMUNOLÓGICA INATA.....	28
3.3 RECEPTORES TIPO TOLL .....	29
3.4 INTERAÇÕES <i>LEISHMANIA</i> /TLR.....	32
3.5 RECEPTORES DO TIPO TOLL ENVOLVIDOS NA INFECÇÃO POR <i>LEISHMANIA</i> .....	33
<b>4 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>36</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>37</b>



## 1 INTRODUÇÃO

As leishmanioses são doenças infecciosas zoonóticas, causadas por protozoários do gênero *Leishmania* e transmitida através da picada da fêmea de insetos *flebotomíneos*, durante o repasto sanguíneo (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010a; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010b). O gênero *Leishmania* compreende um número crescente de espécies, atualmente cerca de 30, das quais 20 causam doença em seres humanos (ASHFORD, 2000). Devido à alta morbidade e mortalidade da doença, as leishmanioses constituem um dos principais problemas de saúde pública.

A forma tegumentar da doença é caracterizada por lesões dermatológicas crônicas. Essas lesões podem ser caracterizadas por sua forma cutânea, que pode ser localizada ou disseminada que é responsável pela maior parte dos casos de Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) e apresenta-se de forma rara com múltiplas lesões papulares; a mucosa apresenta-se secundária a cutânea expressando lesões destrutivas nas mucosas e a difusa é caracterizada pela presença de lesões nodulares que não ulceram (BASANO et al., 2004; BARRAL et al., 1995; MINISTÉRIO DA SAÚDE 2010 a,b; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007d).

Caso a leishmaniose cutânea (LC) não seja tratada, a lesão pode curar espontaneamente em um período de meses ou anos, ou permanecerem ativas e posteriormente coexistir com lesões de mucosas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010a). Hondowicz et al. (1999), sugere que a resposta imunológica inata do hospedeiro contribui para a patogênese da leishmaniose tegumentar americana (LTA). Sendo assim, é importante o entendimento dos mecanismos relacionados ao surgimento das lesões para o desenvolvimento de novos tratamentos contra a doença.

O tratamento convencional da leishmaniose, realizado com os antimoniais pentavalentes, não é eficaz e está associado a efeitos adversos graves (WHO, 2010).

Na última década houve um rápido progresso no entendimento e reconhecimento imune inato de componentes microbianos e seu papel no hospedeiro contra a infecção (KAWAI et al., 2010). A resposta imune inata é a primeira linha de defesa do hospedeiro e reconhece microrganismos invasores

desencadeando respostas imunológicas para eliminá-los (ALBIGER et al., 2007; ARANCIBIA et al., 2007).

Além disso, a resposta imunológica inata oferece uma ampla proteção para uma grande variedade de patógenos e é baseada em um repertório de receptores denominados receptores de reconhecimento de padrões (PRRs, do inglês *pattern recognition receptors*). Estes receptores reconhecem componentes microbianos denominados padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs, do inglês *pathogens associated molecular patterns*) (ALBIGER et al., 2007). Entre as famílias dos PRRs estão os receptores do tipo Toll (TLRs, do inglês *toll like receptors*) que constituem uma grande família de receptores de reconhecimento de padrões. Eles foram identificados pela primeira vez em mutantes de *Drosophila melanogaster* (mosca-da-fruta) que exibiam susceptibilidade a infecções fúngicas (THOMAZ, 2012).

Desta forma, o objetivo desse estudo é realizar uma revisão bibliográfica da participação dos TLRs na da LTA. Buscando na literatura especializada trabalhos que avaliaram a participação de TLRs no desenvolvimento da doença utilizando uma abordagem *in vitro* e/ou *in vivo*, assim como trabalhos que avaliaram a participação dos TLRs em indivíduos com LTA; e mostraram a participação dos TLRs com o desenvolvimento de diferentes formas clínicas na LTA.

## **2 METODOLOGIA**

O presente estudo caracteriza-se por revisão de literatura do tipo descritiva, envolvendo a avaliação da participação dos TLRs estão na patogênese da LTA. Foi realizada uma pesquisa qualitativa por meio de uma revisão de literatura.

Para inclusão foram utilizados artigos de ensaios experimentais (humanos e animais) ou ensaios clínicos, revisão de literatura ou relato de caso, de língua inglesa ou portuguesa e/ou outros idiomas com o tema referido, artigos disponíveis online na íntegra e artigos publicados no período de 2000 a 2017.

Os critérios de exclusão foram aplicados em artigos que contemplaram outras espécies, outros receptores, artigos duplicados.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 LEISHMANIOSE

A leishmaniose integra um conjunto de doenças, causada por protozoários do gênero *Leishmania* e transmitida através da picada da fêmea de insetos *flebotomíneos* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010a; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010b). Parasitos do gênero *Leishmania* pertencem à ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae, podendo ser do subgênero *Leishmania* ou *Viannia* (TABELA 01). O gênero *Leishmania* abrange um número crescente de espécies, atualmente cerca de 30, das quais 20 ocasionam doença em seres humanos (GOTO et al., 2010; ASHFORD, 2000). Em ambientes domésticos os cães são os principais reservatórios, mantendo o foco endêmico. Já no ambiente silvestre dois roedores, o rato-do-mato (*Bolomys lasiurus*) e o rato-preto (*Rattus rattus*) carregam naturalmente o protozoário, tornando-se um reservatório do parasito (ELMAHALLAWY et al., 2014; FLOETER-WINTER et al, 2010)

No Brasil a Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) apresenta padrões epidemiológicos que variam de acordo com as espécies de *flebotomíneos* envolvidas na transmissão, susceptibilidade e exposição, assim como a diversidade e competência dos hospedeiros e do reservatório. Foram considerados agentes etiológicos sete espécies de LTA no Brasil: *Leishmania (V) braziliensis*, *Leishmania (V) guyanensis*, *Leishmania (V) lainsoni*, *Leishmania (V) naiffi*, *Leishmania (V) shawi*, *Leishmania (V) lindenberg* e *Leishmania (L) amazonensis*, no entanto a *Leishmania braziliensis* é o principal agente etiológico do Nordeste (BRITO et al., 2012).

**Tabela 01** Espécies causadoras de LTA.

<b>Espécies de <i>Leishmania</i></b>	
<b><i>Leishmania (V) braziliensis</i></b>	<b><i>Leishmania (L) amazonensis</i></b>
<b><i>Leishmania (V) guaynensis</i></b>	
<b><i>Leishmania (V) lainsoni</i></b>	
<b><i>Leishmania (V) naiffi</i></b>	
<b><i>Leishmania (V) shawi</i></b>	
<b><i>Leishmania (V) lindenberg</i></b>	

**Fonte:** Adaptada de Brito et al., 2012.

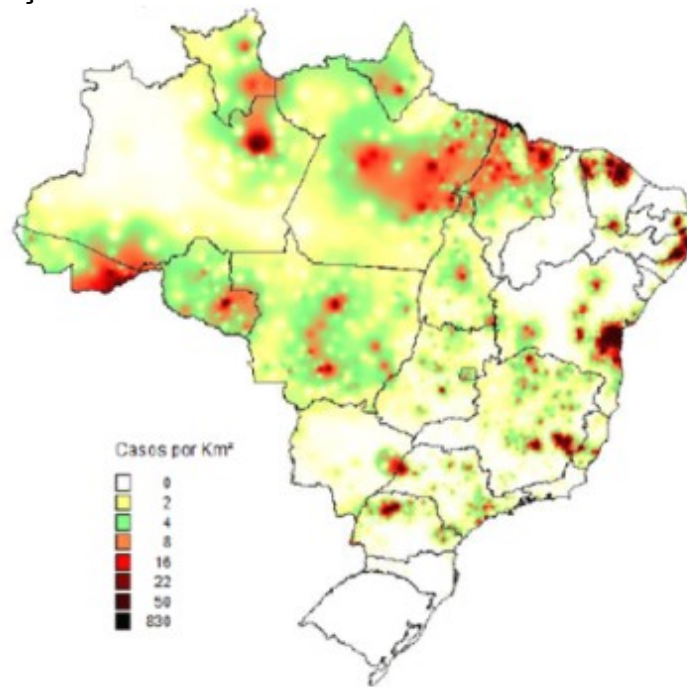
### 3.1.1 Epidemiologia

A leishmaniose constitui um dos principais problemas de saúde pública, no Brasil sendo a *Leishmania (V.) brasilienses*, considerado o parasito mais importante associado a essa forma de doenças nas Américas (SILVEIRA et al., 2004). A Leishmaniose está distribuídos em 98 países, quatro continentes (Américas, Europa, África e Ásia), com número de casos por ano de 1 a 1,5 milhões (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010a; ALVAR et al., 2012). O Brasil segundo o SINAN (Sistema de Informação de Agravos de Notificação) (2015), apresentou 19.395 mil números de casos notificados em 2015.

Segundo o Ministério da Saúde (2017), a leishmaniose apresenta ampla distribuição em todas as regiões brasileiras e as regiões Norte e Nordeste contribuem com os maiores números de casos 8.939 e 5.152 respectivamente, (FIGURA 01).

A Bahia possui uma incidência de 14,3 por 100.000 habitantes. Para a vigilância epidemiológica o estado da Bahia figurou entre os nove estados da região Nordeste como o segundo com a maior incidência para leishmaniose tegumentar americana nos anos de 2010 a 2015 (TABELA02).

FOGANHOLI (2011), enfatiza que a LTA é uma enfermidade emergente e uma das mais importantes da atualidade, as lesões dermatológicas provocadas pela LTA possui uma alta letalidade em indivíduos não tratados, crianças desnutridas, imunossuprimidas e em pessoas co-infectadas pelo HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana).

**Figura 01** Distribuição dos casos de Leishmaniose no Brasil no ano de 2015.

Fonte: Sinan/SVS/MS, (2017).

**Tabela 02** Casos de Leishmaniose Tegumentar Americana. Brasil, grandes regiões e unidade federadas.

Região e UF	2010	2011	2012	2013	2014	2015
<b>Região Norte</b>	7.108	8.615	10.196	8.407	10.387	8.939
<b>Região Nordeste</b>	8.911	7.952	8.279	5.355	4.969	5.152
<b>Maranhão</b>	2.455	2.746	2.517	1.732	2.105	1.684
<b>Piauí</b>	146	173	120	69	85	59
<b>Ceará</b>	1.014	806	940	514	525	555
<b>Rio Grande do Norte</b>	82	7	6	6	8	3
<b>Paraíba</b>	83	26	67	35	28	75
<b>Pernambuco</b>	419	431	314	228	198	414
<b>Alagoas</b>	32	35	62	51	18	180
<b>Sergipe</b>	7	7	9	3	4	7
<b>Bahia</b>	4.673	3.721	4.244	2.717	1.998	2.175
<b>Região Sudeste</b>	2.428	2.179	1.388	1.150	1.460	1.762
<b>Região Sul</b>	253	317	439	296	373	493
<b>Região Centro-oeste</b>	3.163	2.274	3.118	2.922	3.038	2.937
<b>UF ignorada</b>	118	58	127	96	69	112
<b>Brasil</b>	21.981	21.395	23.547	18.226	20.296	19.395

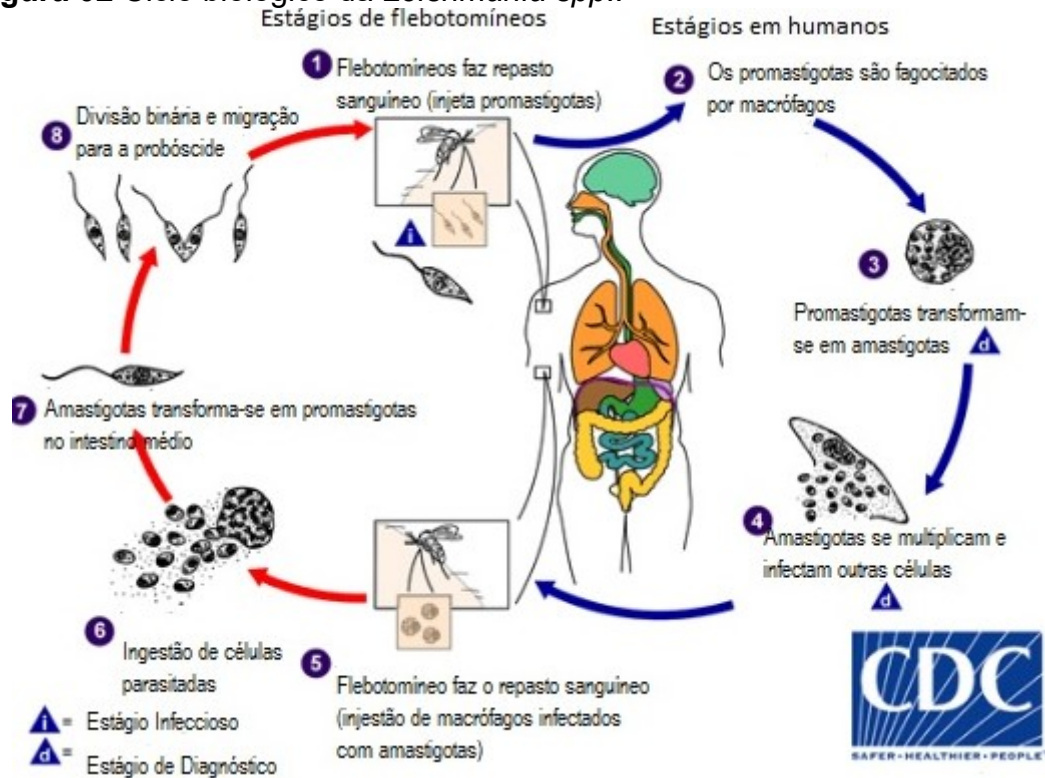
Fonte: Adaptada do Ministério da saúde (2016).

### 3.1.2 Ciclo biológico

As infecções acontecem após a picada do inseto flebotomíneo fêmea (BASANO et al., 2004). As fêmeas dos flebótomos realizam o repasto sanguíneo e infectam com as formas amastigotas. Os parasitos se instalam em partes de seu intestino. Neste ambiente rico em nutrientes, com temperatura entre 24° e 26°C e pH próximo ao alcalino, as amastigotas se diferenciam em promastigotas, formas alongadas com presença de flagelo na porção anterior da célula. (BASANO et al., 2004). As promastigotas se diferenciam na forma infectiva através de um processo denominado metaciclogênese que é um fenômeno que ocorre na fase invertebrada (inseto vetor) do ciclo de vida do parasito, e, por sua vez, é fundamental por gerar as formas promastigotas metacíclicas capazes de iniciar a fase vertebrada (hospedeiro mamífero) do ciclo (PIMENTA et al., 1992). As promastigotas metacíclicas do parasito são inoculada na pele do hospedeiro mamífero, incluindo o homem, durante um novo repasto sanguíneo. As promastigotas metacíclicas inoculadas na derme do hospedeiro mamífero serão fagocitadas por células do sistema fagocítico mononuclear e a evolução da infecção dependerá da espécie do parasito, do perfil imunológico desse hospedeiro, associado à resposta imune celular e a virulência da espécie de *Leishmania* (SILVEIRA et al., 2008).

A forma do parasito presente no hospedeiro mamífero é a amastigota. Estas são células arredondadas ou ovaladas com flagelo internalizado que se instalam nos vacúolos parasitóforos nos macrófagos. Neste ambiente ácido e de alta temperatura (37°C), as amastigotas se multiplicam por divisão assexuada (FIGURA2).

**Figura 02** Ciclo biológico da *Leishmania spp.*



**Fonte:** Adaptado do CDC, *Centers for Disease Control and Prevention* (<https://www.cdc.gov/dpdx/leishmaniasis/index.html>) (2016).

Existem diversas espécies de *Leishmania* envolvidas na transmissão da LTA, sendo que atualmente nas Américas são conhecidas 11 espécies dermatrópicas causadoras de doenças humanas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010a). Segundo informações do Ministério da Saúde, (2010a), no Brasil foram identificados 7 espécies, sendo 6 do subgênero *Viannia* e uma do subgênero *Leishmania* e as mais importantes são *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *L. (L.) amazonensis* e *L. (V.) guyanensis*.



### 3.1.3 Formas clínicas da Leishmaniose Tegumentar

A leishmaniose tegumentar é classicamente caracterizada por pápulas que evoluem para úlceras com bordas elevadas, presença de infiltrado inflamatório e fundo granuloso ocorrendo em múltiplas ou únicas lesões indolores de forma localizada ou difusa (FIGURA 3).

A forma mucosa apresentar-se de forma secundária ou não, a cutânea sendo que a mucosa caracterizar-se com infiltração, ulceração e destruição de tecidos da cavidade nasofaringe (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010a).

A leishmaniose tegumentar pode apresentar-se com a forma cutânea (lesão clássica em moldura); forma mucosa e forma difusa.

Sendo a forma de **leishmaniose cutânea (LC)** responsável pela maior parte dos casos (LTA) com presença de úlcera cutânea, com fundo granuloso e bordas infiltradas em moldura sendo indolor, costuma localiza-se em áreas de pele, apresentado formatos ovalados ou arredondados, chegando a medir alguns milímetros ou até centímetros. Manifestando-se das seguintes formas: **leishmaniose cutânea localizada (LCL)** representada pelo acometimento primário da pele; e a forma **leishmaniose cutânea disseminada (LCD)** é relativamente rara, apresenta múltiplas lesões papulares e de aparência acneiforme acometendo vários segmentos corporais, principalmente tronco e face, podendo ter centenas de lesões (Ministério da Saúde, 2010a; Ministério da Saúde, 2010b).

**Leishmaniose mucosa ou mucocutânea (LM)** estima-se que 3 a 5% dos casos LC desenvolvem lesões de mucosa. Clinicamente a LM expressa lesões destrutivas nas mucosas das vias áreas superiores, sendo que essa forma clássica é secundária à lesão cutânea (Ministério da Saúde, 2007d).

**Leishmaniose Difusa (LD)** é uma forma anérgica da leishmaniose tegumentar e é caracterizada pela presença de lesões nodulares que não ulceram que envolve todo o corpo, com exceção do couro cabeludo, axila, palmas e solas. Sendo esse resultado da falta de imunidade por células ao antígeno leshmanial levando ao crescimento desordenando dos parasitas, é de natureza crônica com recidivas frequentes e anergia ao teste intradérmico de Montenegro (IDRM), mas são ricas em parasitas, apesar de ser uma condição rara, a mesma já foi relatado nas Américas do Sul e Central e Etiópia (GOTO et al., 2010; BARRAL et al., 1995; COSTA et al., 2009).

**Figura 03** Formas clínicas da LTA.



**FONTE:** Brasil (2007), Adaptado: Souza, M, L. 2013 adaptado.

Para o Ministério da Saúde (2010a), a forma tegumentar da doença é caracterizada por lesões dermatológicas crônicas que podem gerar deformidades nos indivíduos acometidos. Caso não sejam tratadas essas lesões podem curar-se espontaneamente em um período de meses ou anos, ou permanecerem ativas por vários anos e coexistir com lesões de mucosas.

### 3.1.4 Fisiopatogenia

Ao ser introduzida na pele do hospedeiro vertebrado na sua forma promastigotas infectante, as *leishmanias* encontram as células do sistema imune da pele, composto por macrófagos residentes, células de dendríticas, mastócitos e linfócitos T e B. Depois de vencido o primeira linha de defesa, a pele, o próximo passo da forma promastigota metacíclica é a sua adesão ao macrófago. Sendo essa etapa crítica para a infecção que vai ser mediada por receptores da membrana do macrófago que se ligam às moléculas da membrana das formas promastigostas metacíclicas, chamadas ligantes do parasito como, por exemplo, receptor de manose-fucose, receptor de fibronectina, receptores do complemento e receptor Fc. Depois da adesão, a fagocitose é uma ação rápida, acompanhado pela ativação da explosão da respiração do macrófago resultando na produção de peróxido de hidrogênio e superóxido, os quais são altamente tóxicos para o parasito dentro dos fagolisossomas (SILVEIRA et al., 2008).

Ainda intracelularmente, as formas promastigotas convertem-se em amastigostas e replicam-se o que pode causar a sua ruptura, entretanto, nesse microambiente o parasito vai sofrer vários mecanismos microbicidas como, produtos do metabolismo do oxigênio, baixo pH e proteínas catiônicas. Em contra partida, o

parasito não reconhecem os receptores do complemento CR3 e CR1, tentando inibir a ativação do sistema de complemento, que é um complexo protéico polimolecular constituído por várias substâncias que se encontram no plasma, nas membranas celulares e desempenham um papel importante em diferentes tipos de reações imunoinflamatório, sendo que a forma amastigota é capaz de superar esses mecanismos microbicidas do macrófago e sua sobrevivência dependerá então da sua capacidade de resistir aos mecanismos da imunidade celular (MURRAY et al., 2005; ITURRY-YAMAMOTO et al., 2001).

Nesse momento que se define as características da resposta imune como a intensidade e qualidade. Infecção por *L. braziliensis* pode gerar resposta hiperinflamatória persistente, onde é observada uma resposta mista do tipo T-helper 1 (Th1) e T-helper 2 (Th2) levando a lesões ou não (FARIA et al., 2012).

No caso da LTA a modulação da resposta por Th1 é decisivo para o controle de parasitas, mas uma inflamação não resolvida pode decorrer da falta de uma modulação apropriada dessa resposta. Visto que a imunossupressão contribui para a progressão da patologia não só devido à presença de citocinas imunorreguladoras, mas também por destruição parcial de tecidos linfóides (FARIA et al., 2012).

Os macrófagos são ativados em um estado leishmanicida gerando uma resposta T-helper celular tipo 1 (Th1), com secreção de citocinas pró-inflamatórias como IL-12, IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$  estimulando a capacidade microbicida do macrófago e estimulando o recrutamento de mais macrófagos para o local da lesão. Dessa forma o número de parasitas diminui, levando à diminuição do estímulo da resposta imune por ter uma quantidade menor de antígenos, proporcionando a cicatrização através do controle do processo inflamatório, aumentando a função dos fibroblastos, com produção de fibrose e tecido de cicatrização (MURRAY et al., 2005; SILVEIRA et al., 2008).

Acreditava-se que a patologia era conduzida por uma resposta do tipo Th1 mal conduzida ocorrendo uma resposta inflamatória exagerada. Mas em descobertas recentes percebeu-se que a inflamação observada em pessoas com *L. braziliensis* está diretamente ligada à citotoxicidade mediada por grânulos induzidas por células CD8+ sendo a causa da patologia e não a consequência (NOVAIS et al., 2017).

### 3.2 RESPOSTA IMUNOLÓGICA INATA

A função imunológica tem sido conceitualmente dividida em imunidade inata e imunidade adaptativa. A imunidade inata está presente desde o nascimento, oferecendo uma resposta imediata a entrada de microrganismos, sendo que alguns dos mecanismos previnem infecções (barreiras epiteliais) e outros eliminam os microrganismos (moléculas do sistema complemento, fagócitos e células *Natural Killer* (NK)) (CRUVINEL et al., 2010).

A resposta imune inata é a primeira linha de defesa do hospedeiro e reconhece microrganismos invasores desencadeando respostas imunológicas para eliminá-los (ALBIGER et al., 2007; ARANCIBIA et al., 2007). Ela é representada por barreiras físicas, químicas e biológicas, moléculas solúveis e células especializadas (CRUVINEL et al., 2010).

Segundo Martínez et al. (1999), o sistema imunológico é constituído por uma complexa rede de células e moléculas dispersas por todo o organismo e se caracteriza biologicamente por gerar interações específicas e não específicas, que desencadeiam uma resposta pró-inflamatória a patógenos invasores (MOGENSEN, 2009).

Os componentes da imunidade inata reconhecem estruturas que são características dos microrganismos, que não fazem parte das células dos mamíferos, sendo ela mediada principalmente por células fagocíticas e células apresentadoras de antígenos, macrófagos e células dendríticas (ABBAS et al., 2009; MOGENSEN, 2009). As moléculas microbianas que estimulam a imunidade inata são denominadas de Padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs). Os PAMPs são variados entre os microrganismos (vírus, bactérias, fungos) além de serem exclusivos, ou seja, não estando presente entre as células de mamíferos como o LPS (lipopolissacarídeo) e ácido lipoteicoico que fazem parte da membrana de bactérias. Além disso, a resposta imune inata oferece uma proteção ampla para uma grande variedade de patógenos e é baseada em um repertório de receptores denominados receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) (MOGENSEN, 2009; ALBIGER et al., 2007).

Tang et al. (2012), afirmam que os principais PAMPs são os ácidos nucleicos microbianos, incluindo DNA (por exemplo, motivos CpG não metilados), RNA de cadeia dupla (RNAcd), RNA de cadeia simples (RNAs) e RNA de 5'-trifosfato, bem

como lipoproteínas, glicoproteínas de superfície e componentes da membrana (peptídeoglicanos, ácido lipotécóico, lipopolissacarídeo (LPS) e (glicosilfosfatidilinositol), estas moléculas são reconhecidas pelos PRRs como por exemplo os receptores TLRs.

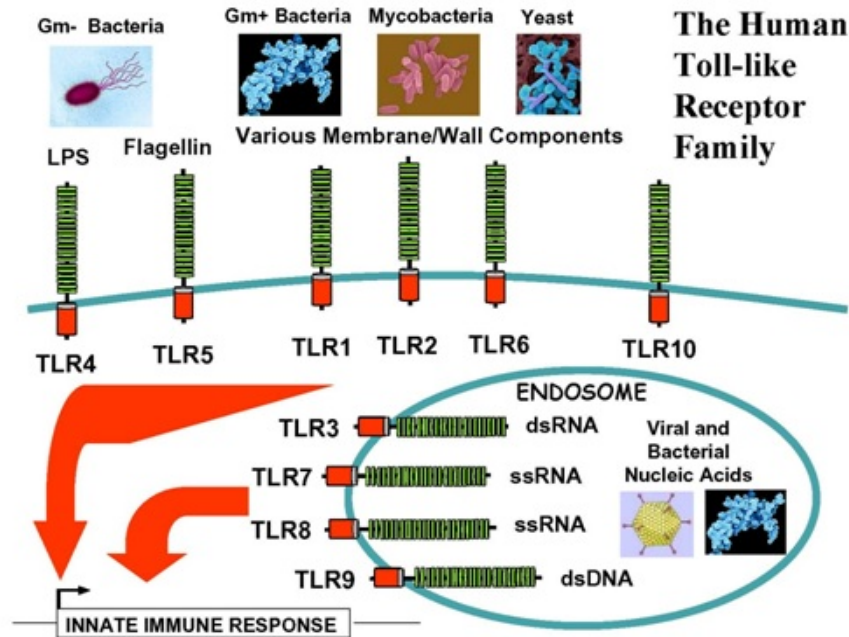
Dos PRRs, os receptores TLRs são os mais amplamente estudados, pois são os principais responsáveis pela detecção de PAMP no ambiente extracelular. (THOMPSON et al., 2011).

### 3.3 RECEPTORES TIPO TOLL

Os receptores TLRs são proteínas transmembranas, pertencentes a uma família de proteínas transmembrânicas do tipo I. Essas proteínas atravessam completamente a bicamada lipídica, apresentando, pelo menos, três regiões bem definidas: domínio extracelular, domínio transmembrana (TM) e domínio citosólico, com pesos moleculares variando de 90-115 kD que desempenham papel importante na identificação de padrões moleculares associados aos patógenos (KAWAI et al., 2010; KAWAI et al., 2011; BELL et al., 2003; CHOE et al., 2005). No final dos anos 90, os TLRs foram descritos como receptores essenciais para a resposta imune em *Drosophila* contra infecção fúngica. Nos anos seguintes também foram identificadas homólogos humanos dessas proteínas (ARANCIBIA et al., 2007).

Thompson et al., (2011) sustentam que 10 TLRs foram identificados em humanos e 13 em ratos, sendo o TLRs 1-10 comuns em ambos. Os TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 e TLR10 estão localizados na membrana plasmática enquanto os TLR3, TLR7, TLR8 e TLR9 são endossomais (FIGURA 04).

**Figura 04** Receptores da família *Toll-like*.



Fonte: <http://wap.sciencenet.cn/blogview.aspx?id=555566>

Esses receptores foram descritos primeiramente como componentes celulares da imunidade inata e, quando estimulados pelos seus ligantes respectivos, ativam a produção de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas. Nesse caso, a expressão de moléculas como IL-1, IL-6, IL-8 e CD14 (uma molécula marcadora para monócitos e macrófagos) é aumentada (MEDZHITOV et al., 1997; ZIEGLER-HEITBROCK et al., 1993).

A sinalização do Toll é paralela à via de sinalização movida pelo receptor de IL-1 (IL-1R) em células de mamíferos. Além disso, o domínio citoplasmático dos TLRs em *Drosophila* é homólogo ao domínio citoplasmático de IL-1R (MEDZHITOV et al., 1997). Ferraz et al. (2011), relataram que o domínio TIR (*TirL/IL-1 receptor*) é exigido para promover a geração dos sinais intracelulares, e que a proteína MyD88 está presente em todos os receptores, exceto no TLR3. Alguns receptores TLRs funcionam aos pares de modo que esta associação forma um receptor ativo. Ferraz et al. (2011), ainda explica que quando algum PAMP é reconhecido por algum receptor TLR específico, a proteína MyD88 recruta as cinases associadas ao IL-1R (IRAK-1 e IRAK-4) para ativar o fator 6 associado ao receptor do fator de necrose tumoral (TRAF:6) (FIGURA 05).

**Figura 05** Interação *Leishmania*/TLR.

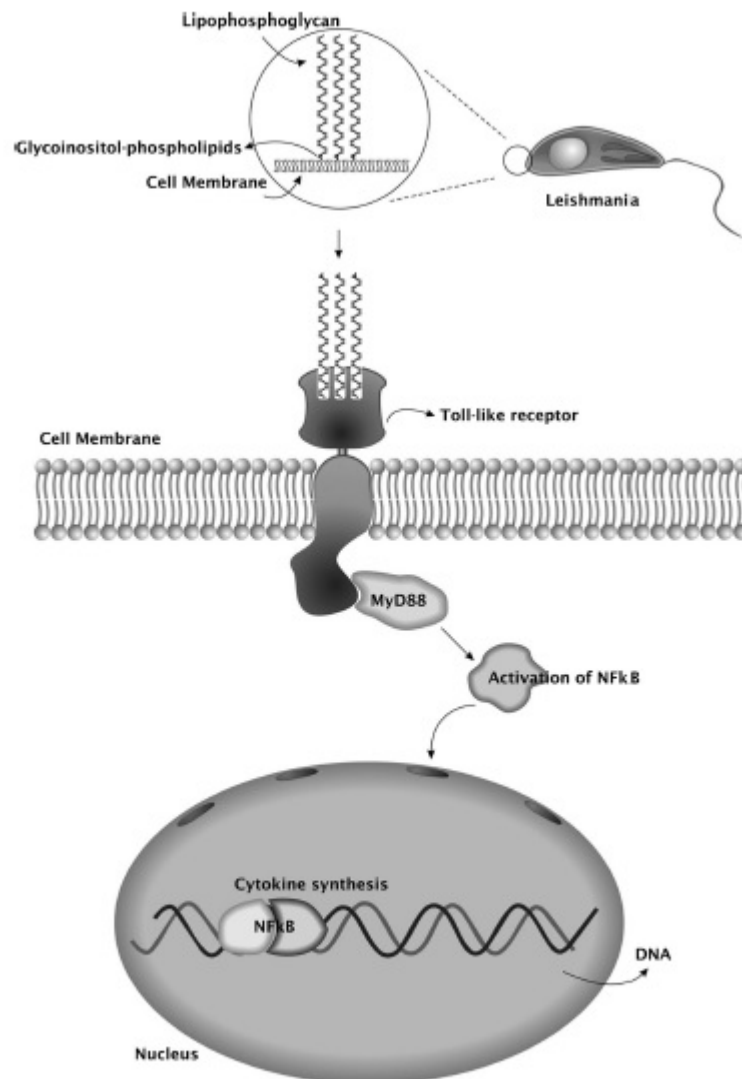


FIG. 1. TLR and MyD88 pathway in *Leishmania* infection. Suggested specific pathogen antigens are activators.

**Fonte:** Tuon et al., (2008)

Os PAMPs reconhecidos por alguns TLRs já foram identificados. Por exemplo, o dímero TLR1-TLR2 reconhece os PAMPs das bactérias gram-positivas, incluindo lipoproteínas, lipopeptídeos, peptideoglicanos e o ácido lipoteicoico (FERRAZ et al., 2011). Halliday et al., (2016); Ferraz et al. (2011), afirmam que os receptores TLR2 desempenha um papel no reconhecimento de parasitos diversos como *Mycobacterium tuberculosis*, microorganismos causadores de periodontite, incluindo, parasitos do gênero *Leishmania in vivo*, requerendo ativação através do lipofosfoglicano (LPG), que é o principal glicolípido de superfície presente nas formas promastigotas.

### 3.4 INTERAÇÕES *LEISHMANIA*/TLR

Os macrófagos atuam como principais células hospedeira de parasitos *Leishmania*, desenvolvendo uma resposta imune contra o patógeno através da apresentação de antígenos e produção de mediadores inflamatórios. Algumas moléculas derivadas de *Leishmania* têm sido relatadas em ativar TLRs, e a maioria dos estudos até o momento têm se concentrado na ativação de TLR2 e TLR9 (GALLEGO et al., 2011; FIGUEIREDO et al., 2013).

A via de sinalização TLR é um dos primeiros sistemas defensivos contra microrganismos invasivos. Sendo que os domínios de sinalização citoplasmática dos TLRs são separados dos domínios extracelulares ou luminal que reconhece o ligante por um único domínio que abrange membrana, esse domínio contém múltiplas repetições rico em leucina, que é 22-29 resíduos de comprimento e contém resíduos hidrofóbicos espaçados em intervalos distintos (TUON et al., 2008; BOTOS et al., 2011).

Ainda corroborando com esta informação Gallego et al. (2011), mostraram que, embora o conhecimento das moléculas de *Leishmania* que interagem com TLRs seja limitado, existem alguns PAMPs do parasita que são reconhecido por TLR em diferentes células que participam na resposta imune. Foi descrito que o LPG pode ativar células NK humanas e monócitos murinos através de TLR2 e tem sido implicado na indução da produção de óxido nítrico (NO) por células mononucleares de sangue periférico humano (PBMCs) via TLR2.

Gallego et al., (2011) mostraram que a interação TLR-ligante inicia a transdução de sinal através das proteínas adaptadoras MyD88 e/ou TRIF, que resulta na ativação de fatores como o NF- $\kappa$ B, induzindo a transcrição de mediadores inflamatórios tais como fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interferon do tipo I (IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$  e IFN- $\gamma$ )(PETSKA et al., 2004; VARGAS-INCHAUSTEGUI, 2009), interleucina-12 (IL-12) e moléculas co-estimuladoras, como CD80 e CD86 em monócitos, macrófagos e células dendríticas.

O TLR2 é acionado por glicolipídeos presentes na membrana de *Leishmania sp.*, estimulando macrófagos a secretarem citocinas como IL-12 e TNF- $\alpha$ . Estas citocinas são secretadas por macrófagos ativados e desempenham papéis importantes na diferenciação de células TCD4<sup>+</sup> T-helper naive em Th-1 pró-



inflamatória (MAITY et al., 2009). Outros estudos mencionam que TLR2 ativa NF- $\kappa$ B mediado por LPG. (DE VEER et al., 2003; TUON et al., 2008).

No entanto, Gallego et al. (2011), demonstraram que a ausência de TLR2 promove a produção de IL-12 por células dendríticas durante a infecção por *L. braziliensis*, sugerindo que este receptor também pode desempenhar um papel regulador negativo. Também é notável que a deficiência de TLR2 é responsável pela redução na carga parasitária em camundongos e no recrutamento de células inflamatórias (GUERRA et al., 2010).

O TLR9 é conhecido como receptor para DNA CpG bacterianos não metilados e é importante para a indução de citocinas pró-inflamatórias durante a infecção com protozoários (GAZINELLI et al., 2006). Em uma revisão realizado por Tuon et al. (2008), foi demonstrado que o TLR9 em humanos está presente apenas em células dendríticas plasmocitóides. Estas são células morfológicamente semelhante a uma célula plasmática localizada na zona T de tecidos linfóides secundários, mas sem marcadores para células B e T. Elas são capazes de produzir IFN do tipo 1 e diferenciar-se em células dendríticas capazes de estimular células T de um antígeno específico (SOUMELIS et al., 2006) e linfócitos B. Em murganhos que é uma espécie de pequeno roedor da família dos murídeos, com mutação no gene TLR4 que não são capazes de curar lesões cutâneas de *Leishmania*, foram realizados estudos experimentais que era responsivo a IL-12. A IL-12 é uma citocina muito importante na resposta imune contra *leishmania*, sendo responsável por desenvolver um padrão Th1, que pode ter a sua indução ativada por TLR9 (GAZZINELLI et al., 2006).

### 3.5 RECEPTORES DO TIPO TOLL ENVOLVIDOS NA INFECÇÃO POR LEISHMANIA.

Componentes da resposta imune inata determinam o padrão da resposta imunológica durante a infecção por *Leishmania*, sendo os TLRs um desses participantes (ARANCIBIA et al., 2007). Foi demonstrado o papel do TLRs na imunidade contra parasitos, como ocorre no reconhecimento de moléculas de *Schistosoma mansoni* e *Trypanosoma cruzi*, dados recentes têm evidenciado o envolvimento de TLR2 por macrófagos e células NK no reconhecimento do LPG de *Leishmania spp.* (GUERRA et al., 2010).

Billack (2006), diz que os macrófagos exibem vários receptores na sua superfície para o reconhecimento de patógenos. Guerra et al. (2010), perceberam que a capacidade das espécies de *Leishmania* para sobreviverem nas células hospedeiras envolve mecanismos complexos, como a participação de moléculas e receptores de ambos, parasito e hospedeiro. Esperar-se também que as proteínas modificadas por oxidação ou nitração podem ser ligantes de TLR, podendo promover inflamação.

Ferraz et al. (2011), afirmam que deve ocorrer um equilíbrio entre a ativação e inativação dos receptores TLRs, para evitar uma resposta inflamatória excessiva, como ocorre nas doenças crônicas inflamatórias e auto imunes (BECKER et al., 2003; FLANDIN et al., 2006; LANGE et al., 2004).

Becker et al. (2003), demonstram que o LPG estimula a transcrição de RNA mensageiro promovendo aumento da expressão de TLR2 em macrófagos. Além disso, o LPG aumenta a produção de IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$  através da ligação com o TLR2 e este reconhece outros antígenos que tenham semelhança com LPG, desde que contenham a sequência de carboidrato Gal- $\beta$ -1,4Man-PO<sup>4</sup> (FLANDIN et al., 2006). A ligação LPG ao TLR2 desencadeia uma série de reações enzimáticas intracelulares que irão levar a produção de citocinas da resposta imune inata (KROPP et al., 2004).

Singh et al. (2012), afirmam que o LPG é um glicoconjugado que desempenha um papel muito importante na entrada silenciosa de parasitas em macrófagos. O LPG regula diferencialmente as vias de sinalização MAPK, (do inglês *Mitogen-Activated Protein Kinases*) e a produção de citocinas em infecções leishmaniais via TLR2.

Carneiro et al. (2016), afirmam que existem duas moléculas importantes no controle da *Leishmania* que são ânions superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) e óxido nítrico (NO), produzidos no período inicial da infecção por *Leishmania*, onde o superóxido é produzido como parte da resposta oxidativa de macrófagos em resposta à fagocitose. O óxido nítrico que é o segundo oxidante produzido por macrófagos, que, em contraste com o superóxido, é gerado após a ativação de macrófagos por IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ . Sendo que nos sistemas murinos demonstrou-se que o IFN- $\gamma$  se sinergise com o TNF para ativar o óxido nítrico sintase induzível (iNOS ou NOS2) para produzir óxido nítrico (NO), resultando na erradicação de parasitas intracelulares (CARNEIRO et al., 2016).

A ativação via TLR2 também pode ocorrer através das células NK com a ligação de LPG ao TLR2 que resulta na sua ativação subsequente ao IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$  através da translocação do núcleo NF- $\kappa$ B para eliminar o parasita (SINGH et al., 2012).

Após ser fagocitado pelos macrófagos, parte dos parasitos são degradados e fragmentos do DNA são liberados, sendo parte deles, denominados CpG (regiões do DNA onde citosina encontra-se ligada a guanina), reconhecidos pelo TLR9 (TUON et al., 2010). A resposta mediada pelo TLR9 é caracterizada pela produção de citocinas pró-inflamatórias como, IL-12 sendo esta uma resposta do tipo Th1 (KIM et al., 2010).

Singh et al. 2012, sugere que as células NK possuem um papel significativo na leishmaniose, onde estas parecem reduzir a infecção já instalada através da sinalização por TLR9, sendo esta ligação essencial na ativação de células NK e na redução da carga de parasitas.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho foi mostrado através da revisão de literatura que a leishmaniose tegumentar americana causada por *Leishmania braziliensis* é capaz de induzir a ativação de células do sistema imune inata através de receptores do tipo TLR e ativar a produção de citocinas pró-inflamatórias para combater a patogênese.

Após a infecção o indivíduo, estimula as células imunes que estão presentes no tecido epitelial (macrófagos residentes, células de Langerhans, mastócitos e linfócitos B e T) para eliminar o patógeno, e os que conseguirem burlar essa primeira etapa irão atrair para o local, mas células como macrófagos, neutrófilos, células dendríticas e NK que terão em sua superfície e em seus endossomos receptores do tipo TLR2 e TLR9 respectivamente e dentre outros receptores ativando resposta imunológica.

Nesta revisão é possível observar que existe a geração de uma resposta hiperinflamatória persistente, onde é plausível observar uma resposta mista do tipo Th1 e Th2. A resposta do tipo Th1 vai ocorrer através das células apresentadoras de antígenos respondendo com células T CD4<sup>+</sup> e secretando citocinas pró-inflamatórias como IL-12, IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ , diminuindo assim a quantidade de parasito, podendo assim constituir potenciais alvos terapêuticos. Sendo essa resposta do tipo Th1 a, mas importante para a LTA, porque ela vai determinar a manifestação clínica da patologia que se apresentará na forma cutânea e também esta relacionada com o controle da doença, e a do tipo Th2 vai ser responsável pela susceptibilidade da infecção e está envolvida na indução da resposta humoral.

## REFERÊNCIAS

- ABBAS A. k.; LICHTMAN. A. H. **Imunologia básica: funções e distúrbios do sistema imunológico**. 3 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.
- ALBIGER, B.; DAHLBERG, S.; HENRIQUES-NORMARK, B & NORMARKS. Role of the innate system in host defence against bacterial infections: focus on the Toll-like receptors. **Journal of Internal Medicine** **261**; 511-528, 2007.
- ALVAR, J.; VÉLEZ I. D.; BERN, C.; HERRERO, M.; DESJEUX, P.; CANO, J.; JANNIN, J.; DEN BOER, M. Leishmaniasis Worldwide and Global ESTIMATES OF Its Incidence. **Plos One**, v 7, 2012.
- ANDRADE, M. I.; DE SOUZA, R. A.; SANTOS NETA, M. P. dos; BARBOSA, L. V.; Leishmaniose Tegumentar Americana: Uma Análise de Território do Recôncavo da Bahia. **Anais XVI Encontro Nacional dos Geógrafos. Crise, praxis e autonomia: espaços de resistência e de esperanças. Espaço de diálogos e práticas**. Porto Alegre- RS, 2010.
- ARANCIBIA, S. A.; BELTRÁN, C. J.; AGUIRRE, I. M.; SILVA, P.; PERALTA, A.; MALINARICH, F.; HERMOSO, M. A.; Toll-like receptors are key participants in innate immuneresponses. **Laboratorio de Inmunidad Innata, Programa Disciplinario de Inmunología, Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM)**, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile. *Biol Res* 40:97-112, 2007.
- ASHFORD, R.W., Liverpool School of Tropical Medicine, Liverpool. The leishmaniasis as emerging and re-emerging zoonoses. **Internacional Journal for Parasitology**. 2000.
- BARRAL, A. M. D.; JACKSON, M. L.; COSTA, M. D.; ACHILÉA, L. B. M. D.; BARRAL-NETO, M. D.; EDGAR, M. C. M. D. Polar and subpolar diffuse cutaneous leishmaniasis in Brazil: Clinical and immunopathologic aspects. **International Journal Dermatology**, v 34, n 7, 1995.
- BASANO, S. A.; CAMARGO, L. M. A.; American cutaneous leishmaniasis: history, epidemiology and prospects for control. **Rev. Bras. Epidemiol.** v 7, n 3, 2004.
- BECKER, I.; SALAIZA, N.; AGUIRRE, M.; DELGADO, J.; CARRILLO-CARRASCO N.; KOBEH, L. G.; RUIZ, A.; CERVANTES R.; TORRES, A. P.; CABRERA, N.; GONZÁLEZ, A.; MALDONADO, C.; ISIBASI, A.; *Leishmanial* lipophosphoglycan (LPG) activates NK cells through toll-like receptor-2. **Molecular & Biochemical Parasitology**, 130, 65-74, June 2003.
- BELL, J. K.; MULLEN, G. E. D.; LEIFER, C. A.; MAZZONI, A.; DAVIES, D. R.; SEGAL, D. M. Leucine-rich repeats and pathogen recognition in Toll-like receptors. **Trends Immunol.** 24, 528-533, 2003.
- BILLACK, B.; Macrophage Activation: Role of Toll-like Receptors, Nitric Oxide, and Nuclear Factor kappa B. **American Journal of Pharmaceutical Education**, 2006.
- BOTOS, I.; SEGAL, D. M.; DAVIES D. R.; The structural biology of toll-like receptors. **Structure** **19**, April 2011.

BRITO, M. E. F.; ANDRADE, M. S.; DANTAS-TORRES, F.; RODRIGUES, E. H. G.; CAVALCANTI, M. P.; ALMEIDA, M. P.; BRANDÃO-FILHO, S. P. Cutaneous leishmaniasis in northeastern Brazil: a critical appraisal of studies conducted in State of Pernambuco. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**.45 (4): 425-429, 2012.

CARNEIRO, P.P.; CONCEIÇÃO, J.; MACEDO, M.; MAGALHÃES V.; CARVALHO, E.M.; BACELLAR, O..The Role of Nitric Oxide and Reactive Oxygen Species in the Killing of *Leishmanibraziliensis* by Monocytes from Patients with Cutaneous Leishmaniasis. **Journal PLOS ONE**. 2016.

CHOE, J.; KELKER, M. S.; WILSON, I. A.; Crystal structure of human toll-like receptor 3 (TLR3) ectodomain. **Department of Molecular Biology and the Skaggs Institute for Chemical Biology**. The Scrips Research Institute (TSRI), 10550 North Torrey Pines Road, La Jolla, CA 92037, USA. July 2005.

COSTA, J. M. L.; COSTA, A. A. U. M. L.; ELKHOURY, A. N.; BEZERRIL, A. C. R.; BARRAL, A.; SALDANHA, A. C. R.; Leishmaniose Cutânea Difusa (LCD) no Brasil Após 60 Anos de sua Primeira Descrição. **Gazeta Médica da Bahia**, 2009.

CRUVINEL,W. M.; MESQUITA, J. D.; ARAÚJO, J. A, P.; CATELAN, T. T. T.; SOUZA, A. W. S.; SILVA, N. P.; ANDRADE, L. E. C. Sistema imunitário – Parte I Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória.**RevBrasReumatol** 50 (4): 434-61. 2010.

DE VEER, M. J.; CURTIS, J. M.; BALDWIN, T. M.; JOSEPH, A. D.; SEXTON, A.; MCCONVILLE, M.; HANDMAN, E.; SCHOFIELD, L.. MyD88 is essential for clearance of *Leishmania major*: possible role for lipophosphoglycan and toll-like receptor 2 signaling. **Eur. J. Immunol**. 2822-2831, 2003.

ELMAHALLAWY, E. K.; MARTÍNEZ, A. S.; GRANGER, J. R.; MALLECOT, Y. H.; AGIL, A.; MARI, J. M. N.; FERNÁNDEZ, J. G.; Diagnosis of leishmaniasis.**JInfectDevCtries**, 8 (8): 961-972, 2014.

FARIA, M.S.; REIS, F.C.G.; LIMA, A.P.C.A..Toll-like receptors in Leishmania Guardians or Promoters? **JournalofParasitologyResearch**. 2012.

FERRAZ, E. G.; SILVEIRA, B. B. B.; SARMENTO, V. A.; SANTOS, J. N. Receptores Toll-like: ativação e regulação da resposta imune. **RGO- Rev Gaúcha Odontol.**, Porto Alegre, v 59, n 3, p 483-490. 2011.

FIGUEIREDO, M. M.; AMORIM, I. F. G.; PINTO, A. J. W.; BARBOSA, V. S.; PINHEIRO, L. de J.; DEOTI, B.; FARIA, A. M. C.; TAFURI W. L..Expressionoftoll-like receptors 2 and 9 in cells of dog jejunum and colon naturally infected with *Leishmania infantum*.**BMC Immunology**. 14-22, 2013.

FLANDIN, J. F.; CHANO, F.; DESCOTEAUX, A.; RNA interference reveals a role TLR2 and TLR3 in the recognition of *Leishmania donovani* promastigotes by interferon- $\gamma$ -primed macrophages. **Eur.J. Immunol** 411-420, maio 2006.

FLOETER-WINTER, L. M.. Descrição e utilização de alvos moleculares para identificação de *Leishmania* por PCR. **Bepa, Bol. Epidemiol. paul. (online)** v7jan 2010.

FOGANHOLI, J. N.; Importância da leishmaniose na saúde pública. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, 2011.

GALLEGO, C.; GOLENBOCK, D.; GOMEZ, M. A.; SARAVIA, N. G.; Toll-like receptors participate in macrophage activation and intracellular control of *Leishmania (Viannia) panamensis*. **Infection and Immunity**, 2871-2879, v.79 July 2011.

GAZZINELLI, R. T.; DENKERS, E. Y.; Protozoan encounters with toll-like receptor signaling pathways: implications for host parasitism. **Nature Publishing Group**, December 2006.

GOTO, H.; LINDOSO, J. A. L.; Current diagnosis and treatment of cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Expert. Rev. Anti infect. Ther.** 8(4), 419-433 (2010).

GUERRA, C. S.; SILVA, R. M. M.; CARVALHO, L. O. P.; CALABRESE, K. S.; BOZZA, P. T.; CÔRTE-REAL, S.; Histopathological analysis of initial cellular response in TLR-2 deficient mice experimentally infected by *Leishmania (L.) amazonensis*. **International Journal of Experimental Pathology**, 91, 451-459, march 2010.

HALLIDAY, A.; BATES, P. A.; CHANCE, M. L.; TAYLOR, M. J.; Toll-like receptor 2 (TLR2) plays a role in controlling cutaneous leishmaniasis in vivo, but does not require activation by parasite lipophosphoglycan. **Parasites & Vectors**, 2016.

HONDOWICZ, B.; SCOTT, P. Influence of host and parasite factors on the innate immune response and Th2 stability following infection with *Leishmania major*. Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA 19104, USA. **Microbes and Infection**, 1, 65-71, 1999.

ITURRY-YAMAMOTO, G. R.; PORTINHO, C. P.. Sistema complement: ativação, regulação e deficiências congênitas e adquiridas. **Rev Ass Med Brasil**. 2001.

KAWAI, T.; AKIRA S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. **Nature Immunology**. v. 11 n.5 may 2010.

\_\_\_\_\_; AKIRA, S. Toll-like Receptors and Their Crosstalk with Other Innate Receptors in Infection and Immunity. **Immunity**, 34, 2011.

KIM, G. T.; CHO, M. L.; PARK, Y. E.; YOO, W. H.; KIM, J. H.; OH, H. J.; KIM, D. S.; BAEK, S. H.; LEE, S. H.; LEE, J. H.; KIM, H. Y.; KIM, S. Expression of TLR2, TLR4, and TLR9 in dermatomyositis and polymyositis. **ClinRheumatol**, 29- 273-279, 2010.

KROPF, P.; FREUDENBERG, N.; KALIS, C.; MODOLELL, M. ; HERATH, S.; GALANOS, C.; FREUDENBERG, M.; MULLER, I.; Infection of C57BL/10ScCr and C57BL/10ScNCr mice with *Leishmania major* reveals a role for Toll-like receptor 4 in the control of parasite replication. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 76, July 2004.

LANGE, U. G.; MASTROENI, P.; BLACKWELL, J. M.; STOBBER, C. B.; DNA-*Salmonella enteric* SerovarTyphimurium Primer-Booster Vaccination Biases towards T Helper 1 Responses and Enhances Protection against *Leishmania major* Infection in Mice. **Infection and Immunity**, 4924-4928, Aug 2004.

MAITY, P. C.; BHATTACHARJEE, S.; MAJUMDAR, S.; SIL, A. K.; Potentiation by cigarette smoke of macrophage function against *Leishmaniadonovani* infection. **Inflamm res**, 22-29, 2009.

MARTÍNEZ, A. C.; MON, M. A.; O sistema imunológico (I): Conceitos gerais, adaptação ao exercício físico e implicações clínicas. **Rev. BrasMed Esporte**. v 5 n3 1999.

MEDZHITOV, R.; PRESTON-HULBURT, P.; JANEWAY JR, C. A.. A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity. **Nature**, v. 388, July 1997.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Departamento de Vigilância Epidemiológica. Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso/ Ministério da Saúde**, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 8. ed. rev. – Brasília: Ministério da Saúde, 2010(a).

\_\_\_\_\_. Secretaria de vigilância em Saúde. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana/ Ministério da Saúde**, Secretaria de Vigilância em Saúde. - 2. ed. atual. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2010(b).

\_\_\_\_\_. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana/ Ministério da Saúde**, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 2. ed. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2007(d).

MINISTÉRIO DA SAÚDE, **Situação epidemiológica**. Disponível em: [portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/723-secretaria-svs/vigilancia-de-a-a-z/leishmaniose-tegumentar-americana-lta/11328-situacao-epidemiologica-dados](http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/723-secretaria-svs/vigilancia-de-a-a-z/leishmaniose-tegumentar-americana-lta/11328-situacao-epidemiologica-dados). Acesso em 14 ago. 2017.



MOGENSEN, T. H. Pathogen Recognition and Inflammatory Signaling in Innate Immune Defenses. **ClinMicrobiol Rev** 22, 240–273 2009.

MURRAY, H. W.; BERMAN, J. D.; DAVIES, C. R.; SARAVIA, N. G. Advances in leishmaniasis. **TheLancet**.v 366, 2005.

NOVAIS, F. O.; CARVALHO, A. M.; CLARK, M. L.; CARVALHO, L. P.; BEITING, DANIEL. P.; BRODSKY, I. E.; CARVALHO, E. M.; SCOTT, P.. CD8+ cell cytotoxicity mediates pathology in skin by inflammasome activation and IL-1 $\beta$  production. **PLOS PATHOGENS**.2017.

PESTKA, S.; KRAUSE, C. D.; WALTER, M. R.; Interferons, interferon-like cytokines, and their receptors. **ImmunologicalReviews**, v. 202, 8-32, 2004.

PIMENTA, P.F.; TURCO, S. J.; MCCONVILLE M.J.; LAWYER, P.G.; PERKINS, P.V.; SACKS, D.L.. Stage-specific adhesion of *Leishmania* promastigotes to the sandfly midgut. **Science**. v 256 .1992.

PINHEIRO, R.O.. Leishmaniose Tegumentar Americana: mecanismos imunológicos, tratamento e profilaxia. **Informa**, v16 n7-8, 2004.

REIS, L. C.; DE BRITO, M.E.F.; SOUZA, M. S.; PEREIRA, V.R.A.. Mecanismos imunológicos na resposta celular e humoral na leishmaniose tegumentar americana. **Revista de Patologia Tropical**. v.35, 2006.

SILVEIRA, F. T.; MULLER, S. R.; DE SOUZA, A. A. A.; LAINSON, R.; GOMES, C. M. C.; LAURENTI, M. D.; CORBETT, C. E. P.; Review of the pathogenesis of the American tegumentarleishmaniasis in Amazonian, with emphasis to the disease due to *Leishmania (V.) braziliensis* and *Leishmania (L.) amazonensis*. **Revista Paraense de Medicina**.v 22, 2008.

\_\_\_\_\_; LAISON, R.; CORBETT, C.E.P..Clinical and Immunopathological Spectrum of American Cutaneous Leishmaniasis with Special Reference to the Disease in Amazonian Brazil – A Review. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. v99, 2004.

SINGH, R.; SRIVASTAVA, A.; SINGH N..Toll-like receptor signaling: A perspective to develop vaccine against leishmaniasis. **Microbiological Research**.2012.

SOUMELIS, V.; LIU, Y-J.; Fromplasmacytoid to dendritic cell: morphological and fuctional switches during plasmacytoid pre-dendritic cell differentiation. **Eur. Journal of Immunology**, 2286-2292, 2006.

TANG, D.; KANG, R.; COYNE, C. B.; ZEH, H. J. &LOTZE, M. T.PAMPs and DAMPs: Signal 0s that Spur Autophagy and Immunity. **ImmunolRev**249, 158–175 (2012).

THOMAZ, L.. Proteção ou exacerbação de anticorpos monoclonais gerados contra antígenos de *Paracoccidioides brasiliensis* na infecção experimental. Tese de Doutorado. **Universidade de São Paulo**, 2012.

THOMPSON, M. R.; KAMINSKI, J. J.; KURT-JONES, E. A. & FITZGERALD, K. A. Pattern Recognition Receptors and the Innate Immune Response to Viral Infection. **Viruses** **3**, 920–940. 2011.

TUON, F. F.; AMATO, V. S.; BACHA, H. A.; ALMUSAWI, T.; DUARTE, M. I.; NETO, V. A.; Toll-like Receptors and Leishmaniasis. **Infection and Immunity**, 866-872, 2008.

\_\_\_\_\_; FERNANDES, E. R.; PAGLIARI, C. DUARTE, M. I. S.; AMATO, V. S..The expression of TLR9 in human cutaneous leishmaniasis is associated with granuloma. **Parasite Immunology**, 769-772, 2010.

VARGAS-INCHAUSTEGUI, D. A.; TAI, W.; XIN, L.; HOGG, A. E.; CORRY, D. B.; SOONG, L.. Distinct Roles for MyD88 and Toll-Like Receptor 2 during Leishmaniabraziliensis Infection in Mice.**Infection and Immunity**. v77 n7: 2948–2956, 2009.

WHO Library Cataloguing-in-Publication Data: **Controlo f the leishmaniasis: reporto f a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniases**, Geneva, 22-26 March 2010.

ZIEGLER-HEITBROCK, H. W. L.; ULEVITCH, R. J.. CD14: Cell surface receptor and differentiation marker. **Immunology Today**, v. 14, 1993.