

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE**

**PERFIL SÉRICO DE CITOCINAS TH1, TH2 e TH17 EM PACIENTES  
COINFECTADOS POR *L.infantum*/HIV NO ESTADO DO MARANHÃO, BRASIL**

**Cristiane Michele Sampaio Cutrim**

**São Luís 2021**

**CRISTIANE MICHELE SAMPAIO CUTRIM**

**PERFIL SÉRICO DE CITOCINAS TH1, TH2 e TH17 EM PACIENTES  
COINFECTADOS POR *L.infantum*/HIV NO ESTADO DO MARANHÃO,  
BRASIL.**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Saúde e Ambiente da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do título de Mestre em Saúde e Ambiente.

Orientadora: Profa. Dra. Mayara Ingrid Sousa Lima

Co-orientador: Prof. Dr. Leonardo Teixeira Dall'Agnol

**São Luís**

**2021**

Cutrim, Cristiane Michele Sampaio.

Perfil sérico de citocinas Th1, Th2 e Th17 em pacientes  
coinfectedados por *L.infantum*/HIV no estado do Maranhão – Brasil /  
Cristiane Michele Sampaio Cutrim. \_ São Luís, 2020.

53 f.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Mayara Ingrid

Sousa Lima.

Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) – Universidade  
Federal do Maranhão, 2021

1. Leishmaniose Visceral. 2. HIV/Aids

3. Coinfecção.

4. Citocinas

DU

**CRISTIANE MICHELE SAMPAIO CUTRIM**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Saúde e Ambiente da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do título de Mestre em Saúde e Ambiente.

Aprovada em:        /    /

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Profa. Dra. Mayara Ingrid Sousa Lima**  
(Orientadora)

Universidade Federal do Maranhão

---

**Prof. Dr. Leonardo Teixeira Dall’Agnol**  
(Co-orientador)

Universidade Federal do Maranhão

---

**Profa. Dra. Hivana Barbosa Dall’Agnol**  
Universidade Federal do Maranhão

---

**Prof. Dra. Patrícia Valéria C.B. Araujo**  
Universidade Federal do Maranhão

---

**Prof. Dra. Conceição de Maria Pedrozo Silva de Azevêdo**  
Universidade Federal do Maranhão

*“A alegria que se tem em  
pensar e aprender faz-nos  
pensar e aprender ainda  
mais”*

Aristóteles

## AGRADECIMENTOS

Aos meus preciosos pais, Edvaldo e Ione Cutrim pelo apoio incessante e sem os quais jamais chegaria até aqui.

A minha família, esposo, filhos e irmãos pelo carinho e força vital para alcançar o meu melhor

A Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Mayara Ingrid Sousa Lima e Prof. Dr. Leonardo Teixeira Dall'Agnol pelo acolhimento, pela competência na condução dos problemas que pareciam insolúveis e pela confiança depositada e seriedade com que orientaram-me no exercício do presente trabalho.

À Prof. Dra. Conceição de Maria Pedrozo Silva de Azevedo, pelas grandes contribuições desde o planejamento do estudo até sua conclusão.

À Ms. Raíssa da Costa Sousa, Mariene Oliveira pelo precioso auxílio nos testes e em todo o processo

À Uiara Regina Silva de Lima, pela paciência e pelas sugestões.

Aos professores, funcionários e colegas da Pós-Graduação do Mestrado em Saúde e Ambiente que contribuíram para a execução dessa dissertação, em especial Iolanda Barros de Souza pelas valiosas contribuições, desde a nossa aprovação.

À Dra. Susanne Caroline Ferreira Cutrim, pelo auxílio em todas as etapas do processo.

Ao Hospital Presidente Vargas, pelas portas abertas; aos colegas de trabalho, pela gentileza e a todos os funcionários pela cooperação com as demandas da pesquisa que se somaram à árdua rotina de trabalho de cada um todos que direta ou indiretamente colaboraram na elaboração e execução de quaisquer das etapas deste trabalho.

Ao meu pai, presença permanente  
(*in memoriam*).  
À minha mãe, com amor, eterna  
gratidão.

## RESUMO

A Leishmaniose Visceral (LV) é uma doença endêmica nos países da América Latina, tendo o quadro clínico se agravado quando o paciente apresenta coinfeção por outros agentes, especialmente o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV). Em pacientes coinfectados, observa-se uma complexa resposta imune, com correlação de citocinas pró, anti-inflamatórias e moduladoras. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil da produção de citocinas do padrão Th1/Th2/Th17 em pacientes com coinfeção LV/HIV em uma área de alta endemia. Trata-se de estudo descritivo do tipo comparativo-transversal realizado com 50 pacientes, estratificados em dois grupos: LV/HIV e LV oriundos do estado do Maranhão, Brasil. Desses pacientes, foram obtidas informações clínicas, epidemiológicas e realizada a coleta sorológica para avaliar a produção de citocinas. Os pacientes co-infectados LV-HIV são predominantemente do sexo masculino (84,0%); a frequência de óbito e recidiva é de 8,0% e 32%, respectivamente. Quando avaliou-se a concentração de citocinas dos pacientes com e sem coinfeção, observou-se que houve diferença estatisticamente significativa na produção de IL-2 e IL-10 entre os grupos. Além disso, nos pacientes coinfectados há uma correlação positiva moderada ou forte e estatisticamente significativa na produção de IL-2 e IL-4; IL-2 e IL-6; IL-4 e TNF; IL-4 e IL-6; IL-6 e TNF. Entretanto, ao subdividir o grupo LV-HIV não houve diferença para nenhuma das variáveis analisadas, considerando sintomas e sinais clínicos, recidiva, óbito, parâmetros laboratoriais e escore clínico de severidade, demonstrando que a produção diferenciada de citocinas não tem uma correlação com um subgrupo clínico em específico. Assim, os dados demonstram que os pacientes LV-HIV, de forma homogênea, apresentam um comprometimento da resposta imunológica e a produção direta de citocinas específicas pelos estímulos patogênicos ou indiretamente pelo próprio grau de ativação do sistema imune, acaba por sustentar e agravar este processo.

Palavras-chave: Leishmaniose visceral; alta endemia; AIDS

## ABSTRACT

Visceral Leishmaniasis (LV) and HIV / AIDS are serious public health problems in the state of Maranhão, considering the isolated analysis of these diseases, as well as the cases of patients co-infected with *Leishmania infantum* and HIV. Several evidences have demonstrated that the pathogens of both diseases seem to interact synergistically, leading to a worsening of the clinical manifestations in patients. This can be explained by the parasite-host interaction, considering the virulence profile of the pathogens, as well as some specific components of the host, in particular the immunological aspects, reflected in the innate and adaptive immune response. Thus, the objective of this study was to evaluate the production profile of inflammatory cytokines in Leishmaniasis / HIV co-infection in the state of Maranhão - Brazil. The research is a descriptive study of the comparative-transversal type carried out with 25 individuals with visceral leishmaniasis and 25 co-infected LV / HIV individuals, attended at the State reference Hospital for infectious and parasitic diseases in São Luís (MA). From these patients, epidemiological information was obtained, as well as serological collection was performed to assess the production of inflammatory cytokines, detected by flow cytometry. From an epidemiological point of view, male individuals represented 84% of co-infected patients and 96% of non-co-infected patients; lethality and clinical recurrences were significantly higher in co-infected patients, 13.5% and 73.0%, respectively. As for the immunological aspects related to inflammatory cytokines, only the production of IL-10 was statistically higher in the group of co-infected patients, but there was no difference in the total production of cytokines within this group when considering patients with or without recurrences. The combined analysis showed that there were significant positive correlations within the group of co-infected patients, when comparing two cytokines simultaneously. This result demonstrates the interaction that occurs in the production of these cytokines, especially in the group of co-infected patients, indicating that multiple analyses are necessary to understand the profile of the production of inflammatory cytokines in these patients. Demonstrating the role of inflammatory cytokines in the pathogenesis of these diseases can be important to optimize treatments and consequently reduce their lethality.

Key words: Maranhao, visceral leishmaniasis, AIDS

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

**Figura 1** – Micrografia das formas morfológicas mais comuns de *Leishmania spp.*(A) Promastigota; (B)Amastigotas. 18

### CAPÍTULO I

**Figura 1.** Diagramas de dispersão de citocinas em pacientes com Leishmaniose Visceral, com e sem HIV, no estado do Maranhão. Em que 1(IL-2); 2 (IL-4); 3 (IL-6); 4 (IL-10); 5 (TNF $\alpha$ ); 6 (IFN $\gamma$ ); 7 (IL-17 $\alpha$ ); A (Grupo Co-infectado); B (Grupo LV). Eixo Y: Concentração de citocina; Eixo X: Indivíduo específico. 32

**Tabela 1** - Frequência de óbito, recidiva e distribuição do sexo em pacientes com LV-HIV. 31

**Tabela 2** - Resultados imunológicos de pacientes com LV ou com coinfeção LV/HIV no estado do Maranhão. São Luís, Maranhão, Brasil, 2020 31

**Tabela 3** - Correlação linear do perfil de citocinas entre pacientes com coinfeção de Leishmaniose Visceral e HIV no estado do Maranhão. 33

**Tabela 4** - Correlação linear do perfil de citocinas entre pacientes com Leishmaniose Visceral no Estado do Maranhão. São Luís, Maranhão, Brasil, 2020 33

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>13</b>
<b>2.</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b>	<b>15</b>
<b>2.1</b>	Epidemiologia	<b>15</b>
<b>2.1.1</b>	Leishmaniose visceral	<b>15</b>
<b>2.1.2</b>	Co-infecção Leishmaniose-HIV	<b>15</b>
<b>2.2</b>	Infecção, transmissão e manifestações clínicas	<b>17</b>
<b>2.2.1</b>	LV	<b>17</b>
<b>2.2.2</b>	Co-infecção Leishmaniose-HIV	<b>18</b>
<b>2.2.3</b>	Citocinas	<b>21</b>
<b>3.</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>20</b>
<b>3.1</b>	Objetivo geral	<b>20</b>
<b>3.2</b>	Objetivos específicos	<b>20</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>21</b>
	<b>CAPÍTULO I</b>	<b>26</b>
	<b>ARTIGO</b>	<b>27</b>
	INTRODUÇÃO	<b>28</b>
	METODOLOGIA	<b>29</b>
	RESULTADOS	<b>30</b>
	DISCUSSÃO	<b>33</b>
	REFERÊNCIAS	<b>37</b>
	ANEXO	<b>42</b>
	TERMO DE CONSENTIMENTO	<b>42</b>

## LISTA DE SIGLAS

<b>AIDS</b>	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA)
<b>CD4</b>	Grupo de diferenciação 4
<b>CD25</b>	Grupo de diferenciação 25
<b>ELISA</b>	Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
<b>HIV</b>	Vírus da Imunodeficiência Humana
<b>IDRM</b>	Intradermorreação de Montenegro
<b>IFI</b>	Imunofluorescência Indireta
<b>IFAT</b>	Imunofluorescência indireta
<b>INF-<math>\gamma</math></b>	Interferon gamma
<b>IL-1</b>	Interleucina 1
<b>IL-2</b>	Interleucina 2
<b>IL-4</b>	Interleucina 4
<b>IL-6</b>	Interleucina 6
<b>IL-7</b>	Interleucina 7
<b>IL-10</b>	Interleucina 10
<b>IL-17</b>	Interleucina 17
<b>IDH</b>	Índice de Desenvolvimento Humano
<b>ITRN</b>	Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos Nucleosídeos
<b>ITRNN</b>	Inibidores da Transcriptase Reversa Não-Análogos de Nucleosídeos
<b>LV</b>	Leishmaniose Visceral
<b>MS</b>	Ministério da Saúde
<b>NK</b>	Natural Killer
<b>OMS</b>	Organização Mundial de Saúde
<b>SINAN</b>	Sistema de Investigação e Notificação de Agravos Nacional
<b>SICLON</b>	Sistema de Controle e Logística Nacional
<b>TARV</b>	Tratamento Antirretroviral
<b>Th1</b>	Linfócitos T helper 1
<b>Th2</b>	Linfócitos T helper 2
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Fator de Necrose Tumoral alfa
<b>UF</b>	Unidade de Filtração
<b>UTI</b>	Unidade de Terapia Intensiva

## 1. INTRODUÇÃO

A Leishmaniose visceral (LV) e a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) são importantes doenças para a saúde pública, considerando sua gravidade, transcendência e expansão geográfica (DESJEUX, 2004; UNAIDS/WHO, 2007). A leishmaniose é uma das doenças tropicais negligenciadas de maior letalidade no mundo. Em sua forma mais grave, o calazar, chega a ser fatal em mais de 95% dos casos, se não tratado (MSF, 2018). Esta doença é endêmica em 47 países, e estima-se que 50 a 90 mil novos casos de calazar ocorram anualmente (OMS, 2020). Mais de 90% dos novos casos ocorrem em seis países: Bangladesh, Brasil, Etiópia, Índia, Sudão do Sul e Sudão (MSF, 2018).

No Brasil, a Leishmaniose visceral possui distribuição territorial em 21 unidades federadas (UF) (ALMEIDA et al., 2020). Importante salientar que existe um estudo de série de casos de leishmaniose visceral notificados no período de 2010 e 2017 no Sistema Brasileiro de Informações sobre Doenças Notificáveis. No referido intervalo foram confirmados 16.063 (dezesesseis mil e sessenta e três) casos de LV em pacientes residentes na região Nordeste. A incidência média de leishmaniose visceral apresentou variação conforme o estado de ocorrência. Em 2017, nos estados da região Nordeste, a taxa de incidência variou entre 1,14/100.000 habitantes (na Paraíba) até 10,69/100.000 habitantes (no Piauí). (LUCENA, MEDEIROS, 2018).

Em 2018, os estados do Maranhão, Pará, Minas Gerais e Ceará, registraram os maiores números de casos confirmados no país (ALMEIDA et al., 2020). O Maranhão, segundo dados do Ministério da Saúde, lidera o número de casos de leishmaniose visceral no país, com 185 casos registrados em 2019 (CARDOSO, 2019). A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (*Acquired Immunodeficiency Syndrome*- AIDS), é uma doença do sistema imunológico humano resultante da infecção pelo vírus HIV (Vírus da Imunodeficiência Adquirida) e estima-se que, em todo o mundo, mais de 30 milhões de pessoas estejam infectadas, com a ocorrência de 2,5 milhões de novas infecções e mais de 70.000 mortes a cada ano (UNAIDS/WHO, 2007). A prevalência desta infecção no Brasil é estimada em 630.000, com aproximadamente 34.500 novos casos de AIDS por ano. No Maranhão foram notificados 4.132 casos, no período de 1985 até janeiro de 2009. Em 2009 no município de São Luís foram notificados 2.607 casos novos correspondendo a 63,1% em todo o estado (CARVALHO et al., 2012; BRASIL, 2010).

Os aspectos imunológicos dessa coinfeção são ainda pouco conhecidos, principalmente se considerarmos as particularidades individuais dos pacientes e diferenças regionais do perfil de infecção (ROSENTHAL, 1995).

## **2. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Epidemiologia**

#### **2.1.1 . Leishmaniose Visceral (LV)**

A Leishmaniose Visceral está frequentemente presente em países pobres como Índia, Nepal, Sudão e Brasil, com uma prevalência de 90% de todos os casos registrados no mundo. Na África Oriental, surtos de leishmaniose visceral ocorrem com frequência e na Região do Mediterrâneo Oriental altamente endêmica no Iraque, Somália e Sudão (OMS, 2020). No período de 2001 a 2014 foram registrados 48.720 casos de leishmaniose visceral nas Américas com uma média anual de 3.480 casos, dos quais 96,42% (46.976) foram relatados pelo Brasil. Até os anos 90, a quase totalidade dos casos ocorria na região Nordeste do Brasil, entretanto, ao longo dos anos, houve uma expansão para as regiões Norte, Sudeste e Centro-oeste (AGUIAR; RODRIGUES, 2017). O Maranhão se encontra entre os estados da Federação com maior número de casos de LV. De 1999 a 2005, o estado liderou em número de casos confirmados da doença no Brasil. Até 2009, foram registradas 9.972 notificações, sendo a maioria proveniente dos municípios que compõem a Ilha Upaon-Açu: São Luís, São José de Ribamar, Paço do Lumiar e Raposa (SILVA et al., 2008).

A penetração das formas promastigota nos macrófagos ocorre por meio da ligação de moléculas do parasito, como a gp63, com receptores presentes na superfície da célula (LINDOSO; LUZ, 2008). A presença do patógeno em macrófagos de alguns órgãos não causam mudanças patológicas significativas, logo que há o rompimento desta célula, colocando esses parasitas nas fezes, urina e nas secreções nasais do homem (REY, 2008). Essas mudanças podem ser observadas no baço, que aumenta de tamanho, sua cápsula fica mais espessa e a polpa fica à mostra. Isso se dá, pois há uma grande quantidade de macrófagos, que podem comprimir os folículos linfóides e dificulta a circulação nos capilares, provocando um congestionamento no órgão assemelhando-se a zonas de infarto. Essas modificações também são observadas no fígado, acompanhado de hipertrofia das células de Kupffer. Os macrófagos já parasitados aos poucos substituí o tecido hematopoiético, na medula óssea, enquanto há grande reprodução parasitaria nos linfonodos (REY, 2008).

Esta infecção apresenta-se com um amplo espectro clínico, que varia desde manifestações oligossintomáticas, a moderadas e graves (BRASIL, 2005). A LV apresenta-se com diversas características, resumindo-se a três formas clínicas diferentes: Forma assintomática, que se caracterizam por sorologia positiva sem apresentar sinais e sintomas da doença; Forma oligossintomática a sorologia é positiva e também há a presença de sinais e sintomas discretos, como, febre, hepatomegalia ou esplenomegalia

pequena, presença de febrícula, tosse seca, diarreia, sudorese e adinamia, associada à discreta visceromegalia. Esta forma é frequentemente encontrada nas áreas endêmicas (DUARTE, 2009). Forma clássica, pode ser observadas manifestações clínicas bem visíveis. Em geral é uma doença de evolução prolongada, podendo apresentar febre persistente ou intermitente, podendo está associado, a distúrbios gastrointestinais, adinamia, sonolência, prostração, mal-estar e progressivo emagrecimento (DUARTE, 2009). Observa-se, nesta forma, manifestações hemorrágicas, como petéquias, epistaxes, sangramento gengival. As manifestações respiratórias lembram um resfriado comum. O abdómen é muito volumoso, à custa de hepatoesplenomegalia. Além de muitas vezes, apresenta-se associadas com infecções por bactérias (LINDOSO; LUZ, 2008).

### **2.1.2 . Coinfecção Leishmaniose/HIV**

A coinfecção HIV/Leishmaniose tem sido tema de estudos de interesse mundial. Há cerca de duas décadas, registou-se uma sobreposição dessas duas enfermidades que levam à chamada coinfecção LV/HIV. É considerada uma doença emergente, sendo a maioria registrada na Espanha, Itália, França, Brasil e Portugal (ALVAR et al., 2008; BRASIL, 2015). Estima-se que 25-70% de adultos com LV são co-infectados com o HIV (COUTINHO, 2017). Nestes casos a LV é considerada uma doença oportunista, representando um fator de risco para recidiva, uma vez que esses indivíduos são incapazes de controlar e/ou deter a multiplicação do parasita no organismo. A LV pode induzir uma maior imunodepressão, bem como estimular a replicação viral em pessoas HIV positivo, ocasionando o desenvolvimento da AIDS de maneira mais rápida (BRASIL, 2015). A coinfecção com o HIV suscita um crescimento na taxa de letalidade por LV, assim como um aumento no número de recidivas de LV em aproximadamente o triplo e o quádruplo, nessa ordem, quando comparados com os casos de LV sem coinfecção por HIV (SILVA, 2013).

É possível que tenhamos indivíduos imunodeprimidos, como nos casos daqueles portadores de HIV, onde a leishmaniose visceral é tida como doença oportunista, representando um fator de risco para recidiva, uma vez que esses indivíduos são incapazes de controlar e/ou deter a multiplicação do parasita no organismo. A LV pode induzir uma maior imunodepressão, bem como estimular a replicação viral em pessoas HIV positivas, ocasionando o desenvolvimento da AIDS de maneira mais rápida (BRASIL, 2015). A coinfecção com o HIV suscita um crescimento na taxa de letalidade por LV, assim como um aumento no número de recidivas de LV em aproximadamente o triplo e o quádruplo, nessa ordem, quando comparados com os casos de LV sem coinfecção por HIV (QUEIROZ-E-SILVA, 2013).

A LV pode ser influenciada também por problemas imunes inatos ou gerados pelas decorrências de outras infecções, que podem deixar o indivíduo imunodeprimido,

como no caso do vírus da imunodeficiência humana (HIV). A co-infecção da leishmaniose e do vírus da imunodeficiência humana (HIV) é um importante problema de saúde pública. Leishmaniose e HIV promovem a ativação mútua, causando deficiência imune em seu hospedeiro (LINDOSO, 2016; ALEMAYEHU, 2017). As estimativas atuais indicam que 1/3 das pessoas com infecção por HIV vivem em áreas de risco para a transmissão da leishmaniose. Esta sobreposição geográfica resulta em um número crescente de casos de co-infecção entre HIV-Leishmaniose (GOMES, L. de S. et al. 2017).

A resposta do sistema imune frente a essas infecções é de extrema importância para o desfecho clínico de ambas as doenças (BARRETO DE SOUZA *et al*, 2006) Neste contexto, as citocinas na coinfeção Leishmaniose/HIV, mais especificamente IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-17A, são importantes reguladores do processo inflamatório. A estatística quanto ao número total de pacientes com a coinfeção LV/HIV-AIDS não é conhecida, mas a Organização Mundial de Saúde (OMS), até março de 2010, já havia recebido notificação de 35 países, sendo a maioria registrada na Espanha, na Itália, na França e em Portugal. Há uma estimativa, pela Organização Mundial de Saúde, que de 2 a 9% dos pacientes com AIDS no sudeste da Europa desenvolveram Leishmaniose Visceral (BRASIL, 2015).

Em alguns países africanos, como o Sudão e a Etiópia, 35% de todos os pacientes com LV também estão infectados pelo HIV (DIRO et al., 2014). No Brasil, pesquisas relatam que as alterações da AIDS e dos padrões de distribuição da LV, como o deslocamento da infecção pelo HIV para áreas rurais e a urbanização da LV associada ao aumento dos casos de LV na faixa etária de 20 a 49 anos, apontaram que a população tem maior risco de apresentar ambas as infecções (BRASIL,2011; MAIA et al., 2008).

Nos últimos vinte anos, a LV readquiriu importância médica, reaparecendo no mundo de forma alarmante, principalmente após o surgimento da epidemia da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida e a urbanização dos vetores, devido a ocupação desordenada dos espaços urbanos, assim como os desmatamento em áreas rurais. No Brasil, foram registradas várias epidemias urbanas, sendo em alguns casos classificada como infecção oportunista em pacientes com AIDS.

O primeiro caso de coinfeção (Leishmaniose-HIV) foi relatado em 1985, no sul da Europa. A realidade mundial, em particular a europeia, registra um aumento importante do número de casos de coinfeções na última década, levando a modificações na história natural das leishmanioses (SOUSA-GOMES et al., 2011). Os casos de leishmaniose visceral em adultos no sul da Europa estão associados com a infecção pelo HIV em 70% das infecções (WHO, 2010).

A coinfeção Leishmaniose/HIV se revela com grande importância clínica em

países onde ambas as infecções são endêmicas. Importante destacar, que uma grande parte dos pacientes coinfectados apresenta uma história prévia de LV, propondo que o aumento de casos pode ser relacionado à recidiva em face do aumento da infecção pelo HIV (OKWOR; UZONNA, 2013.) A leishmaniose visceral (LV) é considerada uma doença tropical negligenciada, com alta taxa de mortalidade (WOLDAY *et al*, 2000) além de ser considerada uma infecção oportunista, como em caso de pacientes com AIDS (ZHAO, PAPADOPOULOU, TREMBLAY, 2004). A expansão da epidemia do HIV para as áreas endêmicas de LV, vem aumentando o número de pacientes coinfectados (ALVAR *et al*, 2012).

## **2.2 Infecção, transmissão e manifestações clínicas**

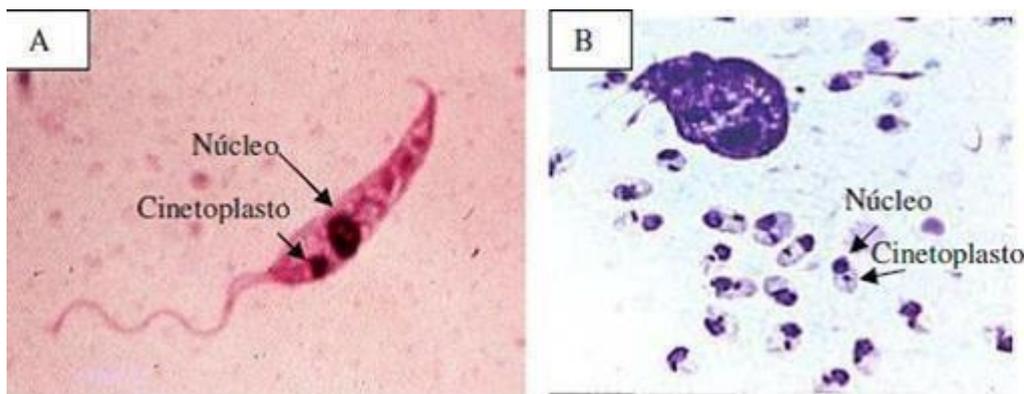
### **2.2.1 Leishmaniose Visceral (LV)**

A LV é uma doença negligenciada causada pelos protozoários do complexo *Leishmania donovani* – *L. donovani* e *L. infantum* – (NEVES, 2012). Os parasitos possuem vasta distribuição e fazem parte do complexo *Leishmania donovani*, que inclui as espécies *Leishmania donovani* (encontrada no subcontinente Indiano, Ásia e África), *Leishmania infantum* (no Mediterrâneo) e *Leishmania chagasi* (na América do Sul) (DANTAS-TORRES, 2006). A transmissão da leishmaniose envolve complexas interações entre o parasito, os vetores, os hospedeiros vertebrados e os diferentes ecótopos (DANTAS-TORRES *et al.*, 2012), por ser uma enfermidade metaxênica, em que o parasito passa por transformações no organismo do vetor, neste caso o flebotomíneo (DANTAS-TORRES, 2006). O ciclo começa a partir da inoculação de formas infectantes do parasito (promastigota metacíclico) no hospedeiro durante o repasto sanguíneo do inseto (COUTINHO *et al.*, 2005; MONTALVO *et al.*, 2012).

Existem vários tipos de Leishmanioses, porém, destaca-se a Leishmaniose Visceral, que se apresenta como uma doença infecciosa de caráter zoonótico que chega a acometer várias espécies de mamíferos, inclusive o homem, quando este entra em contato com o ciclo de transmissão do parasita. O principal agente etiológico no Brasil é a *Leishmania chagasi*, que é transmitido pelo inseto hematófago flebótomo das espécies *Lutzomyia longipalpis* e *L. Cruzi* (LISBOA *et al*, 2016). A Leishmaniose acontece quando o inseto flebotomíneo infectado pica o homem e regurgita a forma promastigota metacíclica, que é apresentação (FIGURA 1A) flagelada e extracelular sobre a lesão da pele. Estas formas são fagocitadas por macrófagos e, dentro do vacúolo parasitóforo, se modifica para formas amastigotas que nesse meio se multiplicam. As amastigotas (FIGURA 1B), que são intracelulares e sem movimentos, podem então ser liberadas e infectar novos macrófagos e neutrófilos, disseminando o parasito no sistema orgânico.

Figura 1 - Micrografia das formas morfológicas mais comuns de *Leishmania spp.*

(A) Promastigota; (B) Amastigotas.



**Fonte:** Leishmaniose Visceral no Brasil: Artigo de Revisão. AGUIAR, RODRIGUES, 2017).

Uma vez dentro do macrófago, as formas amastigotas inibem diversos mecanismos de defesa celular, que deveriam ser responsáveis por sua lise, tais como fusão fagossomo endossomo, enzimas hidrolíticas, mecanismos de sinalização celular, produção de óxido nítrico e citocinas (CUNNINGHAM, 2002).

A LV também conhecida como Calazar, possui ampla distribuição mundial sendo classificada primariamente como zoonose, é caracterizada por febre irregular de longa duração, emagrecimento e palidez cutaneomucosa, que confere um aspecto escurecido à pele dos indivíduos caucasianos e se associa à exuberante hepatoesplenomegalia, anemia, leucopenia e trombocitopenia (AGUIAR, RODRIGUES, 2017). As complicações decorrentes da infecção e as hemorragias são os principais fatores de risco para o óbito na LV (BRASIL, 2006).

### 2.2.2 Coinfecção Leishmaniose-HIV

Há cerca de duas décadas, registou-se uma sobreposição dessas duas enfermidades que levam à chamada coinfecção LV/HIV. É considerada uma doença emergente, sendo a maioria registrada na Espanha, Itália, França, Brasil e Portugal (ALVAR et al., 2008; 20 ; BRASIL, 2015).

A doença é caracterizada em pacientes coinfectados, por taxas significativamente mais baixas de cura, maior toxicidade das drogas, recidivas e maior mortalidade (COTA et al., 2013; PATOLE et al., 2014). Desta forma, são evidenciadas importantes implicações com relação à LV e recursos de eliminação em locais onde as infecções pelo HIV e pela LV se sobrepõem (PATOLE et al., 2014). A infecção

concomitante por HIV aumenta o risco de desenvolver LV ativa na proporção de 100 e 2320 vezes (WHO, 2010).

Em relação às leishmanioses, que são causadas por protozoários intracelulares que habitualmente infectam o hospedeiro por longo período de tempo, possuem mecanismos que lhes permitem escapar das agressões mediadas pelo sistema imune. De maneira adicional, as infecções por protozoários habitualmente só causam doença em uma parcela dos indivíduos infectados, indicando que o sistema imune não permite, na maioria das vezes, a multiplicação em grande escala dos parasitas e a disseminação da infecção, sem, porém, ter a capacidade de promover esterilização. Dessa forma, a *Leishmania* pode permanecer no hospedeiro por toda a vida, assintomática, a não ser que esse equilíbrio seja perdido por uma depressão imune provocada por algum patógeno, como no caso do HIV, ou pelo desencadeamento de uma resposta imunitária exacerbada com inflamação tecidual (MACHADO, 2004).

### 2.2.3 Citocinas

As citocinas são polipeptídeos ou glicoproteínas extracelulares, hidrossolúveis, produzidas por diversos tipos de células do sistema imunológico. Não são armazenadas como moléculas preformadas e atuam especialmente por mecanismos parácrino e autócrino, sendo redundantes em suas atividades, pois ações semelhantes podem ser desencadeadas por diferentes citocinas. Essas moléculas se ligam a receptores específicos, ativando mensageiros intracelulares que regulam a transcrição gênica. Assim, as citocinas influenciam a atividade, a diferenciação, a proliferação e a sobrevivência da célula imunológica, e também regulam a produção e a atividade de outras citocinas, que podem aumentar ou atenuar a resposta inflamatória. (OLIVEIRA et al, 2011)

Apesar da imunidade celular ser o principal mecanismo de defesa do hospedeiro contra a *leishmania*, anticorpos e complemento podem destruir a *leishmania* in vitro. As formas promastigotas são fagocitadas pelos neutrófilos, que são as primeiras células a migrarem para o local da infecção (WOODMAN et al, 1998) e podem ser destruídas através da ação de produtos do metabolismo oxidativo, como o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), atividade enzimática e produção de óxido nítrico. Os neutrófilos infectados começam a secretar citocinas, moléculas importantes para atrair mais neutrófilos e macrófagos para o sítio da infecção (SCAPINI et al, 2000).

A produção de óxido nítrico (NO) como uma via efetora comum de defesa do macrófago contra a *leishmania* tem sido bastante evidenciada. A resistência à infecção está relacionada com níveis de NO produzidos por macrófagos ativados por interferon-gama (IFN- $\gamma$ ) ou pelo fator de necrose tumoral alfa (LIEW et al, 1991).

As células T “helper” tipo 1 produzem IFN- $\gamma$  e IL-2, fator estimulador de colônias de macrófagos e granulócitos, IL-3 e linfotóxina (TNF $\beta$ ), e são responsáveis pela

imunidade mediada por células, pelas reações inflamatórias (MOSMANN et al, 1986).

Células T “helper” tipo 2 (Th2) produzem IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, e mediam a imunidade humoral e as reações alérgicas. A IL-4 está relacionada com a produção de anticorpos da classe IgE, IgG1 e IgG4; e a IL-5 é importante para diferenciação, multiplicação e ativação de eosinófilos (MOSMANN; COFFMAN, 1989).

Estudos evidenciaram que as células Th17 tem uma relação estrita com as células T regulatórias em sua rede de citocinas. Ambas possuem sua diferenciação estimulada por TGF- $\beta$ , porém o perfil Th17 requer uma alta concentração desta citocina para a sua diferenciação. Além disso, citocinas como IL-6 favorecem a diferenciação de células Th17, enquanto IL-2 e ácido retinóico favorecem a diferenciação de Tregs. IL-23 atua sobre células Th17 após a indução da diferenciação por IL-6 e/ou IL-21 estabelecendo o perfil. Assim, Th17 atua através da produção de diversas citocinas como IL-21, IL-17-A, IL-17F e IL-22 que sabidamente desempenham papel nas inflamações, doenças autoimunes e também atuam na resposta do hospedeiro na fase inicial da leishmaniose (KAUFMANN, SH, KUCHROO, 2009)

As células Th17 tem papel crítico no controle da infecção por *Leishmania infantum*, desempenhando propriedades inflamatórias (KOLLS; LINDEN, 2004; NAKAE et al., 2003b; ZELANTE et al., 2007), além de estar envolvido na proteção contra alguns parasitos, ter o seu papel ainda indefinido durante as leishmanioses, e também o fato de que *a L. infantum* induz esse perfil no decorrer a infecção no hospedeiro vertebrado. Assim, estudos sugerem que as células Th17 estão envolvidas com a resposta imune protetora contra a infecção por *L. infantum*. (BETTELLI et al., 2008; VAN, V et al., 2009)

O controle do processo de infecção por *leishmania* é dependente da resposta imune mediada por células. O IFN- $\gamma$ , que é uma citocina importante na resposta imune à *leishmania*, é produzido principalmente por células T CD4+ do tipo Th1, e por células NK, estimuladas por IL-12 (SCOTT; KAUFMANN, 1991).

A interleucina-10 é uma outra citocina produzida por macrófagos que contribui para a sobrevivência da *leishmania* nessas células. Ela inibe a síntese de citocinas produzidas pelos macrófagos como IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 e TNF- $\alpha$ . Uma outra ação também importante da IL-10 nos macrófagos é a inibição dos eventos metabólicos associados com sua ativação. Esses efeitos, associados à capacidade dessa citocina suprimir a produção de IFN- $\gamma$  por células TCD4+ tipo Th1, fazem com que a IL-10 interfira na atividade leishmanicida do macrófago. Um outro estudo mostrou que, apesar desses efeitos em camundongos susceptíveis BALB/c infectados com *L. major*, a neutralização da IL-10 com anticorpo anti-IL-10 não altera o desenvolvimento das lesões. Na infecção crônica, quantidades semelhantes de IL-10 são produzidas tanto em linhagens resistentes quanto

susceptíveis. Entretanto, no início da infecção, a produção de IL-10 é significativamente maior nos animais susceptíveis (WAAL et al, 1991).

A principal alteração imunológica na leishmaniose visceral é a incapacidade de linfócitos de ativar macrófagos para destruir a *leishmania* em virtude da ausência in vitro da produção de IFN- $\gamma$  após estímulo dos linfócitos com antígeno de *leishmania*. Esta incapacidade de produzir IFN- $\gamma$  é antígeno-específica, pois linfócitos de pacientes com leishmaniose visceral proliferam e produzem essa citocina quando estimulados com antígenos não relacionados como o purificado protéico derivado do *M. tuberculosis* (PPD) e antígeno de *C. albicans* (CARVALHO et al, 1989). Considerando, entretanto, que a leishmaniose visceral é uma doença debilitante e associada à desnutrição, um importante questionamento era se esta anormalidade imunológica seria realmente importante na progressão da infecção para doença ou se era apenas um achado em pacientes com a forma avançada da infecção por *L. Chagasi* (CARVALHO et al, 1988).

Sabemos que o mecanismo das disfunções imunológicas na leishmaniose visceral não está completamente esclarecido, admite-se que uma produção exacerbada de citocinas que tenham capacidade de suprimir a resposta imune celular desempenhe um papel importante na ausência da produção de IFN- $\gamma$  e na sobrevivência da *leishmania* nos macrófagos (ATTA et al, 1998).

Em clones de células específicas para o antígeno de *leishmania*, isolados de pacientes curados de LV, evidenciou-se, além de uma produção de IFN- $\gamma$ , uma produção de IL-4 e de IL-10. A IL-10, por ser uma citocina inibidora da resposta imune, principalmente por antagonizar a ação do IFN- $\gamma$ , um ativador potente dos macrófagos para matar *leishmania*, é de grande interesse no estudo da leishmaniose visceral. Em pacientes sudaneses, a expressão de RNA mensageiro para IL-10 em células da medula óssea na fase ativa da doença diminuiu após a terapêutica (KEMP et al, 1999).

Um outro estudo realizado com pacientes infectados com *L. donovani* no Sudão demonstrou a presença de RNA mensageiro para IL-10 tanto em células de linfonodos quanto em células mononucleares desses pacientes. Após o tratamento, não foi possível detectar RNA mensageiro para essa citocina (GHALIB et al, 1993).

Já num estudo realizado com pacientes do Ceará infectados com *L. chagasi*, foi demonstrado que linhagens de células T CD8<sup>+</sup> isoladas desses pacientes inibiram a resposta proliferativa e a produção de IFN- $\gamma$  por células desses mesmos pacientes após a instituição da terapêutica adequada. As alterações foram associadas a um aumento de IL-6 e de IL-10. A adição de anticorpo neutralizante anti-IL-10 também reverteu a diminuição da produção de IFN- $\gamma$  na presença dessas células. Assim, os dados indicam que essa citocina tem um papel importante na patogênese da leishmaniose visceral (HOLADAY et al, 1993).

Vários fatores contribuem para a ausência da resposta imune celular na leishmaniose visceral, as evidências de que existe nesta doença uma ativação de células Th2 e de células regulatórias da resposta imune indicam a importância de avaliar o papel de citocinas com atividade imunomoduladora na patogenia da leishmaniose visceral. Vimos nesses estudos que, mais importante do que a resposta Th2 na modulação da resposta imune na leishmaniose visceral, é a produção de IL-10. A adição de IL-4 não teve praticamente nenhum efeito nesta modulação, enquanto a neutralização de IL-10 aumentou significativamente a produção de IFN- $\gamma$  (BACELLAR; CARVALHO, 2005).

A média dos níveis de IFN- $\gamma$  em culturas de células estimuladas *in vitro* com antígeno de *leishmania* foi zero e a adição de IL-12 aumentou os níveis dessa citocina para  $305 \pm 325$  pg/mL. A IL-10, além de inibir a atividade de macrófagos, inibe a produção de IFN- $\gamma$  por linfócitos através da inibição da síntese de IL-12 por células apresentadoras de antígenos (D'ANDREA et al, 1993). Nestes estudos, enquanto a adição de IL-12 restaurou a resposta proliferativa e a produção de IFN- $\gamma$  *in vitro*, a adição simultânea de IL-12 e IL-10 suprimiu o efeito mediado por IL-12, diminuindo a produção dessa citocina para zero. Esses resultados indicam que a IL-10 pode suprimir a resposta imune nesses pacientes com leishmaniose visceral através da inibição da síntese de IL-12 ao nível das células apresentadoras de antígeno.

## **2.3. Imunopatologia da leishmaniose**

### **2.3.1 Aspectos gerais**

Em relação ao sistema imunológico, a diminuição das respostas realizadas pelos linfócitos T e comprometimento dos macrófagos, são consideradas as maiores alterações ocorridas em caso de LV (Murahovschi, 2006). Os macrófagos são células de grande importância na ativação dos linfócitos CD4+, nesse caso acontece uma diminuição significativa de IL-2, IL-12 e de interferon - gama e apresenta-se elevadas a IL-4. Observa-se também os níveis do fator de necrose tumoral estão relacionados com gravidade com que a doença se apresenta (REY, 2008). A produção de óxido nítrico (NO) como uma via efetora comum de defesa do macrófago contra a *leishmania* tem sido bastante evidenciada. A resistência à infecção está relacionada com níveis de NO produzidos por macrófagos ativados por interferon-gama (IFN-  $\gamma$ ) ou pelo fator de necrose tumoral alfa (LIEW et al., 1991).

Estudos evidenciaram que clones de células TCD4 + que podiam ser subdivididas em sub-populações baseadas na produção de citocinas após estimulação *in vitro*. As células T “helper” tipo 1 produzem IFN- $\gamma$  e IL-2, fator estimulador de colônias de macrófagos e granulócitos, IL-3 e linfotóxina (TNF $\beta$ ), e são responsáveis pela imunidade mediada por células, pelas reações inflamatórias (MOSMANN et al., 1986). Células T “helper” tipo 2 (Th2) produzem IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, e mediam a imunidade humoral

e as reações alérgicas. A IL-4 está relacionada com a produção de anticorpos da classe IgE, IgG1 e IgG4; e a IL-5 é importante para diferenciação, multiplicação e ativação de eosinófilos (MOSMANN; COFFMAN, 1989). O controle do processo de infecção por *leishmania* é dependente da resposta imune mediada por células. O IFN- $\gamma$ , que é uma citocina importante na resposta imune à *leishmania* é o IFN produzida principalmente por células T CD4+ do tipo Th1, e por células NK, estimuladas por IL-12 (SCOTT; KAUFMANN, 1991).

A interleucina-10 é outra citocina produzida por macrófagos que contribui para a sobrevivência da leishmaniose nessas células. Ela inibe a síntese de citocinas produzidas pelos macrófagos como IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 e TNF- $\alpha$ . Outra ação também importante da IL-10 nos macrófagos é a inibição dos eventos metabólicos associados com sua ativação. Esses efeitos, associados à capacidade dessa citocina suprimir a produção de IFN- $\gamma$  por células TCD4+ tipo Th1, fazem com que a IL-10 interfira na atividade leishmanicida do macrófago. Outro estudo mostrou que, apesar desses efeitos em camundongos susceptíveis BALB/c infectados com *L. major*, a neutralização da IL-10 com anticorpo anti-IL-10 não altera o desenvolvimento das lesões. Na infecção crônica, quantidades semelhantes de IL-10 são produzidas tanto em linhagens resistentes quanto susceptíveis. Entretanto, no início da infecção, a produção de IL-10 é significativamente maior nos animais susceptíveis (WAAL et al., 1991).

A principal alteração imunológica na leishmaniose visceral é a incapacidade de linfócitos de ativar macrófagos para destruir a *leishmania* em virtude da ausência in vitro da produção de IFN- $\gamma$  após estímulo dos linfócitos com antígeno de *leishmania*. Esta incapacidade de produzir IFN- $\gamma$  é antígeno-específica, pois linfócitos de pacientes com leishmaniose visceral proliferam e produzem essa citocina quando estimulados com antígenos não relacionados como o purificado protéico derivado do *M. tuberculosis* (PPD) e antígeno de *C. albicans* (CARVALHO et al., 1989). Considerando, entretanto, que a leishmaniose visceral é uma doença debilitante e associada à desnutrição, um importante questionamento era se esta anormalidade imunológica seria realmente importante na progressão da infecção para doença ou se era apenas um achado em pacientes com a forma avançada da infecção por *L. Chagasi* (CARVALHO et al., 1988).

Sabemos que o mecanismo das disfunções imunológicas na leishmaniose visceral não está completamente esclarecido, admite-se que uma produção exacerbada de citocinas que tenham capacidade de suprimir a resposta imune celular desempenhe um papel importante na ausência da produção de IFN- $\gamma$  e na sobrevivência da *leishmania* nos macrófagos (ATTA et al., 1998). Em clones de células específicas para o antígeno de *leishmania*, isolados de pacientes curados de LV, evidenciou-se, além de uma produção de IFN- $\gamma$ , uma produção de IL-4 e de IL-10. A IL-10, por ser uma citocina inibidora da

resposta imune, principalmente por antagonizar a ação do IFN- $\gamma$ , um ativador potente dos macrófagos para matar *leishmania*, é de grande interesse no estudo da leishmaniose visceral. Em pacientes sudaneses, a expressão de RNA mensageiro para IL-10 em células da medula óssea na fase ativa da doença diminui após a terapêutica (KEMP et al., 1999). Outro estudo realizado com pacientes infectados com *L. donovani* no Sudão demonstrou a presença de RNA mensageiro para IL-10 tanto em células de linfonodos quanto em células mononucleares desses pacientes. Após o tratamento, não foi possível detectar RNA mensageiro para essa citocina (GHALIB et al., 1993). Já em um estudo realizado com pacientes do Ceará infectados com *L. chagasi*, foi demonstrado que linhagens de células T CD8<sup>+</sup> isoladas desses pacientes inibiram a resposta proliferativa e a produção de IFN- $\gamma$  por células desses mesmos pacientes após a instituição da terapêutica adequada. As alterações foram associadas a um aumento de IL-6 e de IL-10. A adição de anticorpo neutralizante anti-IL-10 também reverteu a diminuição da produção de IFN- $\gamma$  na presença dessas células. Assim, os dados indicam que essa citocina tem um papel importante na patogênese da leishmaniose visceral (HOLADAY et al., 1993).

Vários fatores contribuem para a ausência da resposta imune celular na leishmaniose visceral, as evidências de que existe nesta doença uma ativação de células Th2 e de células regulatórias da resposta imune indicam a importância de avaliar o papel de citocinas com atividade imunomoduladora na patogenia da leishmaniose visceral. Os níveis de IFN- $\gamma$  em culturas estimuladas com antígeno de *L. chagasi* mais anti-IL-10 ou antígeno de *L. chagasi* mais anti-IL-10 e foram maiores ( $p < 0,05$ ) do que os níveis observados em culturas estimuladas o antígeno de *L. chagasi* ou antígeno mais IL-4 ( $21 \pm 17$  pg/mL). Vimos nesses estudos que, mais importante do que a resposta Th2 na modulação da resposta imune na leishmaniose visceral, é a produção de IL-10. A adição de IL-4 não teve praticamente nenhum efeito nesta modulação, enquanto a neutralização de IL-10 aumentou significativamente a produção de IFN- $\gamma$  (BACELLAR; CARVALHO, 2005).

A IL-12 e da IL-10 na patogênese da leishmaniose visceral é de suma importância. A média dos níveis de IFN- $\gamma$  em culturas de células estimuladas *in vitro* com antígeno de *leishmania* foi zero e a adição de IL-12 aumentou os níveis dessa citocina para  $305 \pm 325$  pg/mL. A IL-10, além de inibir a atividade de macrófagos, inibe a produção de IFN- $\gamma$  por linfócitos através da inibição da síntese de IL-12 por células apresentadoras de antígenos (D'ANDREA et al., 1993). Nestes estudos, enquanto a adição de IL-12 restaurou a resposta proliferativa e a produção de IFN- $\gamma$  *in vitro*, a adição simultânea de IL-12 e IL-10 suprimiu o efeito mediado por IL-12, diminuindo a produção dessa citocina para zero. Esses resultados indicam que a IL-10 pode suprimir a resposta imune nesses pacientes com leishmaniose visceral através da inibição da síntese de IL-12 ao nível das

células apresentadoras de antígeno.

### **3. Objetivos**

#### **3.1 Objetivo geral**

Avaliar o perfil da produção de citocinas do padrão Th1/Th2/Th17 em pacientes com coinfeção leishmaniose visceral e HIV no Estado do Maranhão, Brasil.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Comparar a frequência de óbito e recidiva em pacientes com LV e LV/HIV;
- Comparar o perfil das citocinas em pacientes com LV e LV/HIV;
- Examinar a relação entre a produção de citocinas e as manifestações clínicas em pacientes com LV-HIV;

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, P. F.; RODRIGUES, R. K. Leishmaniose visceral no Brasil: artigo de revisão. *Revista Unimontes Científica*. Montes Claros, v. 19, n.1 - jan./jun. 2017. (ISSN 2236- 5257) Disponível em: <<http://www.ruc.unimontes.br/index.php/unicientifica/article/view/526/406>>. Acesso em: 08/03/2020.
- ALEMAYEHU, M.; WUBSHET, M.; MESFIN, N.; TAMIRU, A.; GEBAYEHU A. Health-related quality of life of HIV infected adults with and without Visceral Leishmaniasis in Northwest Ethiopia. *Health and Quality of Life Outcomes*. v. 15, n. 1, ago. 2017. doi:10.1186/s12955-017-0636-6.
- ALMEIDA, C. et al. Leishmaniose visceral: distribuição temporal e espacial em Fortaleza, Ceará, 2007-2017. *Epidemiol. Serv. Saúde*, V. 29, n. 5, 2020.
- ALVAR, J. et al. The Relationship between Leishmaniasis and AIDS: the Second 10 Years. *Clinical Microbiology Reviews*, Washington, v. 21, n. 2, p. 334-359, 2008.
- ANDRADE T, R; TEIXEIRA, J; ANDRADE, A. C. P; CARVALHO, E. M. Hypersensitivity of delayed type in visceral leishmaniasis. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 24: 298-302, 1982.
- Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 53 (1) • Fev 2001 • <https://doi.org/10.1590/S0102-09352001000100001>. Urbanização da leishmaniose visceral em Belo Horizonte.
- ASSIS, Tália Santana Machado de et al . Validação do teste imunocromatográfico rápido IT-LEISH® para o diagnóstico da leishmaniose visceral humana. *Epidemiol. Serv. Saúde*, Brasília , v. 17, n. 2, p. 107-116, jun. 2008.
- ATTA, A. M; D'OLIVEIRA, C. J; ATTA, M. L; ALMEIDA, R. P; CARVALHO, E. M. Anti-leishmanial IgE antibodies: a marker of active disease in visceral leishmaniasis. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 59: 426-430, 1998.
- BABUADZE, G. et al. Epidemiology of visceral leishmaniasis in Georgia. *PLoS Negl Trop Dis*, v. 8, n. 3, p. e2725, Mar 2014. ISSN 1935-2735 (Electronic) 1935-2727 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24603768> >.
- BACELLAR, O; CARVALHO, E. M. Imunopatogênese da Leishmaniose Visceral. Universidade Federal da Bahia – Salvador, Brasil. 2005. Disponível em:<<http://www.gmbahia.ufba.br/index.php/gmbahia/article/viewfile/348/337>>.
- BEL, L. Co-infecção por HIV e leishmaniose emerge como desafio à saúde pública. Instituto Oswaldo Cruz /IOC/FIOCRUZ, 2008. [Acessado em 07 set. 2020]. Disponível em: <http://www.fiocruz.br/ioc/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=315&sid=32>.
- BEVILACQUA H.H. PAIXÃO C.M. MODENAM.C.P.S. CASTRO. Urbanization of visceral leishmaniose in Belo Horizonte, Brazil. P.D.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em saúde. Leishmaniose Visceral. In: *Guia de Vigilância Epidemiológica/ 6ª ed.*-Brasília: Ministério da Saúde, 2005. Pg 467-501.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. AIDS 2010. *Boletim Epidemiológico*. 2010; 8(1):3-24. [acessado em 24 mar. 2010]. Disponível em: [http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2011/50652/vers\\_o\\_](http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2011/50652/vers_o_)

preliminar\_69324.pdf.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 120p. Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual\\_leish\\_visceral2006.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual_leish_visceral2006.pdf)>. Acesso em: 09 de fevereiro de 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Leishmaniose visceral -casos confirmados notificados no sistema de informação de agravos de notificação –Brasil. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sinannet/cnv/leishvpr.def>. Acesso em: 26 out. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria da Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST/ Aids. Boletim epidemiológico AIDS/DST. Brasília; 2018. ISSN 1517 1159.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Manual de recomendações para diagnóstico, tratamento e acompanhamento de pacientes com a coinfeção leishmania-HIV. 1. ed., rev. e ampl. – Brasília : Ministério da Saúde, 2015. 109 p. : il. Disponível em: [http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_recomendacoes\\_diagnostico\\_leishmania\\_hiv.pdf](http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_recomendacoes_diagnostico_leishmania_hiv.pdf)>. Acesso em: 14 maio 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de Vigilância Epidemiológica. 7ª ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Leishmaniose visceral grave: normas e condutas / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde: Boletim Epidemiológico AIDS-DST 2011. Disponível em: [http://www.AIDS.gov.br/publicacao/2011/boletim\\_epidemiologico\\_2011](http://www.AIDS.gov.br/publicacao/2011/boletim_epidemiologico_2011). Acesso em: 09 de fevereiro de 2021.

CABRERA, M. A. A. Ciclo enzoótico de transmissão da Leishmania (Leishmania) chagasi Cunha & Chagas, 1937 no ecótopo peridoméstico em Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro - RJ : estudo de possíveis variáveis preditoras. 1999. 90f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Programa de Pós-Graduação Stricto sensu em Biologia Parasitária do Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.

CALDAS, A. J. M; SILVA, D. R. C; PEREIRA, C. R. C. Et al. Infecção por Leishmania (Leishmania) chagasi em crianças de uma área endêmica de leishmaniose visceral americana na Ilha de São Luis-MA, Brasil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 34(5): 445-451, set-out, 2001.

CARDOSO, R. Maranhão lidera casos de leishmaniose visceral do país. 2019. Disponível em: <<https://g1.globo.com/ma/maranhao/noticia/2019/08/10/maranhao-lidera-casos-de-leishmaniose-visceral-do-pais.ghtml>>. Acesso: 08/03/2020.

CARVALHO, E. M; BACELLAR, O. A; REED, S; BARRAL, A; ROCHA, H. Visceral leishmaniasis: a disease associated with inability of lymphocytes to activate macrophages to kill leishmania. Brazilian Journal of Medical Biological Research 21: 85-92, 1988.

- CARVALHO, E. M; BACELLAR, O; BARRAL, A; BADARO, R; JOHNSON, W. D. Antigen-specific immunosuppression in visceral leishmaniasis is cell mediated. *Journal of Clinical Investigation* 83: 860-864, 1989.
- CARVALHO, Flávia Lopes et al . Perfil epidemiológico dos indivíduos HIV positivo e coinfeção HIV-Leishmania em um serviço de referência em São Luís, MA, Brasil. *Ciênc. saúde coletiva*, Rio de Janeiro , v. 18, n. 5, p. 1305-1312, May 2013 .
- COOKE A, Zaccone P, Raine T, Phillips JM, Dunne DW. Infection and autoimmunity: are we winning the war, only to lose the peace? *Trends Parasitol.* 2004;20:316-21.
- COOKE, A. Et al. Infection and autoimmunity: are we winning the war, only to lose the peace? *Trends Parasitol.* 2004;20:316-21.
- COSTA C. H. N. How effective is dog culling in controlling zoonotic visceral leishmaniasis? A critical evaluation of the science, politics and ethics behind this public health policy. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. Uberaba, v. 44, n. 2, p. 232-242, 2011.
- COTA, G. F. E. A. Comparison of Parasitological, Serological, and Molecular Tests for Visceral Leishmaniasis in HIV-Infected Patients: A Cross-Sectional Delayed-Type Study. *Am. J. Trop. Med. Hyg*, p. 570–577, 2013.
- COTA, G. F. et al. The diagnostic accuracy of serologic and molecular methods for detecting visceral leishmaniasis in HIV infected patients: meta-analysis. *PLoS Neglected Tropical Disease*, [S.l.], v. 6, n. 5, p. 1665, 2012.
- COUTINHO, J. V. S. C. et al. Visceral leishmaniasis and leishmaniasis-HIV coinfection: comparative study. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, Uberaba , v. 50, n. 5, p. 670- 674, Sept. 2017.
- COUTINHO, M. T. et al. Participation of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 128, p. 149–155, 2005.
- CUNNINGHAM, A.C. Parasitic adaptative mechanisms in infection by *Leishmania*. *Exp. Mol. Pathol.*, v. 72, p. 132-141, 2002.
- D’ANDREA, A; ASTE-AMEZAGA, M; VALIANTE, N. M; MA, X; KUBIN, M; TRINCHIERI, G; Interleukin 10 (IL-10) inhibits human lymphocyte interferon gamma-production by suppressing natural killer cell stimulatory factor/IL-12 synthesis in accessory cells. *Journal of Experimental Medicine* 178: 1041-1048, 1993
- DA SILVA, S. M. et al. First report of infection of *Lutzomyia longipalpis* by *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum* from a naturally infected cat of Brazil. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 174, n. 1-2, p. 150-154, 2010.
- DANTAS-TORRES, F. et al. Canine leishmaniosis in the Old and New Worlds: unveiled similarities and differences. *Trends in Parasitology*, Oxford, v. 28, n. 12, p. 531-538, 2012.
- DANTAS-TORRES, F. Situação atual da epidemiologia da leishmaniose visceral em Pernambuco. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, v.40, n.3, p.537-541, 2006.
- DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 2004; 27(5):305-318.

- DIRO, E. et al. Leishmaniose visceral e coinfeção por HIV na África Oriental. PLoS Negl Trop Dis, V. 8, n. 6, 2014.
- DUARTE, M.I.S.; BADARÓ, R.S. Leishmaniose visceral (calazar). In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. Tratado de infectologia. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 2009. p. 1707-36.
- FURLAN, M. B. G. Epidemia de leishmaniose visceral no Município de Campo Grande- MS, 2002 a 2006. Epidemiol Serv Saúde. 2010;19(1):15-24.
- GHALIB, H. W; PIUVEZAM, M. R; SKEIKY, Y. A; SIDDIG, M; HASHIM, F. A; EL-HASSAN, A. M; RUSSO, D. M; REED, S. G. Interleukin 10 production correlates with pathology in human Leishmania donovani infections. Journal of Clinical Investigation 92: 324-329, 1993.
- GOMES, L. de S. et al- Visceral leishmaniasis and HIV/AIDS in Brazil: Are we aware enough? PLoS Negl Trop Dis, 2017.
- HOLADAY, B. J; POMPEU, M. M; JERONIMO, S; TEXEIRA, M. J; SOUSA, A. A; VASCONCELOS, A. W; PEARSON, R. D; ABRAMS, J. S; LOCKSLEY, R. M. Potential role for interleukin-10 in the immunosuppression associated with kala azar. Journal of Clinical Investigation 92: 2626-2632, 1993.
- JOINT United Nations Programme on HIV/AIDS. World Health Organization. AIDS epidemic update: Geneva: UNAIDS/WHO; 2007.
- KEMP, K; KEMP, M; KHARAZMI, A; ISMAIL, A; KURTZHALS, J. A; HVIID, L; THEANDER, T. G. leishmania-specific T cells expressing interferon-gamma (IFN-gamma) and IL-10 upon activation are expanded in individuals cured of visceral leishmaniasis. Clinical Experimental Immunology 116: 500-504, 1999.
- LIEW, F. Y; LI, Y; MOSS, D; PARKINSON, C; ROGERS, M. V; MONCADA, S. Resistance to Leishmania major infection correlates with the induction of nitric oxide synthase in murine macrophages. European Journal of Immunology 21: 3009-3014, 1991
- LINDOSO, J. A. et al. Visceral Leishmaniasis and HIV Coinfection in Latin America. PLoS Neglected Tropical Diseases, San Francisco, v. 8, n. 9, p. e3136, 2014. Disponível em: . Acesso em: 5 jan. 2015.
- LINDOSO, J. A. L. et al. Leishmaniasis–HIV coinfection: current challenges. Hiv/aids - Research And Palliative Care, [s.l.], v. 8, p.147-156, out. 2016. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.2147/hiv.s93789>.
- LINDOSO, Lanletta José Ângelo; LUZ, Giovanni Kleber; Leishmaniose visceral et al. Infectologia Pediátrica editora Atheneu; 2008.São Paulo. Pg.01- 136.
- LISBOA, A. R et al. Análise epidemiológica de leishmaniose visceral em Municípios do Sertão Paraibano. Revista Brasileira de Educação e Saúde. Pombal – PB. 2016. Disponível em: <<https://www.gvaa.com.br/revista/index.php/REBES/article/view/4466/3858>>. Acesso em: 08/03/2020.
- LUCENA, R. V; MEDEIROS, J. Dos S. Caracterização epidemiológica da leishmaniose visceral humana no nordeste brasileiro entre 2010 e 2017. Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management, v. 14, n. 4, out/dez 2018 ISSN 1983-4209.
- KAUFMANN, SH, KUCHROO, VK. Th17 cells. Microbes and infection, Paris, v. 11, n. 5,

p.579-83, 2009.

MACHADO, P. R. L. et al. Mecanismos de resposta imune às infecções. An. Bras. Dermatol., Rio de Janeiro, v. 79, n. 6, p. 647-662, Dec. 2004. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0365-05962004000600002&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962004000600002&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 26/06/2020 <https://doi.org/10.1590/S0365-05962004000600002>.

MAIA, E. et al. Leishmaniose visceral no Brasil: tendências e desafios. Cad Saúde Pública, V. 24, n. 12, 2008.

MAIA-ELKHOURY A., et al. Co-infecção da leishmaniose visceral e AIDS no Brasil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2007; 40 Supl 1:S124.

MAURÍCIO, I. L. et al. The strange case of Leishmania chagasi. Parasitology Today, Cambridge, v.16, n. 5, p.188-189, 2000.

MILLS, K.H. MCGUIRK, P. Antigen-specific regulatory T cells-their induction and role in infection. Semin Immunol. 2004;16:107-17.

MONTALVO, A. et al. de la leishmaniasis: de la observación microscópica del parásito a la detección del ADN. Revista Cubana de Medicina Tropical, Habana, v.64, n. 2, 2012.

MOSMANN, T. R; CHERWINSKI, H; BOND, M. W; GIEDLIN, M. A; COFFMAN, R. L. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. Journal of Immunology 136: 2348-2357, 1986.

MOSMANN, T. R; COFFMAN, R. L. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. Annual Review of Immunology 7: 145-173, 1989.

MSF (medecins sans frontieres). Leishmaniose.2018 [acessado em 07 set. 2020]. Disponível em: <https://www.msf.org.br/o-que-fazemos/atividades-medicas/leishmaniose>.

MURAHOVSKI, Jaime. Pediatria: Diagnóstico e Tratamento. Savier 6ª edição, revista atualizada, São Paulo, 2006.

NEVES, D. P. Parasitologia humana. 12. ed. São Paulo: Atheneu, 2012.

OKWOR, I.; UZONNA, J. E. The immunology of Leishmania/HIV co-infection. Journal of Immunology Research, Baltimore, v. 56, p.163-171, 2013.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE - OMS. Leishmaniose [Internet]. Geneva: Organização Mundial de Saúde; 2020. Disponível em: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>. Acesso em: 09 de fevereiro de 2021.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE - OMS. Organização Mundial de Saúde. Essential leishmaniasis maps. 2012 Disponível em: [http://www.who.int/leishmaniasis/leishmaniasis\\_maps/en/index.html](http://www.who.int/leishmaniasis/leishmaniasis_maps/en/index.html), Acesso em: 25/06/2020.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE - OMS. Organização Mundial de Saúde. Control of leishmaniasis. World Health Organization, Geneva, 1990.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE - OPAS. Leishmanioses: informe epidemiológico das Américas. Report n. 6. [Internet]. Brasília: Organização Pan-Americana

de Saúde; 2018. Disponível em:<https://www.paho.org/leishmaniasis>. Acesso em: 09 de fevereiro de 2021.

PATOLE, S. et al. Multiple relapses of visceral leishmaniasis in a patient with HIV in India: A treatment challenge. *International journal of infectious diseases*. Int J Infect Dis E-pub ahead of print. 2014.

PETERSEN, C. A. Barr SC (2009) Canine leishmaniasis in North America: emerging or newly recognized? *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 39: 1065-1074.

PINTADO V, MARTIN-RABADAN P, RIVERA ML, MORENO S, BOUZA E. Visceral leishmaniasis in human immunodeficiency virus (HIV)-infected and non-HIV- infected patients. A comparative study. *Medicine (Baltimore)*. 2001; 80(1):54-73.

PRIVADO, W. L. Leishmaniose visceral no estado do Maranhão: co-infecção leishmania-HIV [dissertação]. São Luís: Universidade Federal do Maranhão. 2005.

QUEIROZ-E-SILVA, I. T. B. Comorbidade leishmaniose visceral/ AIDS no Estado de São Paulo, Brasil (1999-2010): aspectos epidemiológicos e moleculares. 2013. 92 f. Doutorado (Tese) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

RABELLO, A. et al. Leishmania/HIV coinfection in Brazil: an appraisal. *Ann Trop Med Parasitol*. 2003.

REVISTA DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL 34(5): 445-451, set-out, 2001.

REY, Luis. O complexo “Leishmania Donovanii” e a Leishmania Visceral. In: --. *Parasitologia: Parasitas e doenças parasitárias do Homem nos Trópicos Ocidentais/ 4: Ed - Rio de Janeiro: Guanabara Koogam. il.; 2008 cap.29 pg.396 -409.*

ROCHA R. D. R, C. M. F. Gontijo, S. M. Elói-Santos, A. Teixeira-Carvalho, R. Corrêa-Oliveira, M. J. Marques, O. Genaro, W. Mayrink, and O. A. Martins-Filho. 2002. Anticorpos anti promastigotas vivas de *Leishmania (Viannia) braziliensis*, detectados pela citometria de fluxo, para identificação da infecção ativa na leishmaniose tegumentar americana. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 6:551-562.

ROSENTHAL, E. et al. Visceral Leishmaniasis and HIV -1 co- infection in southern France. *Trans R Soc. Trop Med Hyg* 1995; 89: 159-162.

SADICK, M. et al. Murine cutaneous leishmaniasis: resistance correlates with the capacity to generate interferon-gamma in response to leishmania antigens in vitro. *J Immunol* 1987;136:655-61.

SCAPINI, P; LAPINET-VERA, J. A; GASPERINI, S; CALZETTI, F; BAZZONI, F; CASSATELLA, M. A. The neutrophil as a cellular source of chemokines. *Immunology Review* 177: 195-203, 2000

SCOTT, P; KAUFMANN, S. H. The role of T-cell subsets and cytokines in the regulation of infection. *Immunology Today* 12: 346-348, 1991

SILVA, A. et al. Situação epidemiológica da leishmaniose visceral, na Ilha de São Luís, Estado do Maranhão. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* v.41, n.4. 2008.

SOARES, V. Y. et al. Clinical and epidemiological analysis of patients with HIV/AIDS

admitted to a reference hospital in the northeast region of Brazil. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2008;50(6):327-32.

SOUSA-GOMES, M. L.. et al. Co-infection Leishmania/HIV in Brazil: Epidemiological, Clinical and Laboratorial Aspects. Epidemiol. Serv. Saúde, Brasília, 20(4):519-526, out- dez 2011.

WAAL, M. R; ABRAMS, J; BENNETT, B; FIGDOR, C. G; VRIES, J. E. Interleukin 10(IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. Journal of Experimental Medicine 174: 1209-1220, 1991.

WOODMAN, R.C; JOHNSTON, B; HICKEY, M. J; TEOH, D; REINHARDT, P; POON, B. Y; KUBES, P; The functional paradox of CD43 in leukocyte recruitment: a study using CD43-deficient mice. Journal Experimental Medicine 188: 2181-2186, 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. Control of leishmaniasis. Word Health Organization, Geneva, 1990.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. Leishmaniasis and HIV coinfection. 2010. Disponível em:<[http://www.who.int/leishmaniasis/burden/hiv\\_coinfection/burden\\_hiv\\_coinfection/en/index.html](http://www.who.int/leishmaniasis/burden/hiv_coinfection/burden_hiv_coinfection/en/index.html)>.

ZAMBRANO-VILLA S. et al. How protozoan parasites evade the immune response. Trends Parasitol. 2002;18:272-8.

# **CAPÍTULO 1**

## **Perfil sérico de citocinas Th1/Th2/Th17 em pacientes coinfectados por Leishmaniose/HIV em uma área de alta endemia.**

Cristiane Michele Sampaio Cutrim<sup>1</sup>, Uiara Regina Silva de Lima<sup>2</sup>, Antônio Henrique Braga Martins Aguiar<sup>1</sup>, Gustavo de Almeida Santos<sup>1</sup>, Hivana Patricia Melo Barbosa Dall'Agnol<sup>2</sup>, Leonardo Teixeira Dall'Agnol<sup>1,3</sup>, Conceição de Maria Pedrozo Silva de Azevedo<sup>2,4</sup>, Mayara Ingrid Sousa Lima<sup>1,3</sup>.

<sup>1</sup> Programa de pós-graduação em Saúde e ambiente, UFMA, São Luís, MA, Brasil.

<sup>2</sup> Programa de pós-graduação em Ciência da Saúde, UFMA, São Luís, MA, Brasil.

<sup>3</sup> Departamento de Biologia, UFMA, São Luís, MA, Brasil.

<sup>4</sup> Departamento de Medicina, UFMA, São Luís, MA, Brasil.

### **Resumo**

A Leishmaniose Visceral (LV) é uma doença endêmica nos países da América Latina, tendo o quadro clínico se agravado quando o paciente apresenta coinfeção por outros agentes, especialmente o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV). Em pacientes coinfectados, observa-se uma complexa resposta imune, com correlação de citocinas pró, anti-inflamatórias e moduladoras. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil da produção de citocinas do padrão Th1/Th2/Th17 em pacientes com coinfeção LV/HIV em uma área de alta endemia. Trata-se de estudo descritivo do tipo comparativo-transversal realizado com 50 pacientes, estratificados em dois grupos: LV/HIV e LV oriundos do estado do Maranhão, Brasil. Desses pacientes, foram obtidas informações clínicas, epidemiológicas e realizada a coleta sorológica para avaliar a produção de citocinas. Os pacientes co-infectados LV-HIV são predominantemente do sexo masculino (84,0%); a frequência de óbito e recidiva é de 8,0% e 32%, respectivamente. Quando avaliou-se a concentração de citocinas dos pacientes com e sem coinfeção, observou-se que houve diferença estatisticamente significativa na produção de IL-2 e IL-10 entre os grupos. Além disso, nos pacientes coinfectados há uma correlação positiva moderada ou forte e estatisticamente significativa na produção de IL-2 e IL-4; IL-2 e IL-6; IL-4 e TNF; IL-4 e IL-6; IL-6 e TNF. Entretanto, ao subdividir o grupo LV-HIV não houve diferença para nenhuma das variáveis analisadas, considerando sintomas e sinais clínicos, recidiva, óbito, parâmetros laboratoriais e escore clínico de severidade, demonstrando que a produção diferenciada de citocinas não tem uma correlação com um subgrupo clínico em específico. Assim, os dados demonstram que os pacientes LV-HIV, de forma homogênea, apresentam um comprometimento da resposta imunológica e a produção direta de citocinas específicas pelos estímulos patogênicos ou indiretamente pelo próprio grau de ativação do sistema imune, acaba por sustentar e agravar este processo.

Palavras-chave: Leishmaniose visceral, AIDS, Maranhão, resposta imunológica.

## INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Visceral é uma doença grave que, quando não tratada, pode ser fatal. É causada por protozoários da Ordem Kinetoplastida, Família Trypanosomatidae, Gênero *Leishmania*. Nas Américas a transmissão é zoonótica e a espécie considerada como agente causadora é a *Leishmania (Leishmania) chagasi* (LAINSON & SHAW, 1987). É caracterizada por febre irregular com longa duração, anemia e hepatoesplenomegalia, que ocorre de forma progressiva (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009). Na infecção por HIV a resposta imune celular encontra-se comprometida, bem como em outras condições imunossupressoras, o que promove disseminação dos parasitas causadores de LV e evolução da infecção.

Em pacientes coinfectados, observa-se uma complexa resposta imune, com correlação de citocinas pró, anti-inflamatórias e moduladoras (CARVALHO et. al., 1985; PERUHYPE et. al., 2006). No entanto, estudos mostraram que a coinfeção LV/HIV modifica a expressão das citocinas plasmáticas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, TNF e IFN $\gamma$ , quando comparados a pessoas com qualquer uma das duas doenças isoladamente (CACOPARDO et. al., 1996; WOLDAY et. al., 2000). Em dados mais recentes, a avaliação do perfil de leucócitos e citocinas associadas a Th, de pacientes coinfectados com LV/HIV vem sendo desenvolvidos em hospital universitário na Nigéria, e demonstraram a elevação de eosinófilos, contagem de basófilos e níveis séricos de IL-10 em pacientes com este tipo de coinfeção, demonstrando hipersensibilidade induzida pelo parasito, bem como imunossupressão (ABDULLAHY et. al., 2020).

Devido ao potencial de letalidade e à complexa imunopatogenia da coinfeção LV/HIV, este trabalho tem como objetivo a investigação e análise do perfil destas citocinas na coinfeção Leishmaniose/HIV no estado do Maranhão - Brasil, uma vez que se tornam de extrema importância para a elucidação dos mecanismos imunopatológicos da coinfeção, com aplicabilidade clínica em um diagnóstico direcionado, tratamento precoce, bem como suporte terapêutico específico e conseqüentemente melhor prognóstico.

## METODOLOGIA

**Considerações éticas:** o estudo obteve aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (Número do parecer: 409.351). Todos os pacientes incluídos, ou seus responsáveis, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (anexo).

**Tipo de estudo e amostragem:** esse estudo é do tipo caso-controle comparativo- transversal. Os pacientes foram divididos em dois grupos: (i) Grupo 1 (caso) constituído por 25 indivíduos com sorologia positiva para HIV, co-infectados com LV com diagnóstico confirmado presença de *Leishmania spp.* na medula óssea ou gânglio, atendidos no hospital de referência estadual, no ano

de 2014. (ii) Grupo 2 (controle) constituído por 25 indivíduos com diagnóstico de Leishmaniose Visceral não co- infectados com HIV. As amostras foram coletadas prospectivamente, com abordagem dos pacientes que internaram com o diagnóstico da leishmaniose visceral, com e sem a coinfeção pelo HIV. O estudo foi conduzido em São Luís, capital do Estado do Maranhão, localizada na Região Nordeste do Brasil.

**Critérios de inclusão e exclusão:** incluiu-se pacientes com sorologia positiva para HIV e diagnóstico parasitológico para LV que faziam tratamento da coinfeção e pacientes com diagnóstico parasitológico para LV e sorologia negativa para HIV, que aceitaram assinar o termo de consentimento livre esclarecido. Excluiu-se os pacientes que abandonaram tratamento, pacientes que não aceitaram assinar o termo de consentimento.

Confirmação do diagnóstico: o diagnóstico da LV foi realizado com pesquisa de formas amastigotas de *Leishmania spp* pelo mielograma, considerado padrão ouro para o diagnóstico dessa infecção. Para o teste sorológico foram utilizados imunofluorescência indireta (Rifi) e ELISA, realizados no Laboratório Central (LACEN). No caso do HIV, os testes para o diagnóstico foram ELISA e Teste Rápido, realizados na rotina do hospital estadual de referência segundo recomendações do Ministério da Saúde (BRASIL, 2013).

**Dosagem de citocinas:** para a dosagem de citocinas foi coletado amostras sanguíneas dos pacientes para obtenção do soro. As dosagens das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL- 17A, TNF e IFN $\gamma$  foram realizadas utilizando o BD™ Cytometric Bead Array (CBA) Human Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit em citômetro BD FACSCalibur™.

**Variáveis clínicas, epidemiológicas e laboratoriais:** os parâmetros utilizados no estudos foram: sexo, recidiva, óbito, e presença de hemorragia, edema, icterícia, vômito, dispnéia e infecção bacteriana, contagem de leucócitos, plaquetas e dosagem de creatina, bem o como cálculo de escore para severidade na LV (KalaCal), disponível em: <https://www.sbmt.org.br/kalacal/> (COSTA et al, 2016). Todas essas variáveis foram correlacionadas com a dosagem de citocinas no grupo dos pacientes LV-HIV.

Os dados laboratoriais foram coletados dos prontuários dos pacientes, os quais fazem parte da rotina hospitalar. Foram utilizados também, uma ficha protocolo adaptada do manual de vigilância e controle da Leishmaniose Visceral do Ministério da Saúde denominada ficha de investigação de óbito de leishmaniose visceral (BRASIL, 2006) para registro dos dados clínicos e epidemiológicos (Anexo)

**Análises estatísticas:** os dados foram analisados a partir do programa estatístico GraphPad®. Para a análise dos resultados, as variáveis categóricas foram apresentadas em frequências absolutas (n)

e relativas (%). A normalidade foi avaliada pelo teste Shapiro Wilk e para apresentação dos dados de citocinas foram utilizados diagramas de dispersão. A comparação da dosagem da citocinas entre os grupos foi feita utilizando o teste não paramétrico Mann Whitney. A correlação de Person foi utilizada para comparar as citocinas entre si, bem como para avaliar a correlação entre os dados laboratoriais, escores de severidade e a produção de citocinas. Foram consideradas significativas as diferenças entre os grupos quando valor de  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

### Caracterização do grupo LV-HIV

Os pacientes coinfectados LV-HIV são predominantemente do sexo masculino (84,0%). A frequência de óbito e recidiva é de 8,0% e 32%, respectivamente, nesse grupo (Tabela 1).

**Tabela 1.** Frequência de óbito, recidiva e distribuição do sexo em pacientes com LV-HIV

Variáveis	Grupo LV-HIV	
	n	%
<b>Sexo</b>		
Masculino	21	84,0
Feminino	4	16,0
<b>Óbito</b>		
Sim	2	8,0
Não	23	92,0
<b>Recidiva</b>		
Sim	8	32,0
Não	17	68,0
<b>TOTAL</b>	25	100,0

### Perfil sérico da produção de citocinas

Quando avaliou-se a concentração de citocinas dos pacientes com e sem coinfeção, observou-se que houve diferença estatisticamente significativa na produção de IL-2 e IL-10 ( $p < 0,05$ ), sendo estas produzidas em maior quantidade no grupo dos pacientes com LV em comparação a LV-HIV. Entretanto, não houve diferenças significativas na produção das outras citocinas estudadas na comparação entre os dois grupos, conforme apresentado na Figura 1.

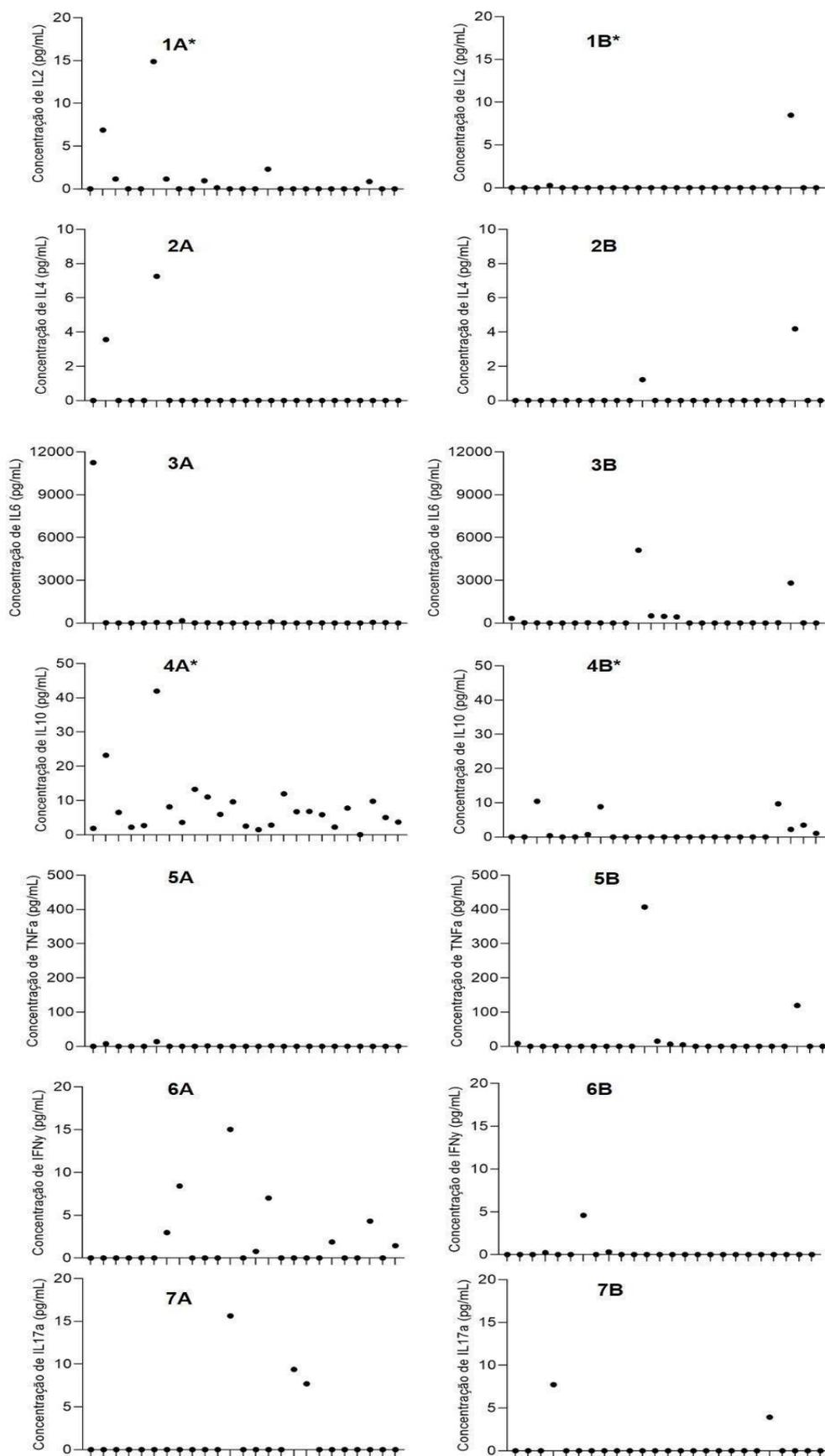


Figura 1. Diagrama de dispersão de quantificação de citocinas em pacientes com Leishmaniose Visceral, com e sem HIV. Em que 1(IL-2); 2 (IL-4); 3 (IL-6); 4 (IL-10); 5 (TNF); 6 (IFN $\gamma$ ); 7 (IL-17A). A (Grupo LV); B (Grupo LV-HIV). Eixo Y: Concentração de citocina (pg/mL); Eixo X: cada ponto representa um paciente. \* $p < 0,05$

No grupo de pacientes coinfectados há uma correlação positiva moderada ou forte e estatisticamente significativa, ao comparar-se duas citocinas entre si, na produção de IL-2 e IL-4; IL-2 e IL-6; IL-4 e TNF; IL-4 e IL-6; IL-6 e TNF (Tabela 2). Já o grupo de pacientes somente com LV apresentou correlação positiva entre IL-2 e IL-4; IL-2 e IL-10; IL-2 e TNF; IL-4 e IL-10; IL-4 e TNF; IL-10 e TNF; IFN $\gamma$  e IL-17A, sendo que as outras correlações não são estatisticamente significativas, como observado na tabela 3.

Tabela 2. Correlação linear do perfil da produção de citocinas em pacientes com coinfeção LV-HIV

	<b>IL-2</b>	<b>IL-4</b>	<b>IL-6</b>	<b>IL-10</b>	<b>TNF</b>	<b>IFN<math>\gamma</math></b>	<b>IL-17A</b>
<b>IL-2</b>	1.00	0.96*	0.44*	0.05	0.24	-0.05	-0.03
<b>IL-4</b>	0.96*	1.00	0.68*	0.02	0.51*	-0.06	-0.07
<b>IL-6</b>	0.44*	0.68*	1.00	-0.09	0.97*	-0.08	-0.10
<b>IL-10</b>	0.05	0.02	-0.09	1.00	-0.09	-0.06	-0.11
<b>TNF</b>	0.24	0.51*	0.97*	-0.09	1.00	-0.06	-0.07
<b>IFN<math>\gamma</math></b>	-0.05	-0.06	-0.08	-0.06	-0.06	1.00	-0.02
<b>IL-17A</b>	-0.03	-0.07	-0.10	-0.11	-0.07	-0.02	1.00

Valor de R: valores quantitativos inseridos na tabela. \*Valor de  $p < 0,05$ .

Tabela 3. Correlação linear do perfil da produção de citocinas em pacientes LV.

	<b>IL-2</b>	<b>IL-4</b>	<b>IL-6</b>	<b>IL-10</b>	<b>TNF</b>	<b>IFN<math>\gamma</math></b>	<b>IL-17A</b>
<b>IL-2</b>	1.00	0.98*	-0.07	0.91*	0.99*	-0.09	-0.13
<b>IL-4</b>	0.98*	1.00	-0.05	0.91*	0.99*	-0.13	-0.10
<b>IL-6</b>	-0.07	-0.05	1.00	-0.14	-0.06	-0.09	-0.07
<b>IL-10</b>	0.91*	0.91*	-0.14	1.00	0.91*	-0.08	0.01
<b>TNF</b>	0.99*	0.99*	-0.06	0.91*	1.00	-0.11	-0.11
<b>IFN<math>\gamma</math></b>	-0.09	-0.13	-0.09	-0.08	-0.11	1.00	0.55*
<b>IL-17A</b>	-0.13	-0.10	-0.07	0.01	-0.11	0.55*	1.00

Valor de R: valores quantitativos inseridos na tabela \*Valor de  $p < 0,05$ .

## Perfil de citocinas e variáveis clínicas-epidemiológicas

O perfil de citocinas dos pacientes com co-infecção, subdividindo esse grupo de acordo com parâmetros clínicos e epidemiológicos demonstrou que não houve diferença estatisticamente significativa para nenhuma das variáveis analisadas, considerando os subgrupos que apresentaram ou não sintomas e sinais clínicos, recidiva ou óbito (Tabela 4). Esse mesmo resultado foi observado ao correlacionar-se a produção de citocinas, parâmetros laboratoriais dos pacientes e o escore de severidade para leishmaniose visceral, não havendo correlação estatisticamente significativa entre essas variáveis (Tabela 5).

Tabela 4. Relação entre produção sérica de citocinas e variáveis clínicas e epidemiológicas em pacientes com leishmaniose visceral, coinfectados com HIV

Variáveis <sup>ns</sup>		IL-2	IL-4	IL-6	IL-10	TNF	IFN $\gamma$	IL-17A
<b>Sexo</b>	M	0.4±1.8	0.3±0.9	442.2±1232.0	1.8±3.4	26.1±91.0	0.2±1.0	0.6±1.9
	F	0.0±0.0	0.0±0.0	132.4±249.0	0.0±0.0	3.8±7.5	0.0±0.0	0.0±0.0
<b>Recidiva</b>	Sim	0.0±0.0	0.0±0.0	51.8±112.8	1.8±3.7	1.1±3.0	0.6±1.6	0.0±0.0
	Não	0.5±2.1	0.3±1.0	553.0±1356.0	1.3±3.1	32.6±100.6	0.01±0.1	0.7±2.0
<b>Óbito</b>	Sim	0.4±1.8	0.2±0.9	426.6±1178.0	1.6±3.3	24.4±87.0	0.2±1.0	0.2±0.8
	Não	0.1±0.2	0.0±0.0	2.4±0.4	0.2±0.3	0.4±0.6	0.1±0.2	3.9±5.5
<b>Hemorragia</b>	Sim	0.0±0.0	0.0±0.0	83.7±164.0	0.3±0.5	2.1±4.2	0.0±0.0	0.0±0.0
	Não	0.4±1.8	0.3±0.9	451.5±1232.0	1.7±3.4	26.4±91.0	0.2±1.0	0.6±1.9
<b>Edema</b>	Sim	0.0±0.0	0.0±0.0	72.2±144.5	1.9±4.3	1.7±3.8	0.0±0.0	0.0±0.0
	Não	0.4±1.9	0.3±1.0	472.7±1260.0	1.4±3.0	27.7±93.1	0.3±1.0	0.6±1.9
<b>Icterícia</b>	Sim	0.0±0.0	0.2±0.5	856.6±2082.0	0.1±0.3	67.8±166.1	0.8±1.9	0.0±0.0
	Não	0.7±2.3	0.3±1.2	331.2±770.5	1.9±3.4	11.2±32.8	0.01±0.1	0.3±1.1
<b>Vômito</b>	Sim	0.0±0.0	0.0±0.0	7.4±7.5	5.2±7.4	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
	Não	0.4±1.8	0.3±0.9	449.8±1232.0	1.3±2.8	26.4±91.0	0.2±1.0	0.6±1.9
<b>Dispneia</b>	Sim	1.1±3.0	0.5±1.5	398.5±979.9	2.1±3.3	16.0±41.8	0.0±0.0	0.0±0.0
	Não	0.02±0.1	0.1±0.3	389.9±1229.0	1.2±3.2	25.6±98.4	0.3±1.1	0.7±2.0
<b>Infecção Bacteriana</b>	Sim	0.7±2.3	0.3±1.2	256.8±775.4	2.7±4.1	9.6±33.0	0.01±0.1	0.0±0.0
	Não	0.02±0.1	0.1±0.4	539.7±1451.0	0.2±0.4	36.5±116.8	0.4±1.3	1.0±2.4

*ns: não houve diferença estatisticamente significativa na produção das citocinas entre os subgrupos para nenhuma das variáveis avaliadas. M: masculino; F: feminino. Valores de média e desvio padrão estão inseridos na tabela. Concentrações de citocinas no soro em pg/mL.*

Tabela 5. Correlação do perfil da produção de citocinas em pacientes LV/HIV com parâmetros laboratoriais e escore de severidade para leishmaniose visceral

Variáveis <sup>ns</sup>	IL-2	IL-4	IL-6	IL-10	TNF	IFN $\gamma$	IL-17A
<b>Leucócitos</b> <sup>a</sup>	-0.13	-0.15	-0.04	0.00	-0.08	-0.16	0.01
<b>Plaquetas</b> <sup>b</sup>	-0.10	-0.11	-0.01	-0.11	-0.05	-0.11	-0.05
<b>Creatinina</b> <sup>c</sup>	0.14	0.07	-0.14	0.06	-0.18	0.08	0.13
<b>Kala-Cal</b> <sup>d</sup>	0.21	0.23	0.09	0.08	0.09	0.02	-0.37

<sup>a</sup> contagem de leucócitos em 1000/mm<sup>3</sup>; <sup>b</sup> plaquetas em 1000/mm<sup>3</sup>; <sup>c</sup> creatinina em mg/dl; <sup>d</sup> Kala-Cal: cálculo de escore para severidade na leishmaniose visceral, baseado apenas no modelo clínico, sendo a variação do escore de 1 a 13; valor de R: valores quantitativos inseridos na tabela. ns: não houve correlação estatisticamente significativa entre as variáveis avaliadas e a produção das citocinas

## DISCUSSÃO

O presente estudo caracterizou uma população de pacientes com coinfeção LV-HIV, em uma área de alta endemia, no que se refere a produção de citocinas do perfil Th1/Th2/Th17 correlacionando com parâmetros clínicos, epidemiológicos e laboratoriais. O grupo estudado é majoritariamente composto por indivíduos do sexo masculino. Esse predomínio explicitado sistematicamente pela literatura, não é um fenômeno bem esclarecido, podendo haver relação com a maior exposição dos homens aos vetores (TOLEZANO, 1994), ou a influência das diferenças hormonais na dinâmica da relação parasito-hospedeiro da leishmaniose (SNIDER *et al*, 2009).

Os pacientes LV/HIV apresentam uma doença mais grave em comparação àqueles com LV apenas, com maior número de óbitos e mais suscetibilidade a reativações frequentes da doença, como observado nesse estudo. Segundo Henn (HENN, 2016), muitos casos de coinfeção se apresentam mais graves e de maneira atípica, ocorrendo maior número de óbitos, sendo possível que a demora no diagnóstico da coinfeção em pacientes com HIV ou LV, resulte em retardo na instrução terapêutica adequada, levando a progressão descontrolada das duas doenças em um mesmo paciente, influenciando na velocidade de queda dos linfócitos T CD4+. Além disso, a ausência de reconstituição imune, e a ocorrência prévia de recidiva têm sido apontados como fatores de risco relevantes para óbito (BOURGEOIS *et al*, 2008; LOPEZ-VELEZ *et al*, 1998).

Nesse estudo foi observado que o níveis de citocinas dos pacientes com e sem coinfeção, apresentaram diferenças significativa na produção de IL-10 e IL-2, que podem ser interpretados como sinais de gravidade para LV (GAMA *et al.*, 2013). Estudos já demonstraram o papel-chave das principais citocinas [por exemplo, IL-10, fator de crescimento transformador (TGF)  $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-12 e IFN- $\gamma$ ] que implicou o papel de Th1 / Th2 na progressão da doença ou proteção do hospedeiro. Em geral, a resposta do tipo Th1 medeia a resistência do hospedeiro e a resposta do tipo Th2 está associada à progressão da doença (SHER & COFFMAN, 1992)

A presença de níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias, como TNF $\alpha$ , IL-6 e IFN $\gamma$ , como visto neste trabalho, estão relacionados com a persistente ativação imune observada durante a fase crônica da infecção pelo HIV. Estudos na Índia mostraram que o TNF- $\alpha$ , um mediador vital das respostas inflamatórias inatas e adaptativas, possui um papel crucial na formação e manutenção do granuloma contra a Leishmaniose visceral (DAYAKAR et. al., 2019). Esta função antiparasitária do TNF- $\alpha$  é mediada pela ativação de macrófagos infectados para matar o amastigota intracelular de *Leishmania* (MURRAY et. al 2000)

Para os pacientes coinfectados, os dados demonstraram que há uma correlação positiva em mais de 50% na maioria das citocinas, como em IL-10 e IL-6. Essa correlação observada pode se dar pela adição de células T virgens que estimulam a produção de citocinas de padrão Th1 como IL-6 e IFN $\gamma$  e, simultaneamente, a produção de citocinas moduladoras, como IL-10. Já a correlação do nível de IL-2 e IL-4, se dá, pois, ambas são produzidas por TCD4+. Na região Nordeste do Brasil, um estudo de LV mostrou que IL-6 é a citocina positivamente e independentemente associada com IL-10, que, por sua vez, foi positivamente correlacionado com IFN- $\gamma$  (COSTA, ROCHA, CARVALHO et al., 2013) corroborando com nossos resultados. Por isso sugere-se que IL-6 e IL-10 mantêm um papel sinérgico na patogênese de LV em pacientes com HIV (BARBOSA et. al.,2020).

Estudos sugerem que IL-6 está associada à anemia - indicada por concentração de hemoglobina - sendo uma consequência do sistema inflamação em pacientes com LV (COSTA, ROCHA, CARVALHO et al., 2013; NEMETH et al., 2013). Estudos *in vivo*, como o de Cenini, demonstraram que a citocina pró-inflamatória TNF $\alpha$  está envolvida nos mecanismos de defesa contra *Leishmania*, estabilizando-se após a terapia. Dessa maneira, um aumento na produção de TNF é esperado em indivíduos infectados pelo HIV, logo que o sistema imune é ativado por doenças oportunistas. O mesmo foi verificado por Medrano, em que os pacientes coinfectados com leishmaniose visceral e HIV apresentaram níveis aumentados de TNF quando comparados aos seus controles HIV positivos sem LV.

Para os pacientes somente com LV, essa correlação positiva alta foi vista entre IL-2 e IL-10, pois a IL-2 estimula, a replicação das células T com funções regulatórias, cujas ações são mediadas pela IL-10, que suprime a resposta celular protetora do hospedeiro. Sobre a correlação negativa observada entre IL-10 e IFN $\gamma$ , justifica-se logo que a IL-10 modula a ativação Th1 o que leva à redução na produção de IL-12 e IFN $\gamma$  e, inibe a ativação de macrófagos e a habilidade dessas células em destruir a *Leishmania spp.* O índice de proliferação e a produção de IFN $\gamma$  são reduzidos na presença de neutralizantes juntamente com IL-10 recombinante, fato ao qual destaca-se a importância dessas citocinas na patogênese da LV. Compreender o equilíbrio dos perfis de citocinas pode levar à manipulação imunológica, incluindo terapias anti-citocinas (anti-IL-6 e anti-IL-10), e

novas estratégias terapêuticas para LV e LV-HIV (COSTA, ROCHA, CARVALHO *et al.*, 2013; SACKS, NYLÉN, 2007).

Nesse trabalho também foi avaliado a comparação do perfil imunológico dos pacientes LV-HIV com as características clínicas, epidemiológicas e laboratoriais dos mesmos, não sendo encontradas diferenças na produção de citocinas nos subgrupos. Esse dado pode ser explicado pelo tamanho amostral desses grupos menores. Após a estratificação, considerando a presença e ausência de sinais e sintomas clínicos hemorragia, edema, icterícia e vômitos, os subgrupos com os indivíduos que apresentavam esse parâmetros clínicos eram formados por grupos entre 02 a 05 pacientes (*dados não mostrados*). Nesse sentido, acreditamos que seja necessário avaliar um grupo populacional mais abrangente para melhor caracterizar a relação entre o perfil imunológico e os parâmetros clínicos em pacientes LV-HIV.

Nossos dados demonstram que os pacientes LV/HIV apresentam agravos ao comprometimento imune, uma vez que esta doença cursa com imunossupressão do sistema imunológico, com diminuição de linfócitos T e de outras linhagens de células hematopoiéticas. Assim, a produção direta de citocinas ou a redução destas, pelos estímulos patogênicos ou indiretamente pelo próprio grau de ativação do sistema imune, acaba por sustentar e agravar este processo.

## REFERÊNCIAS

- DAYAKAR A, CHANDRASEKARAN S, KUCHIPUDI SV, KALANGI SK. Cytokines: Key Determinants of Resistance or Disease Progression in Visceral Leishmaniasis: Opportunities for Novel Diagnostics and Immunotherapy. *Front Immunol.* 2019;10:670. doi: 10.3389/fimmu.2019.00670
- NYLÉN S, SACKS D. Interleukin-10 and the pathogenesis of human visceral leishmaniasis. *Trends Immunol.* 2007 Sep;28(9):378-84. doi: 10.1016/j.it.2007.07.004. Epub 2007 Aug 6. PMID: 17689290.
- COSTA, D. L., ROCHA, R. L., CARVALHO, R. M., LIMA-NETO, A. S., HARHAY, M. O., COSTA, C. H., BARRAL-NETO, M., & BARRAL, A. P. (2013). Serum cytokines associated with severity and complications of kala-azar. *Pathogens and global health*, 107(2), 78–87. <https://doi.org/10.1179/2047773213Y.0000000078>
- MURRAY HW, JUNGBLUTH A, RITTER E, MONTELIBANO C, MARINO MW. Visceral leishmaniasis in mice devoid of tumor necrosis factor and response to treatment. *Infect Immun.* 2000;68:6289–93. doi: 10.1128/.68.11.6289-6293.2000.
- SHER A, COFFMAN RL. Regulation of immunity to parasites by T cells and T cell-derived cytokines. *Annu Rev Immunol.* (1992) 10:385–409. doi: 10.1146/annurev.iy.10.040192.002125
- MEDRANO, F. J., REY, C., LEAL, M., CAÑAVATE, C., RUBIO, A., SÁNCHEZ-QUIJANO, A., ALVAR, J., & LISSEN, E. (1998). Dynamics of serum cytokines in patients with visceral leishmaniasis and HIV-1 co-infection. *Clinical and experimental immunology*, 114(3), 403–407. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2249.1998.00733.x>
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Fact Sheet no 360: HIV/AIDS. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs360/en/>>. Atualizado em: nov. 2015. Acesso em: 20 set. 2020.
- SANTOS, MA *et al.* 2002. Predictors of an unsatisfactory response to pentavalent antimony in the treatment of american visceral leishmaniasis. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*: v. 35, n. 6, p. 629-633.
- WERNECK, GL. *et al.* 2003. Prognostic factors for death from visceral leishmaniasis in Teresina, Brazil. *Infection*: v. 31, n. 3, p. 174-177.
- DE LA LOMA, AJ. *et al.* 1985. Leishmaniasis or AIDS? *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*: v. 79, n. 3, p. 421–422.
- ALVAR, J. 1994. Leishmaniasis and Aids co-infection. the Spanish example. *Parasitology Today*: v. 10, n. 4, p. 160–163.
- WOLDAY, D. *et al.* 2000. HIV-1 alters T helper cytokines, interleukin-12 and interleukin-18 responses to the protozoan parasite *Leishmania donovani*. *AIDS*: v. 14, n. 8, p. 921-929.
- ZHAO C, PAPADOPOULOU B, TREMBLAY MJ. 2004 *Leishmania infantum* enhances human immunodeficiency virus type-1 replication in primary human macrophages through a complex cytokine network. *Clin Immunol*: 113:81-88.
- CARVALHO EM, BADARÓ R, REED SG, JONES TC, JOHNSON WD JR. 1985. Absence of gamma interferon and interleukin 2 production during active visceral leishmaniasis. *J Clin Invest* 76: 2066-2069.

Costa DL, Rocha RL, Chaves EB, Batista VG, Costa HL, Costa CH. Predicting death from kala-azar: construction, development, and validation of a score set and accompanying software. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2016;49(6):728–740. doi:10.1590/0037-8682-0258-2016

KHARAZMI A, KEMP K, ISMAIL A, GASIM S, GAAFAR A, et al. 1999. T-cell response in human leishmaniasis. *Immunol Lett* 65: 105-108.

BACELLAR O, D'OLIVEIRA A JR, JERÔNIMO S, CARVALHO EM. 2000. IL-10 and IL-12 are the main regulatory cytokines in visceral leishmaniasis. *Cytokine* 12: 1228-1231.

CALDAS A, FAVALI C, AQUINO D, VINHAS V, VAN WEYENBERGH J, BRODSKY C, COSTA J, BARRALNETTO M, BARRAL A. 2005. Balance of IL-10 and interferon-gamma plasma levels in human visceral leishmaniasis: implications in the pathogenesis. *BMC Infect Dis* 5: 113.

PERUHYPE-MAGALHÃES V, MARTINS-FILHO OA, PRATA A, SILVA LDE A, RABELLO A, TEIXEIRACARVALHO A, FIGUEIREDO RM, GUIMARÃES-CARVALHO SF, FERRARI TC, VAN WEYENBERGH J, CORREA-OLIVEIRA R. 2006. Mixed inflammatory/regulatory cytokine profile marked by simultaneous raise of interferon-gamma and interleukin-10 and low frequency of tumour necrosis factor-alpha(+) monocytes are hallmarks of active human visceral Leishmaniasis due to *Leishmania chagasi* infection. *Clin Exp Immunol* 146: 124-132.

LIN E, CALVANO SE, LOWRY SF. 2000. Inflammatory cytokines and cell response in surgery. *Surgery*, 127:117-126.

SOMMER C, WHITE F. 2010. Cytokines, Chemokines, and Pain, em: Beaulieu P, Lussier D, Porreca F et al. – *Pharmacology of Pain*. 1st Ed, Seattle, IASP Press, 279-302.

CURFS JH, MEIS JF, Hoogkamp-Korstanje JA. 1997. A primer on cytokines: sources, receptors, effects, and inducers. *Clin Microbiol Rev*, 10:742-780.

CACOPARDO, B. *et al.* 1996. Prolonged Th2 cell activation and increased viral replication in HIV- *Leishmania* co-infected patients despite treatment. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 90, n. 4, p. 434–435.

HARMS, G.; FELDMEIERS, H. 2002. HIV infection and tropical parasitic diseases - deleterious interactions in both directions? *Tropical Medicine and International Health*: v. 7, n.6, p. 479- 488.

WOLDAY, D. *et al.* 2000. HIV-1 alters T helper cytokines, interleukin-12 and interleukin-18 responses to the protozoan parasite *Leishmania donovani*. *AIDS*: v. 14, n. 8, p. 921-929.

ALVAR J, VÉLEZ I, BERN C, HERRERO M, DESJEUX P, CANO J, JANNIN J, DEN BOER M. the WHO Leishmaniasis control team 2012. *Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence*. *PLoS One* 7: e3567.

ALVAR J, APARICIO P, ASEFFA A, *et al.* The relationship between *leishmaniasis* and AIDS: the second 10 years. *Clin Microbiol Rev* 2008; 21:334-59.

BARRETO DE SOUZA V, PACHECO GJ, SILVA AR, et al. Increased *Leishmania* replication in HIV-1-infected macrophages is mediated by tat protein through

cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin E2 synthesis. *J Infect Dis* 2006; 194:846- 854.

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de recomendações para diagnóstico, tratamento e acompanhamento de pacientes com a coinfeção *Leishmania*-HIV. Brasília, DF, 2015.

MAIA-ELKHOURY ANS, LUCENA F, SOUSA-GOMES ML, ALVES WA, PAZ L. Co-infecção da leishmaniose visceral e AIDS no Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.*; 40 Supl 1:S124. 2007

Ministério da Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. AIDS 2009: versão preliminar. *Boletim Epidemiológico: AIDS/DST.* 2009; 6(1):3-68 [acessado em 24 mar. 2010]. Disponível em [http://www.aids.gov.br/sites/default/files/publicacao/2009/boletim2009\\_final\\_pdf\\_24513.pdf](http://www.aids.gov.br/sites/default/files/publicacao/2009/boletim2009_final_pdf_24513.pdf).

Ministério da Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. AIDS 2010. *Boletim Epidemiológico.* 2010; 8(1):3-24 [acessado em 24 mar. 2010]. Disponível em: [http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2011/50652/vers\\_o\\_preliminar\\_69324.pdf](http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2011/50652/vers_o_preliminar_69324.pdf).

RABELLO A, ORSINI M, DISCH J. *Leishmania*/HIV coinfection in Brazil: an appraisal. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*; 97 Supl 1:17-28. 2003.

ELKHOURY, A., M. SOUSA, F. LUCENA, W. ALVES, J. SENA, AND L. PAZ. Co-infecção leishmaniose visceral e AIDS no Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 40:124. 2007.

TOLEZANO, J. E. Ecoepidemiological aspects of American Cutaneous Leishmaniasis in the State of Sao Paulo, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 89, n. 3, p. 427-434, 1994.

SNIDER, H. *et al.* Sex hormones and modulation of immunity against leishmaniasis. *Neuroimmunomodulation*, v. 16, n. 2, p. 106-113, 2009.

HENN, GUILHERME ALVES DE LIMA. Caracterização da leishmaniose visceral em pacientes coinfectados por HIV e fatores associados a óbito e recidiva/ Guilherme Alves de Lima Henn. – Fortaleza, 2016.140 f.

BOURGEOIS, N. *et al.* Long-term monitoring of visceral leishmaniasis in patients with AIDS: relapse risk factors, value of polymerase chain reaction, and potential impact on secondary prophylaxis. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, v. 48, n. 1, p. 13-19, mai. 2008.

COTA GF, DE SOUSA MR, RABELLO A. Predictors of visceral leishmaniasis relapse in HIV infected patients: a systematic review. *PLoS Negl Trop Dis* 2011; 5:e1153.

LOPEZ-VELEZ, R. *et al.* Clinicoepidemiologic characteristics, prognostic factors, and survival analysis of patients coinfecting with human immunodeficiency virus and *Leishmania* in an area of Madrid, Spain. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 58, n. 4, p. 436–443, abr. 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde. **Informações de Saúde (TABNET): Epidemiológicas e Morbidade.** Disponível em: <<http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=0203&id=29878153>>. Acesso

em: 18 set. 2020.

ALVAR, J. et al. Leishmaniasis and human immunodeficiency virus co-infection, the first 10 years. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 10, p. 298-319, 1997.

MARTINS, V. T. et al. A new Leishmania-specific hypothetical protein, LiHyT, used as avaccine antigen against visceral leishmaniasis. **Acta Tropica**, Basel, v. 154, p. 73-81, 2016.

BORGES, A. S. et al. Concomitância de leishmanioses e infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV): estudo de quatro casos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 32, p. 713-719, 1999.

HORST, R. et al. Concordant HIV Infection and Visceral Leishmaniasis in Ethiopia: The Influence of Antiretroviral Treatment and Other Factors on Outcome. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v.46, p. 1702-1709, 2008.

BOURGEOIS, N. *et al.* 'Active chronic visceral leishmaniasis' in HIV-1-infected patients demonstrated by biological and clinical long-term follow-up of 10 patients. **HIV Medicine**, v. 11, n. 10, p. 670-673, nov. 2010.

MURRAY, H. W. Prevention of relapse after chemotherapy in a chronic intracellular infection: mechanisms in experimental visceral leishmaniasis. **Journal of Immunology**, Baltimore, v. 174, n. 8, p. 4916-4923, abr. 2005.

SANTOS-OLIVEIRA R J, et al. High levels of T lymphocyte activation in Leishmania-HIV-1 co-infected individuals despite low HIV viral load. **BMC Infectious Diseases** 2010, 10:358.

BERENGUER, J. *et al.* Discontinuation of secondary anti-leishmania prophylaxis in HIV-infected patients who have responded to highly active antiretroviral therapy. **AIDS**, v. 14, n. 18, p. 2946-2948, dez. 2000.

DOUEK DC, ROEDERER M, KOUP RA. Emerging concepts in the immunopathogenesis of AIDS. **Annu Rev Med** 2009; 60:471-84.

APPAY V, ALMEIDA JR, SAUCE D, AUTRAN B, PAPAGNO, L. Accelerated immune senescence and HIV-1 infection. **Exp Gerontol** 42: 432-437. 2007.

APPAY V, ROWLAND-JONES SL. Premature ageing of the immune system: the cause of AIDS? **Trends Immunol** 23: 580-585. 2002.

GAMA, M.E.A. et al. Severe visceral leishmaniasis in children: the relationship between cytokine patterns and clinical features. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.46, n.6, p.741-745, nov./dez. 2013.

ALEXANDRINO-DE-OLIVEIRA P, SANTOS-OLIVEIRA JR, DORVAL ME, et al. HIV/AIDS associated visceral leishmaniasis in patients from an endemic area in Central-west Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 2010; 105:692-7.

MILLER SI, ERNST RK, BADER MW. LPS, TLR4 and infectious disease diversity. **Nat Rev Microbiol** 2005; 3:36-46.

GIOANNINI TL, WEISS JP. Regulation of interactions of Gram-negative bacterial endotoxins with mammalian cells. **Immunol Res** 39: 249-260. 2007

MOGENSEN TH. Pathogen recognition and inflammatory signaling in innate immune defenses. **Clin Microbiol Rev** 22: 240-273. 2009.

NYLÉN S, MAURYA R, EIDSMO L, et al. Splenic accumulation of IL-10 mRNA in T cells distinct from CD4+CD25+ (Foxp3) regulatory T cells in human visceral leishmaniasis. **J Exp Med** 2007; 204:805-17.

CENINI P, BERHE N, HAILU A, MCGINNES K, FROMMEL D. Mononuclear cell subpopulations and cytokine levels in human visceral leishmaniasis before and after chemotherapy. **J Infect Dis** 168: 986-993, 1993

MEDRANO FJ, REY C, LEAL M, CAÑAVATE C, RUBIO A, SÁNCHEZ- QUIJANO A, ALVAR J, LISSEN E. Dynamics of serum cytokines in patients with visceral leishmaniasis and HIV-1 coinfection. **Clin Exp Immunol** 114: 403-407. 1998.

ZHANG JM, AN J – Cytokines, inflammation, and pain. *Int Anesthesiol Clin* 2007;45:27-37.

MOGENSEN TH. Pathogen recognition and inflammatory signaling in innate immune defenses. **Clin Microbiol Rev** 22: 240-273. 2009.

GARG, R. et al. Leishmania infantum amastigotes enhance HIV-1 production in cultures of human dendritic cells and CD4+ T cells by inducing secretion of IL-6 and TNF- $\alpha$ . **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v.3, n. 5, p.e441, maio 2009.

BODAS, M. et al. Inhibition of IL-2 induced IL-10 production as a principle of phasespecific immunotherapy. **The Journal of Immunology**, v.177, p.4636–4643, 2006.

RIBEIRO-DE-JESUS A, ALMEIDA RP, LESSA H, BACELLAR O, CARVALHO EM Cytocine profile and pathology in human leishmaniasis. **Braz J Med Biol Res** 31: 143-148. 1998.

SAHA S, MONDAL S, BANERJEE A, et al. Immune responses in kala-azar. **Indian J MedRe** 2006; 123:245-266.

MELBY PC, CHANDRASEKAR B, ZHAO W, COE JE. The hamster as a model of human visceral leishmaniasis: progressive disease and impaired generation of nitric oxide in the face of a prominent Th1-like cytokine response. *J Immunol* 166: 1912-1920. 2001.

## ANEXO

### ANEXO I- FICHA PROTOCOLO

#### FICHA CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICA

Data de Preenchimento \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ N° de Registro \_\_\_\_\_

#### A- IDENTIFICAÇÃO

Nome: \_\_\_\_\_

Idade: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_ Cor: \_\_\_\_\_ Ocupação: \_\_\_\_\_

Local de Nascimento: \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

Endereço para contato: \_\_\_\_\_

#### B- EPIDEMIOLOGIA

Local provável de contágio: \_\_\_\_\_

Reside em área de risco: ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Existem cães no domicílio/peri-domicílio: ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Existem raposas/gambas nas proximidades: ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Existem animais doentes nas proximidades: ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Existem mosquitos no domicílio/peri-domicílio: ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Número de familiares em casa (Excluir paciente): \_\_\_\_\_

Localidades freqüentadas nos últimos 12 meses

MUNICÍPIO / UF	MÊS / ANO	TEMPO

#### C- ANTECEDENTES MÓRBIDOS PESSOAIS

História anterior de calazar: ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Caso sim: Há quanto tempo? \_\_\_\_\_ Droga: \_\_\_\_\_

Dose: \_\_\_\_\_ Tempo \_\_\_\_\_ Onde tratou \_\_\_\_\_

#### D- ANTECEDENTES MÓRBIDOS FAMILIARES

História anterior de calazar: ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Caso sim: Quem? \_\_\_\_\_ Há quanto tempo? \_\_\_\_\_

#### E- HISTÓRIA CLÍNICA

Início da doença: \_\_\_\_\_

Sinais e sintomas: \_\_\_\_\_

Febre: ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Caso sim, caracterizar: \_\_\_\_\_

Queda de cabelos/pelos: ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Anorexia: ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Diarréia: ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Caso sim, caracterizar: \_\_\_\_\_

Vômitos: ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Sangramentos: ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Caso sim, caracterizar: \_\_\_\_\_

Tosse: ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Dispnéia: ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Aumento de volume abdominal: ( ) 1. Sim 2. Não 9. Ignorado

Outros sintomas: \_\_\_\_\_

#### F- EXAME FÍSICO

P.A: \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_ Pulso: \_\_\_\_\_ T.A: \_\_\_\_\_ F.R: \_\_\_\_\_ Peso \_\_\_\_\_ Alt. \_\_\_\_\_

Estado geral: ( ) 1- Bom ( ) 2. Regular ( ) 3- Comprometido Estado  
 de Hidratação ( ) 1.Normal ( ) 2- Desidratado grau I  
 ( ) 3.Desidratado grau II ( ) 4- Desidratado grau III  
 Emagrecido ( ) 1- Sim 2. Não  
 Febril ( ) 1- Sim 2. Não  
 Mucosas:( ) 1. Normocoradas( ) 2. Hipocoradas+/4+( ) 3. Hipocoradas++/4+  
 ( ) 4. Hipocoradas+++/4+ ( ) 5. Hipocoradas ++++/4+  
 Ictérico: ( ) 1- Sim 2. Não  
 Alopecia: ( ) 1- Sim 2. Não  
 Manchas: ( ) 1- Sim 2. Não  
 Sangramento: ( ) 1- Sim 2. Não  
 Adenomegalia: ( ) 1- Sim 2. Não  
 Caso sim: Localização: ( ) 1. Suboccipital( ) 2. Submandibular  
 ( ) 3. Inguinal ( ) 4. Retroauricular  
 ( ) 5. Retrocervical( ) 6. Axilar

Características: ( ) 1.Isolados ( ) 2. Normal  
 ( ) 3.Agrupados ( ) 4.Amolecidos  
 ( ) 5.Coalescentes ( ) 6. Endurecidos  
 Protusão Abdominal: ( ) 1- Sim 2. Não  
 Hepatomegalia: ( ) 1- Sim 2. Não  
 Caso Sim: \_\_\_\_\_ cm RCD \_\_\_\_\_ cm Apêndice Xifóide  
 Esplenomegalia: ( ) 1- Sim 2. Não  
 Caso Sim: \_\_\_\_\_ cm RCE  
 Edema ( ) 1- Sim 2. Não  
 Caso Sim, caracterizar: \_\_\_\_\_  
 Alterações Ap. Cardiovascular: ( ) 1- Sim 2. Não  
 Caso sim, especificar: \_\_\_\_\_  
 Alterações Ap. Respiratório: ( ) 1- Sim 2. Não  
 Caso sim, especificar: \_\_\_\_\_  
 Alterações Sist. Nervoso Central: ( ) 1- Sim 2. Não  
 Caso sim, especificar: \_\_\_\_\_  
 Outras alterações: ( ) 1- Sim 2. Não  
 Caso sim, especificar: \_\_\_\_\_

### G- TERAPÊUTICA (Calazar)

Usou ou está em uso de droga específica: ( ) 1- Sim 2. Não( ) 9- Ignorado  
 Caso sim, Qual: \_\_\_\_\_  
 Dose ? Número de ampolas (Total e por dia): \_\_\_\_\_  
 Tempo se Uso: \_\_\_\_\_ Início do Tratamento: \_\_\_\_\_  
 Ocorreu internação durante a doença atual: ( ) 1- Sim 2. Não( ) 9- Ignorado  
 Caso sim. Há quanto tempo/Por quanto tempo: \_\_\_\_\_ onde: \_\_\_\_\_

### CONDUTA: \_\_\_\_\_

### H- TERAPÊUTICA (HIV)

Usou ou está em uso de droga específica: ( ) 1- Sim 2. Não( ) 9- Ignorado  
 Caso sim, Qual: \_\_\_\_\_  
 Dose ? Número comprimidos (Total e por dia): \_\_\_\_\_  
 Tempo se Uso: \_\_\_\_\_ Início do Tratamento: \_\_\_\_\_

89

### CONDUTA: \_\_\_\_\_

**I- EXAMES LABORATORIAIS**

EXAMES	DATAS			
HEMÁCIAS				
HEMOGLOBINA				
HEMATÓCRITO				
LEUCOCITOS				
META				
BASTOES				
SEGMENTADOS				
EOSINÓFILOS				
LINFÓCITOS				
MONÓCITOS				
PLAQUETAS				
T.PROTROMBINA				
AST/ALT	/	/	/	/
UREIA				
CREATININA				
GLOBULINA				
GLICEMIA				
MIELOGRAMA				
CD4				
CV HIV				
ECG				
VEL. HEMOSSEDI.				
OUTROS				
TESTE RÁPIDO				
ELISA				

**J – EVOLUÇÃO CLÍNICA**

Regressão da Febre: ( ) 1- Sim 2. Não( ) 9- Ignorado

Caso sim, Quantos dias após o início do tratamento: \_\_\_\_\_ caso Não, Descreva a febre: \_\_\_\_\_

Regressão do edema: ( ) 1- Sim 2. Não( ) 9- Ignorado

Caso sim, Quantos dias após o início do tratamento: \_\_\_\_\_ caso Não, Descreva a febre: \_\_\_\_\_

Regressão da Hepatomegalia: ( ) 1- Sim 2. Não( ) 9- Ignorado

Regressão da Esplenomegalia: ( ) 1- Sim 2. Não( ) 9- Ignorado

Óbito: ( ) 1- Sim 2. Não( ) 9- Ignorado

Alta Hospitalar: ( ) 1- Sim 2. Não( ) 9- Ignorado

**K - RECIDIVIA**

( ) Sim\* ( ) Não

\*Caso Sim preencher Nova Ficha

## TERMO DE CONSENTIMENTO

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO

Projeto de pesquisa: “**CARACTERIZAÇÃO DA COINFECÇÃO LEISHMANIOSE/HIV EM PACIENTES ATENDIDOS EM HOSPITAL DE REFERÊNCIA DO ESTADO DO MARANHÃO: ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, CLÍNICOS E LABORATORIAIS**”

O Sr(a). está sendo convidado(a) pela Dra. Conceição de Maria Pedrozo e Silva de Azevedo (CRM-MA: 2415), médica pesquisadora da Universidade Federal do Maranhão, a participar deste projeto de pesquisa. Este projeto visa investigar o quadro clínico, alterações laboratoriais e evolução após o início do tratamento da Leishmaniose Visceral em associação com o Vírus da Imunodeficiência Adquirida (HIV). Sabe-se que a Leishmaniose visceral (LV), também conhecida como Calazar, tem uma evolução mais grave quando associada ao HIV e que a resposta ao tratamento pode estar comprometida, assim a recaída é mais comum neste grupo de pacientes. Você responderá algumas perguntas relacionadas aos sintomas associados a LV e ao HIV, além de dados pessoais (idade, sexo, profissão, nível de escolaridade, cidade de nascimento e de residência). Também acompanharei sua evolução, durante o tratamento e após término do tratamento, por um período de 2 (dois) anos. Coletarei os dados de exame físico e exames laboratoriais que estão no seu prontuário. Compreenda que o objetivo principal desta pesquisa é avaliar a LV, analisar a forma clínica, gravidade da doença e se está ocorrendo uma melhora no seu quadro clínico a partir do tratamento que você utilizará e se manterá cura após 2 anos do tratamento da LV. Os principais benefícios esperados são entender a apresentação clínica e as prováveis evoluções nesta co-infecção (LV/HIV), o que pode vir a reduzir as complicações, comuns a estas doenças. Também se espera que com a avaliação das apresentações clínicas, da resposta terapêutica e evolução pós tratamento, bem como todas as alterações de exames laboratoriais, pode-se aumentar o conhecimento sobre a co- infecção e melhorar o manejo desta doença. Esta pesquisa não oferece nenhum risco para sua saúde, visto que não irei interferir em seu tratamento, apenas irei acompanhá-lo, durante o período previsto. Os riscos a que estará sujeito serão com relação a quebra de sigilo ou sentir-se constrangido em responder a questionamentos sobre sua doença, mas asseguro o sigilo do seu diagnóstico e tudo será feito de acordo com sua vontade para que se sinta bem durante a entrevista.

Afirmo que você não é obrigado a participar do estudo e que isso não trará nenhum prejuízo ao Sr(a). ou seus familiares. Explico que não receberá nenhum pagamento por participar da pesquisa, e que se participar, tem o direito de desistir a qualquer momento. Garantimos que as informações dadas ao projeto permanecerão em sigilo durante todas as etapas desta pesquisa, inclusive na publicação dos resultados da mesma.

Também afirmo que poderá solicitar qualquer esclarecimento ou fazer qualquer reclamação com a Dra. Conceição de Maria Pedrozo e Silva de Azevedo ou outro membro de sua equipe, pessoalmente ou pelos telefones (98) 30821193, (98) 88036918. Também forneço o telefone do CEP (Comitê de Ética na Pesquisa), para que possa fazer qualquer reclamação ou tirar dúvidas sobre questões éticas relacionadas à pesquisa. Tel: (98)21091250.

Este documento estará em duas vias, assinadas e rubricadas pelo pesquisador responsável e pelos voluntários da pesquisa, ficando uma via com o pesquisador e a outra com o voluntário.

Por fim, após ler esse documento, pode solicitar qualquer explicação que deseje da equipe, e caso não possua mais dúvidas, concorda em participar como voluntário do projeto e estudo agora proposto, o que fica confirmado pela sua assinatura abaixo. **(Local) ....., de**

**de 201**

**NOME:** .....

**Assinatura:** \_\_\_\_\_

**IMPRESSÃO DATILOSCÓPICA (quando se aplicar)**

**TESTEMUNHAS:**

**1. NOME:**.....

**Assinatura:** \_\_\_\_\_

**1. NOME:**.....

**Assinatura:** \_\_\_\_\_