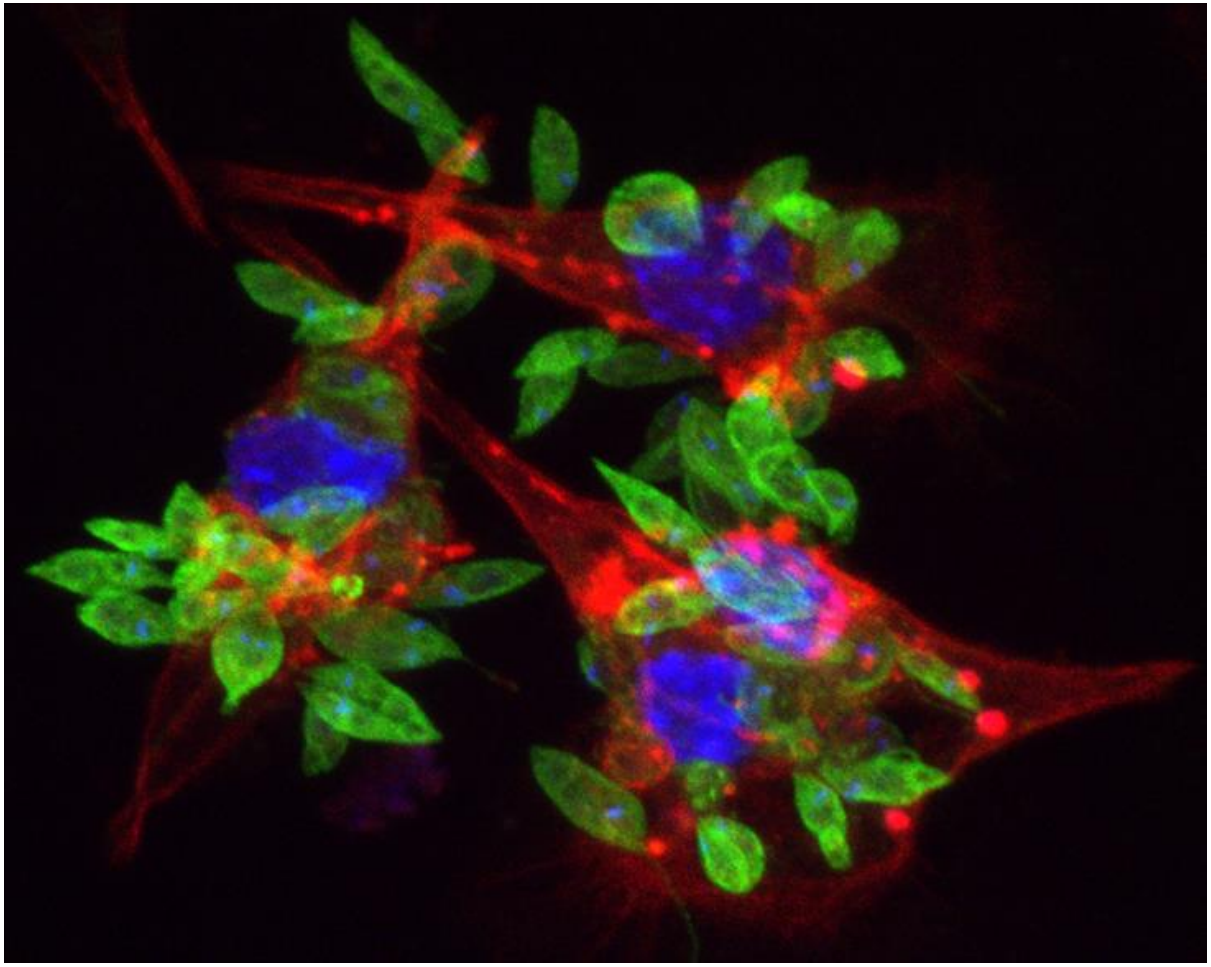
A relação patógeno-hospedeiro sob o ponto de vista molecular: o modelo de infecção por *Leishmania*



BMP5764 - A Relação Patógeno-hospedeiro sob o ponto de vista Molecular: O Modelo de Infecção por *Leishmania*- 2020

1/09 – I – Introdução ao estudo das leishmanioses.

4/09 – II – Leishmaniose: aspectos epidemiológicos e clínicos. *Condução: Silvia Uliana*
- Carini e Paranhos (1909). Identificação das úlceras de Bauru ao Botão do Oriente. Rev. Med. S. Paulo 12:111-116.
- Lindenberg (1909). A úlcera de Bauru e seu micróbio. Rev. Med. S. Paulo 12:116-120.

8/09– III – Sobrevivência do parasita no vetor.
- Secundino N, Kimblin N, Peters NC, Lawyer P, Capul AA, Beverley SM, Turco SJ, Sacks D. Proteophosphoglycan confers resistance of *Leishmania major* to midgut digestive enzymes induced by blood feeding in vector sand flies. Cell Microbiol. 2010 Jul;12(7):906-18.
- Rogers ME, Bates PA. *Leishmania* manipulation of sand fly feeding behavior results in enhanced transmission. PLoS Pathog. 2007 Jun;3(6):e91.

Leitura complementar: Sacks e Kamhawi (2001) Annu. Rev. Microbiol. 55:453-483.

11/09 – IV – Glicoconjungados de superfície e sobrevivência do parasita no vetor e no mamífero
- McConville MJ, Turco SJ, Ferguson MA, Sacks DL. Developmental modification of lipophosphoglycan during the differentiation of *Leishmania major* promastigotes to an infectious stage. EMBO J. 1992 Oct;11(10):3593-600.
- Späth GF, Garraway LA, Turco SJ, Beverley SM.The role(s) of lipophosphoglycan (LPG) in the establishment of *Leishmania major* infections in mammalian hosts. Proc Natl Acad Sci U S A. 2003 Aug 5;100(16):9536-41.
- Ilg T. Lipophosphoglycan is not required for infection of macrophages or mice by *Leishmania mexicana*. EMBO J. 2000 May 2;19(9):1953-62.

15/09 - V- Sobrevivência do parasita à inoculação no hospedeiro mamífero: complemento/neutrófilos.
- Mosser e Edelson (1987) The third component of complement is responsible for the intracellular survival of *Leishmania major*. Nature 327:329-331.
- Hurrell BP, Schuster S, Grün E, Coutaz M, Williams RA, Held W, Malissen B, Malissen M, Yousefi S, Simon HU, Müller AJ, Tacchini-Cottier F. Rapid Sequestration of *Leishmania mexicana* by Neutrophils Contributes to the Development of Chronic Lesion. PLoS Pathog. 2015 May 28;11(5):e1004929.
- Gueirard P, Laplante A, Rondeau C, Milon G, Desjardins M. Trafficking of *Leishmania donovani* promastigotes in non-lytic compartments in neutrophils enables the subsequent transfer of parasites to macrophages. Cell Microbiol. 2008 Jan;10(1):100-11.

18/09- VI - Fagocitose e interferência na resposta de defesa

- Mosser DM, Edelson PJ. The mouse macrophage receptor for C3bi (CR3) is a major mechanism in the phagocytosis of Leishmania promastigotes. J Immunol. 1985 Oct;135(4):2785-9.
- Casgrain PA, Martel C, McMaster WR, Mottram JC, Olivier M, Descoteaux A. Cysteine Peptidase B Regulates *Leishmania mexicana* Virulence through the Modulation of GP63 Expression. PLoS Pathog. 2016 May 18;12(5):e1005658.

Leitura complementar : Ueno N, Wilson ME. Receptor-mediated phagocytosis of *Leishmania*: implications for intracellular survival. Trends Parasitol. 2012 Aug;28(8):335-44. doi: 10.1016/j.pt.2012.05.002

22/09 – VII – Amastigotas. *Condução: Danilo Miguel*

- Kane e Mosser (2001). The Role of IL-10 in Promoting Disease Progression in Leishmaniasis. J. Immunol. 166(2):1141-7
- de Paiva RMC, Grazielle-Silva V, Cardoso MS, Nakagaki BN, Mendonça-Neto RP, Canavaci AMC, et al. (2015) Amastin Knockdown in Leishmania braziliensis Affects Parasite-Macrophage Interaction and Results in Impaired Viability of Intracellular Amastigotes. PLoS Pathog 11(12): e1005296. doi:10.1371/journal.ppat.1005296.

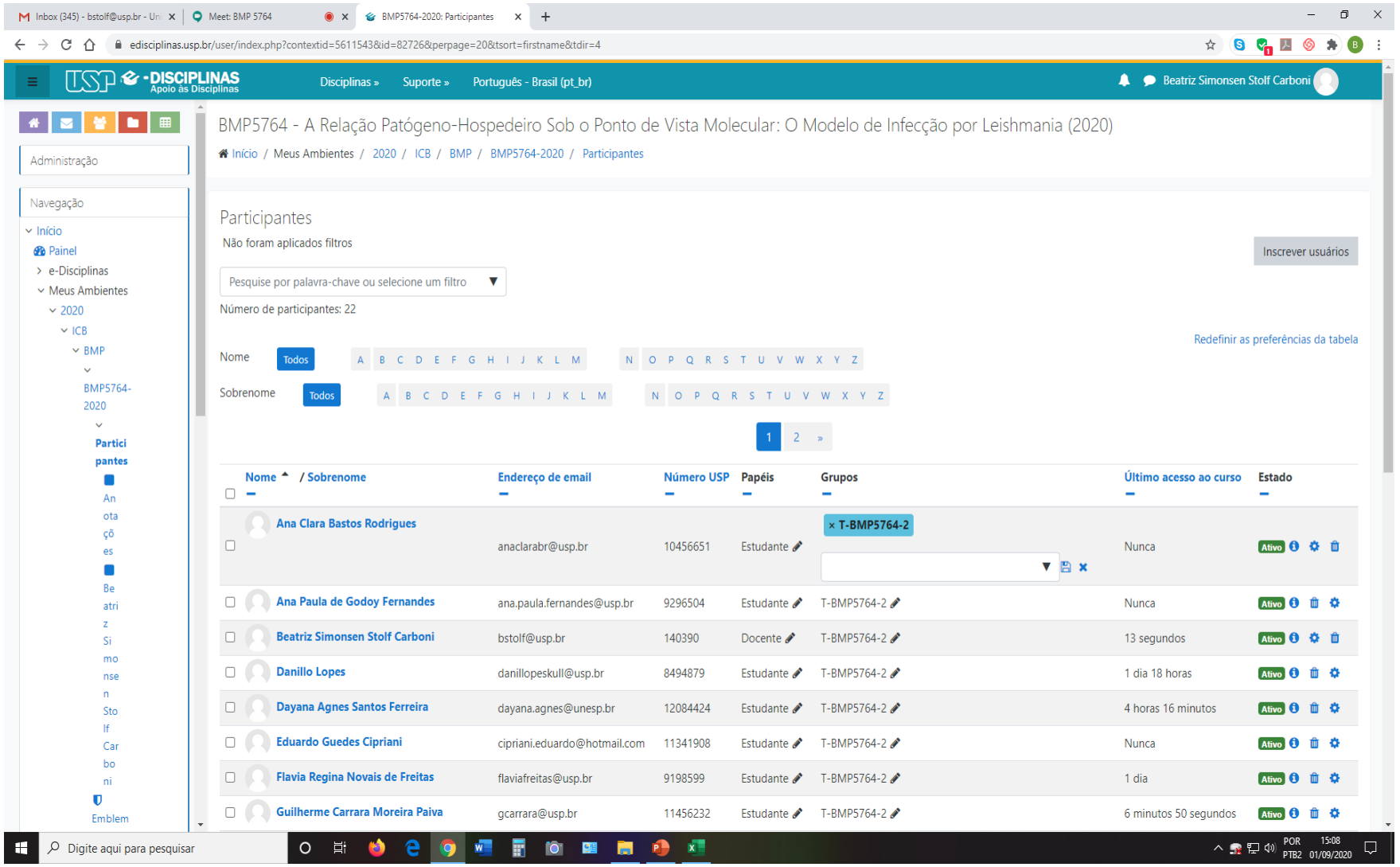
Leitura complementar: Podinovskaia M, Descoteaux A. *Leishmania* and the macrophage: a multifaceted interaction. Future Microbiol. 2015;10(1):111-29.

25/09 - VIII – Características intra-específicas que modulam a infectividade

- de Rezende E, Kawahara R, Peña MS, Palmisano G, Stolf BS. Quantitative proteomic analysis of amastigotes from *Leishmania (L.) amazonensis* LV79 and PH8 strains reveals molecular traits associated with the virulence phenotype. PLoS Negl Trop Dis. 2017 Nov 27;11(11):e0006090.
- Ives A, Ronet C, Prevel F, Ruzzante G, Fuertes-Marraco S, Schutz F, Zangger H, Revaz-Breton M, Lye LF, Hickerson SM, Beverley SM, Acha-Orbea H, Launois P, Fasel N, Masina S. *Leishmania* RNA virus controls the severity of mucocutaneous leishmaniasis. Science. 2011 Feb 11;331(6018):775-8.

29/09 - IX– Quimioterapia de leishmanioses. *Condução: Silvia Uliana*

02/10- Encerramento.


Inbox (345) - bstolf@usp.br - Un
Meet: BMP 5764
BMP5764-2020: Participantes
edisciplinas.usp.br/user/index.php?contextid=5611543&id=82726&perpage=20&tsort=firstname&tdir=4
USP e-DISCIPLINAS
Apoio às Disciplinas
Disciplinas »
Suporte »
Português - Brasil (pt_br)
Beatriz Simonsen Stolf Carboni
Administração
Navegação
Início
Painel
e-Disciplinas
Meus Ambientes
2020
ICB
BMP
BMP5764-2020
Participantes
Anotações
Beatriz Simonsen Stolf Carboni
Emblem
BMP5764 - A Relação Patógeno-Hospedeiro Sob o Ponto de Vista Molecular: O Modelo de Infecção por Leishmania (2020)
Início / Meus Ambientes / 2020 / ICB / BMP / BMP5764-2020 / Participantes
Participantes
Não foram aplicados filtros
Inscrever usuários
Pesquise por palavra-chave ou selecione um filtro
Número de participantes: 22
Redefinir as preferências da tabela
Nome
Todos
A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z
Sobrenome
Todos
A B C D E F G H I J K L M N O P Q R S T U V W X Y Z
1 2 »
Nome / Sobrenome
Endereço de email
Número USP
Papéis
Grupos
Último acesso ao curso
Estado
Ana Clara Bastos Rodrigues
anaclarabr@usp.br
10456651
Estudante
× T-BMP5764-2
Nunca
Ativo
Ana Paula de Godoy Fernandes
ana.paula.fernandes@usp.br
9296504
Estudante
T-BMP5764-2
Nunca
Ativo
Beatriz Simonsen Stolf Carboni
bstolf@usp.br
140390
Docente
T-BMP5764-2
13 segundos
Ativo
Danillo Lopes
danillopeskull@usp.br
8494879
Estudante
T-BMP5764-2
1 dia 18 horas
Ativo
Dayana Agnes Santos Ferreira
dayana.agnes@unesp.br
12084424
Estudante
T-BMP5764-2
4 horas 16 minutos
Ativo
Eduardo Guedes Cipriani
cipriani.eduardo@hotmail.com
11341908
Estudante
T-BMP5764-2
Nunca
Ativo
Flavia Regina Novais de Freitas
flaviafreitas@usp.br
9198599
Estudante
T-BMP5764-2
1 dia
Ativo
Guilherme Carrara Moreira Paiva
gcarrara@usp.br
11456232
Estudante
T-BMP5764-2
6 minutos 50 segundos
Ativo
Digite aqui para pesquisar
POR
PTB2
15:08
01/09/2020

Porque estudar leishmaniose?

Grande endemia: 98 países

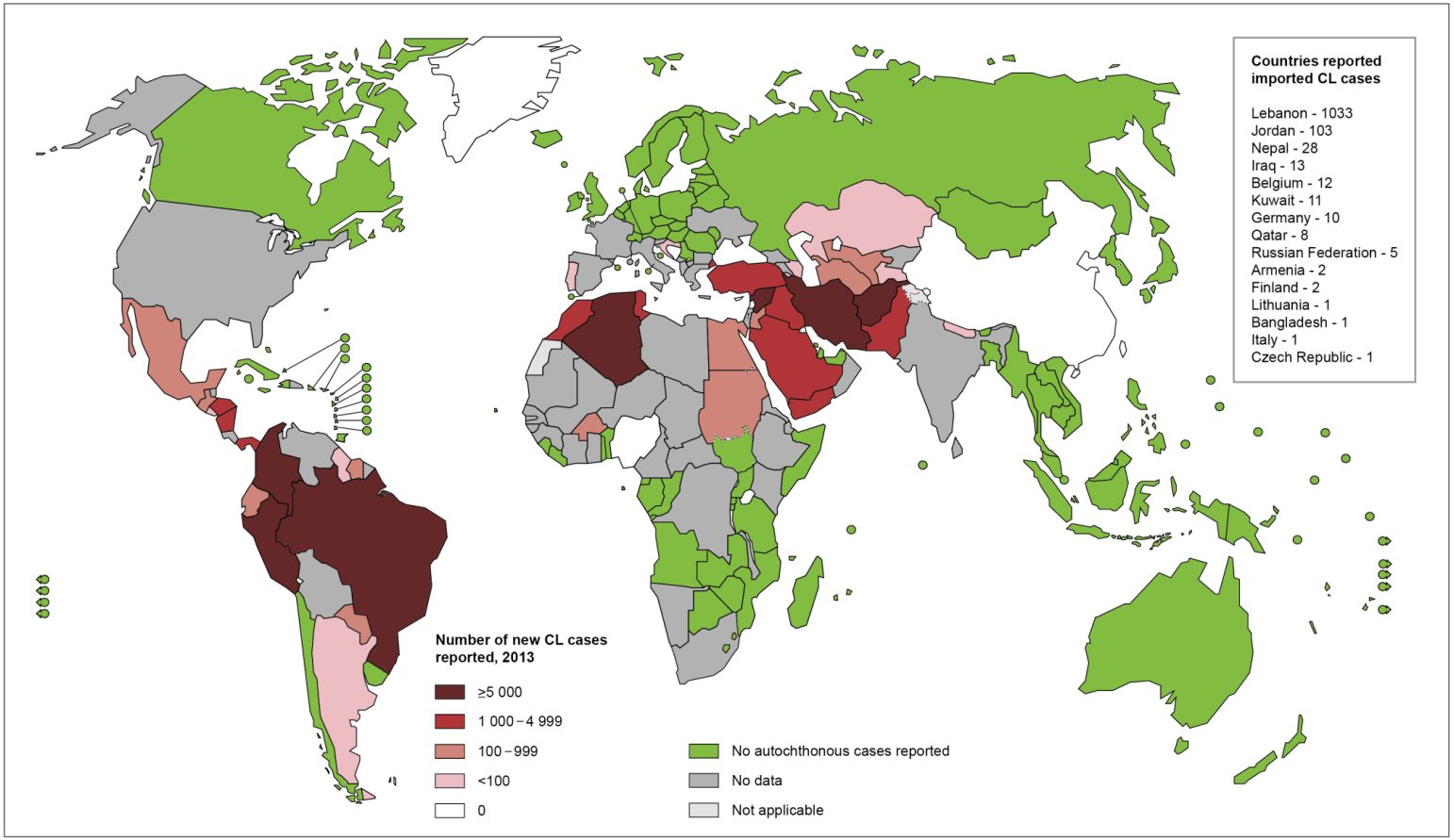
~12 milhões pessoas estão infectadas (2mi/ano)

350 milhões de pessoas ameaçadas de infecção

Alta incidência no Brasil

2 formas principais:
- Cutânea ou Tegumentar
- Visceral

Distribuição Geográfica da Leishmaniose Cutânea (Tegumentar)

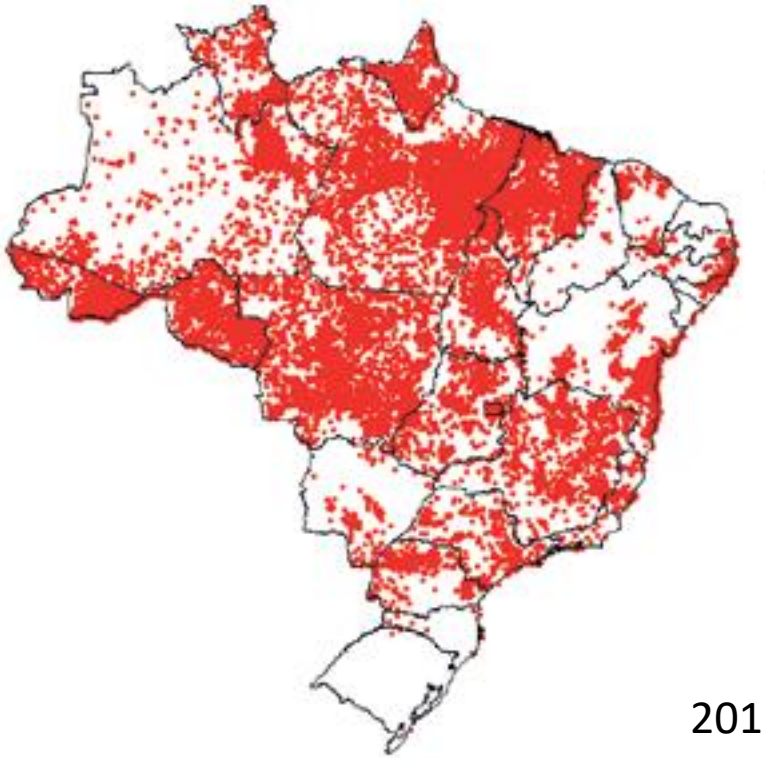


1,5 milhão de casos novos por ano (2013)

World Health Organization

90% cutâneas: Afeganistão, Brasil, Irã, Peru, Arábia Saudita, Síria
90% mucosas: Bolívia, Brasil, Peru
1300-2500 soldados americanos com LC após Afeganistão e Iraque

Leishmaniose Tegumentar no Brasil

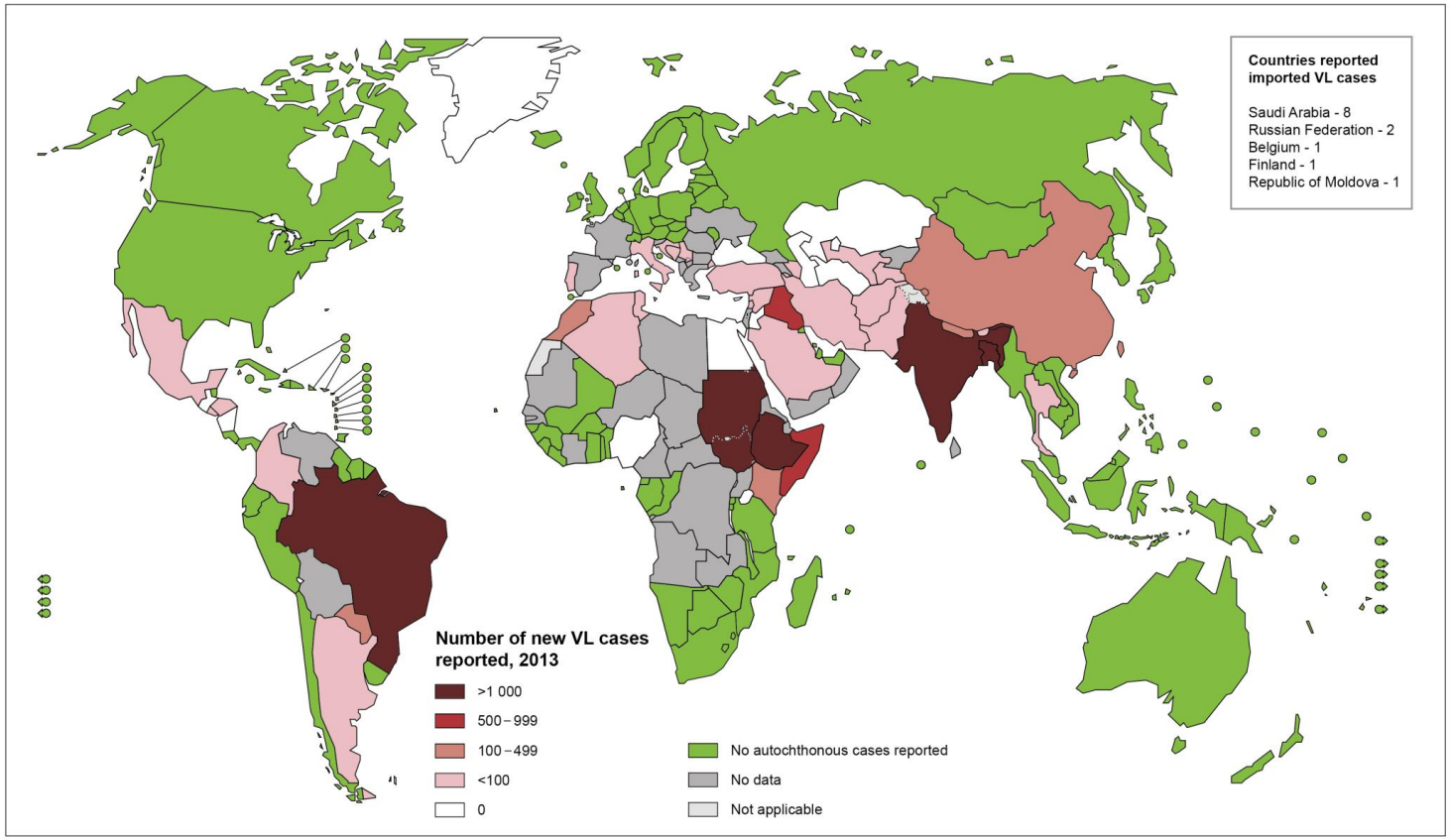


2015

25.000-30.000 casos por ano

MANUAL DE VIGILÂNCIA DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR, MS 2017

Distribuição Geográfica da Leishmaniose Visceral



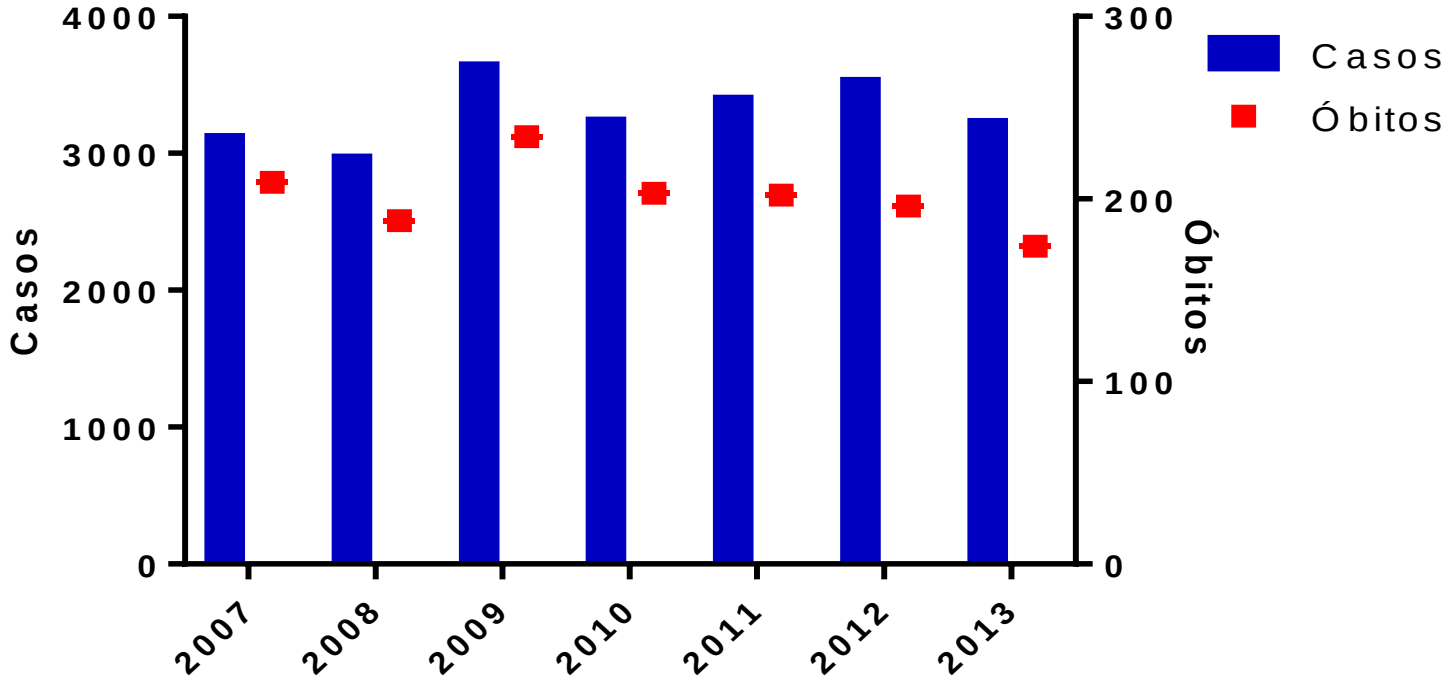
~500.000 casos novos por ano (2013)

World Health Organization

90% viscerais: Bangladesh, Brasil, Índia, Nepal, Sudão

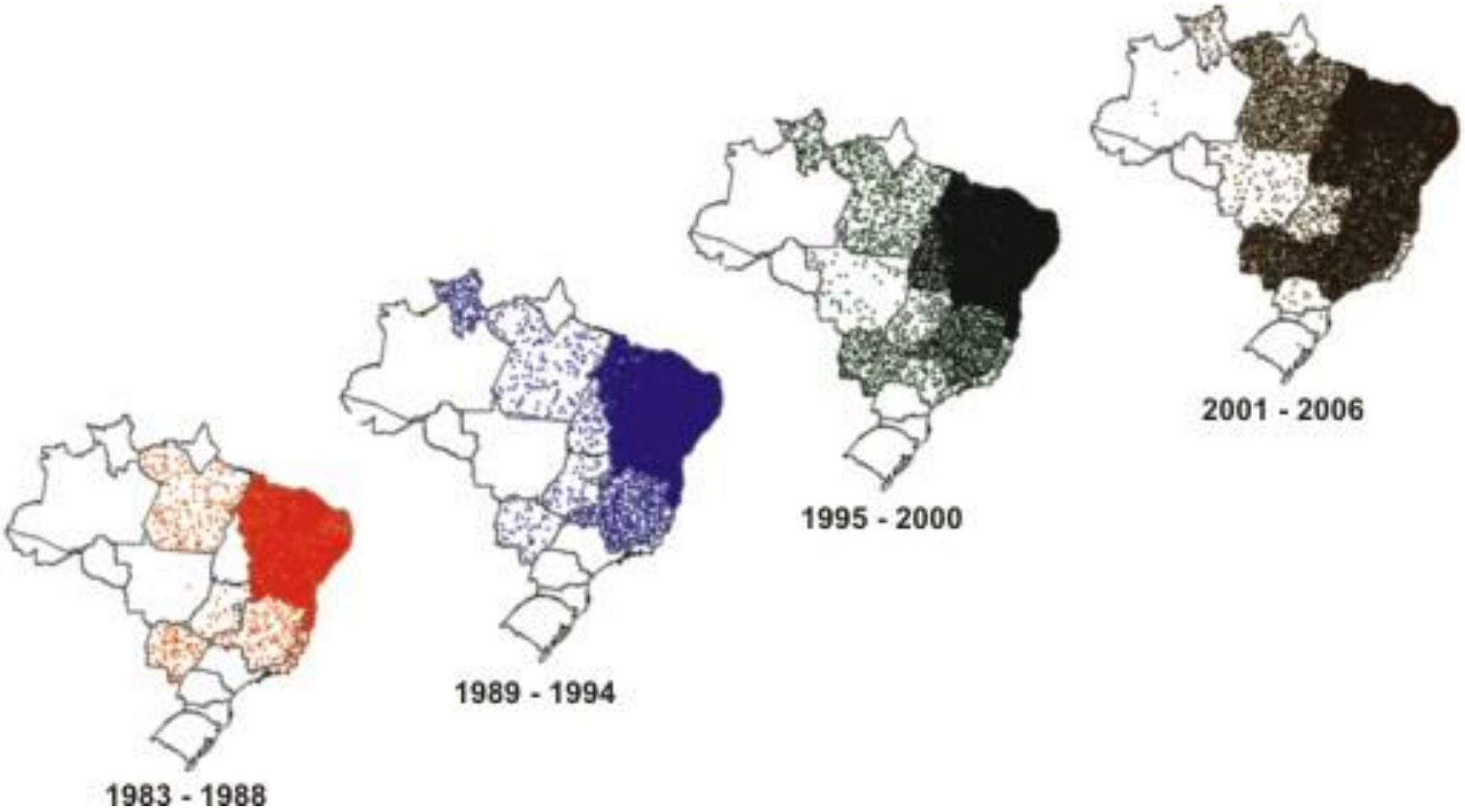
Índia: 50% dos casos do mundo; Bihar (rural): 90% dos casos indianos

Leishmaniose Visceral no Brasil

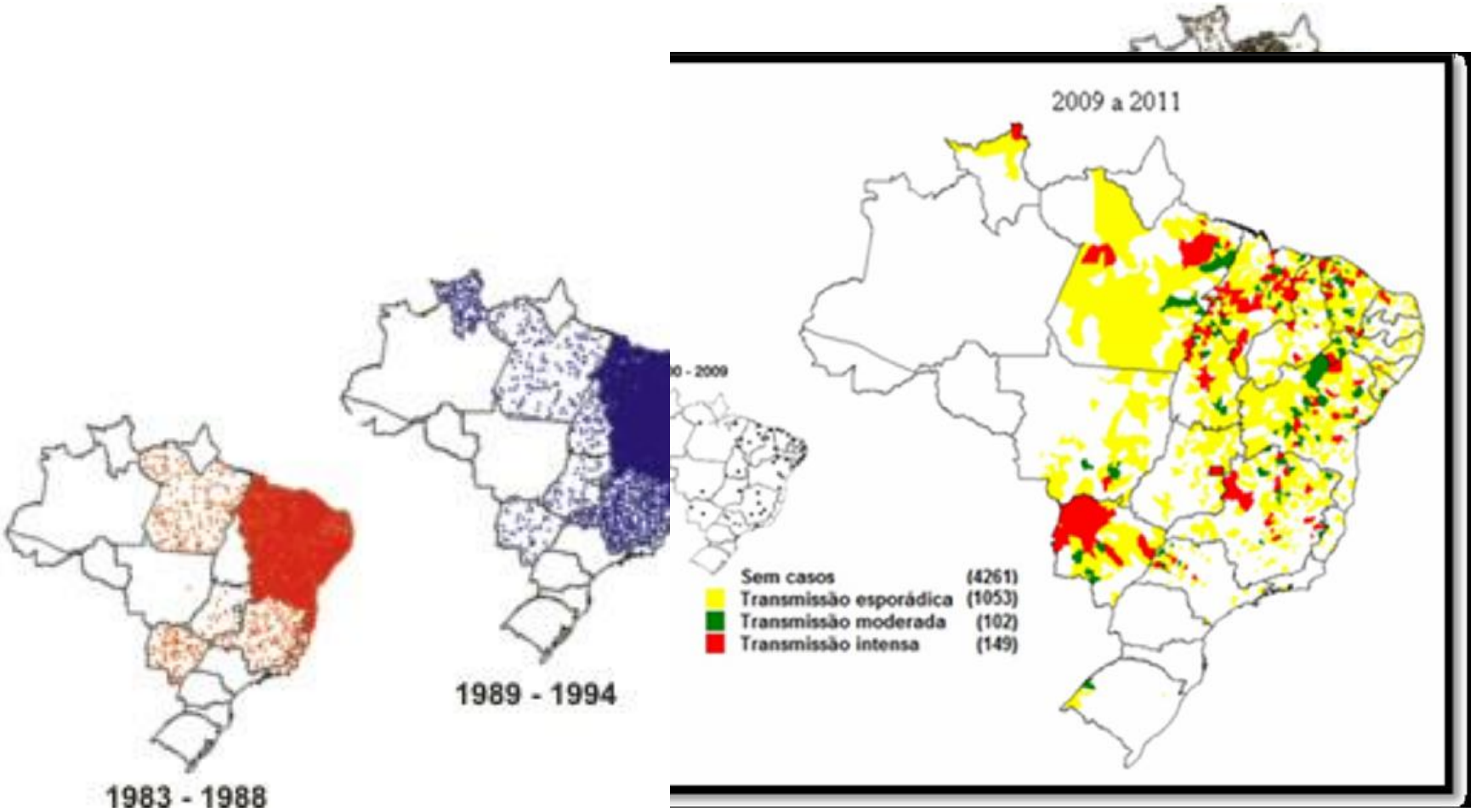


http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/tabnet?sinannet/leishvi/bases/leishvbrnet.def

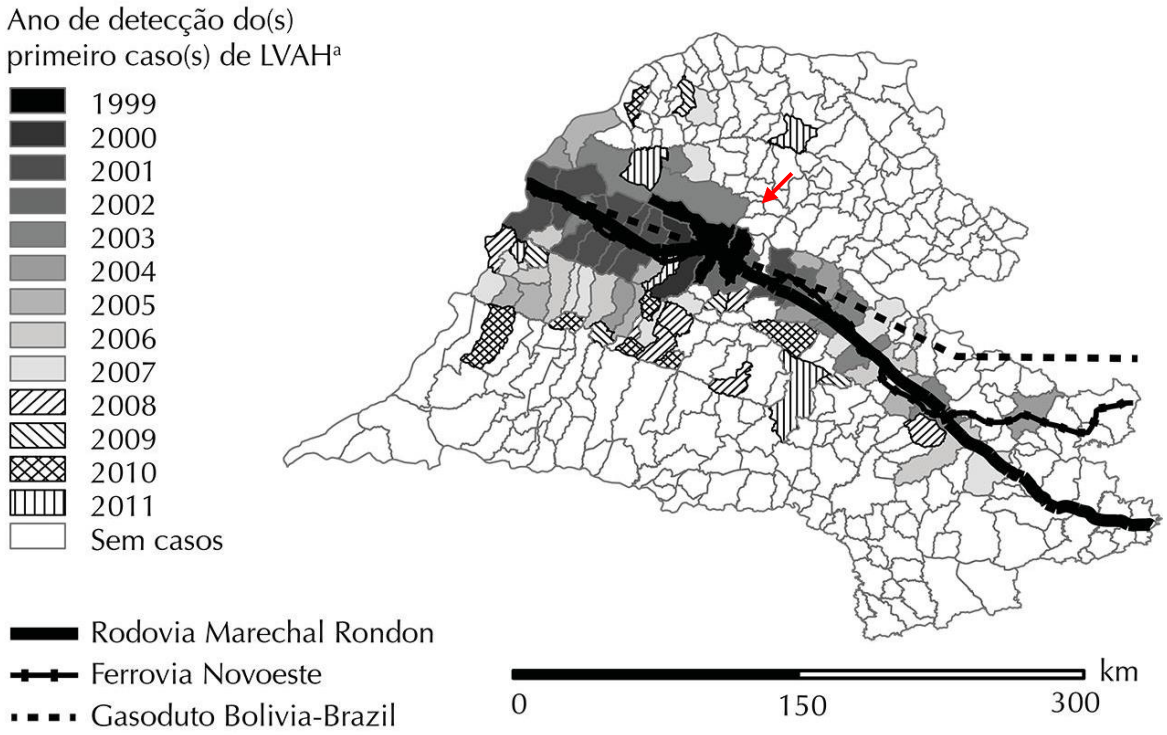
Leishmaniose Visceral no Brasil



http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa71_lva.htm


1983 - 1988
1989 - 1994
2009 a 2011
Sem casos (4261)
Transmissão esporádica (1053)
Transmissão moderada (102)
Transmissão intensa (149)

Leishmaniose Visceral em São Paulo



[a]LVAH: Leishmaniose visceral americana em humanos

Avanço em direção a SP: Gasoduto Brasil- Bolivia, migrações (30km/ano)

Cardim et al. Rev. Saúde Pública 2016

Folha de São Paulo, 4 março 2018

SAÚDE

Leishmaniose se espalha pelo estado de SP e avança para capital

Doença chegou a Guarujá em 2016, a 400 km das regiões tradicionalmente endêmicas

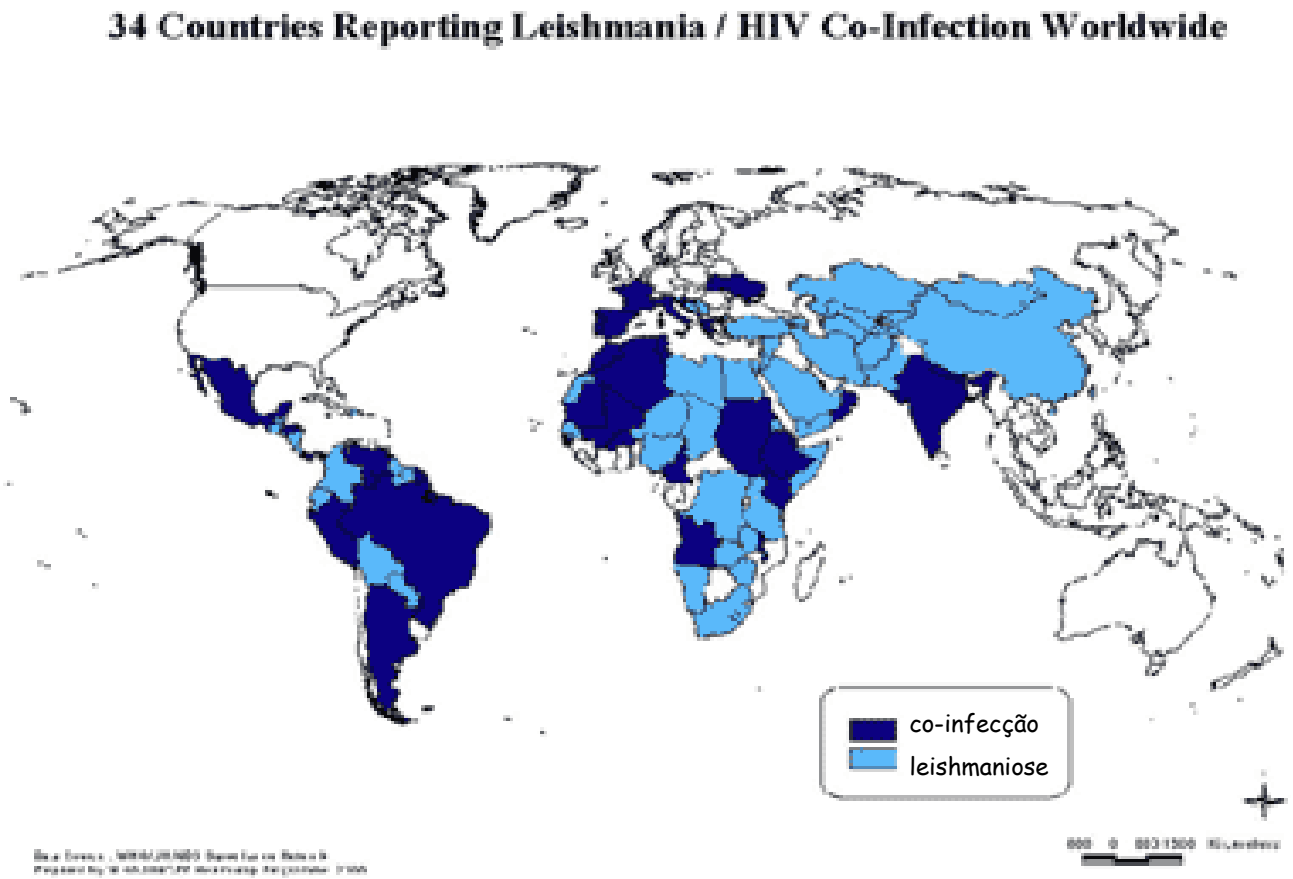
Cláudia Collucci

SÃO PAULO

A leishmaniose visceral, doença causada por parasita transmitido ao homem pela picada de mosquitos (especificamente, flebotomíneos), se espalhou pelo estado de São Paulo e avança para a capital.

Apesar de o número de casos estar em queda no país como um todo, a preocupação é que a doença atinja um número cada vez maior de municípios paulistas.

Distribuição geográfica leishmaniose visceral/AIDS

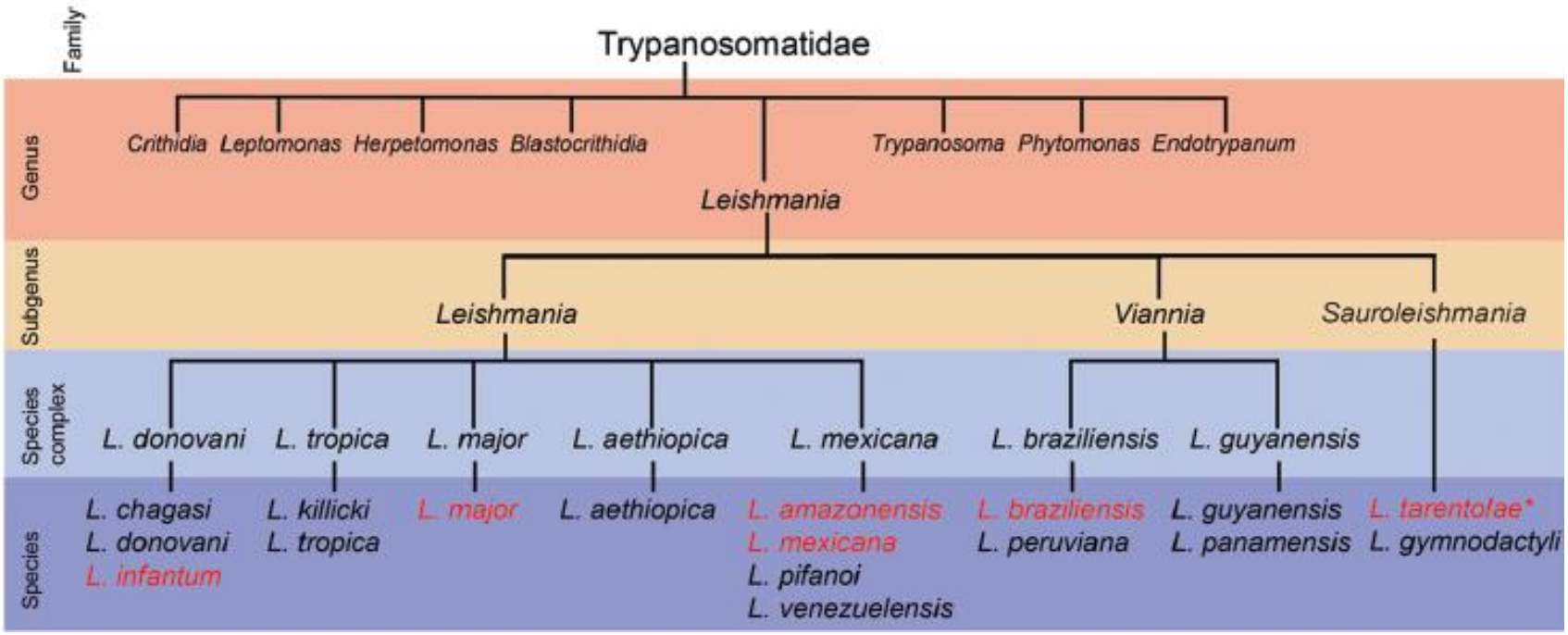


Leishmaniose **visceral** acelera AIDS

HIV ativa leishmaniose em portadores antes assintomáticos

O parasito

Ordem Kinetoplastida
Família Trypanosomatidae



Real et al., 2013

Ancestral de tripanosomatídeos: parasita de insetos

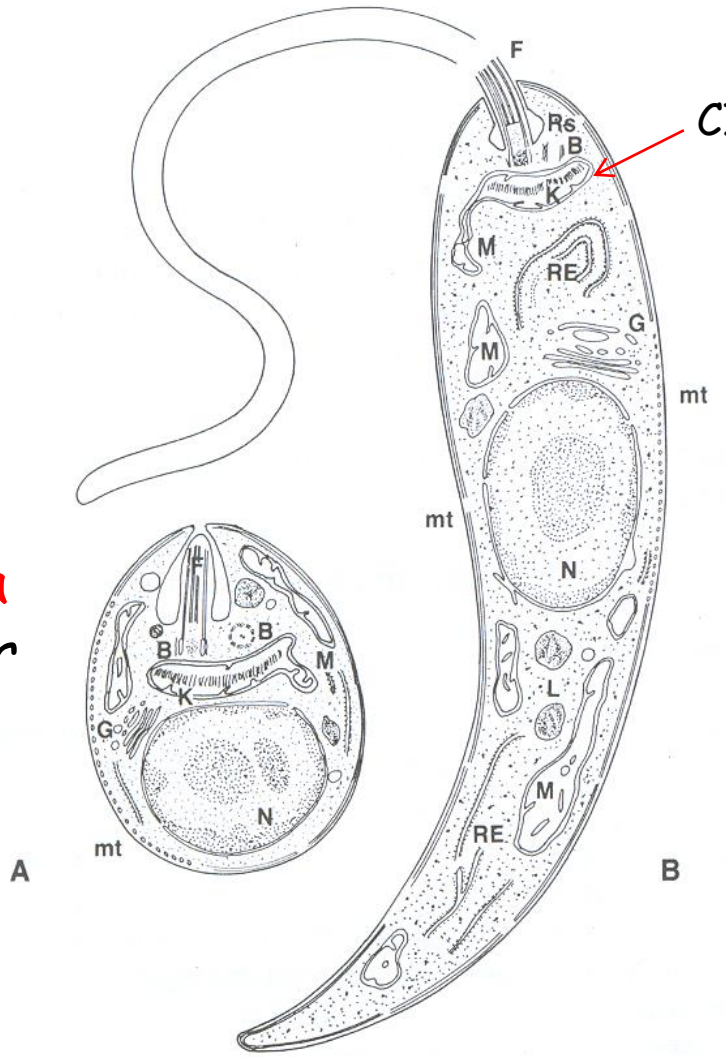
Gênero *Leishmania*

Sub-gêneros *Leishmania*
Viannia

Classificação com base na diferenciação no tubo digestivo do inseto:
- *Leishmania* no intestino anterior e médio
- *Viannia* no anterior, médio e posterior

Outras diferenças: genoma, RNAi, vírus de RNA...

Formas do parasito



Amastigota
Intracelular
(2-6μm)

Promastigota
Vetor, cultura
(14-20μm)

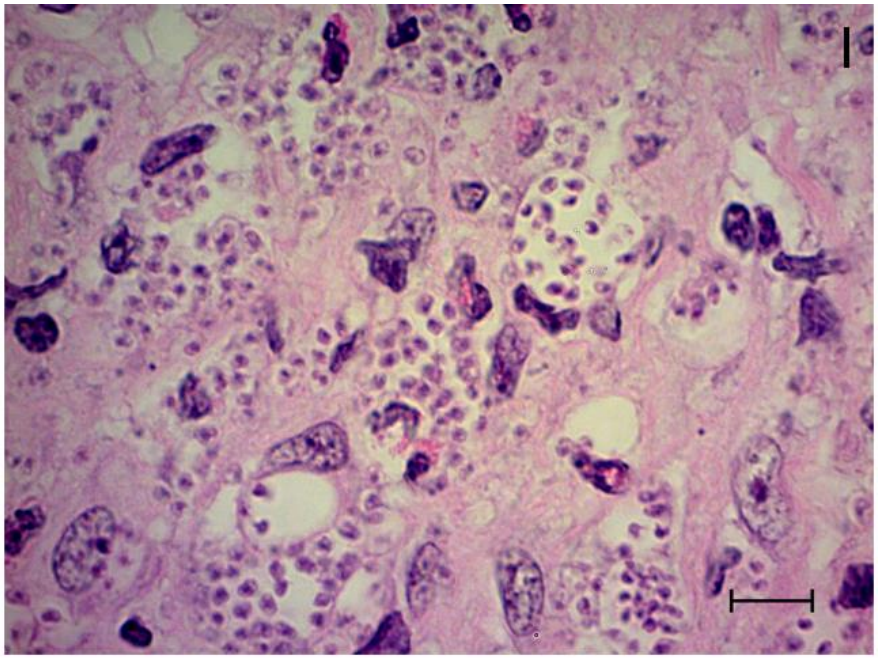
Bactéria~0,5μm, linfócito ~ 12μm

Promastigota

Reprodução por fissão binária no inseto vetor
Forma invasiva: promastigota metacíclico

Amastigota

Fagocitado por células do sistema mononuclear fagocítico:
macrófagos, neutrófilos, células dendríticas
Reprodução por fissão binária no macrófago



Espécies do gênero *Leishmania*

Mais de 20 espécies patogênicas ao homem

Evolução clonal- spp separadas há 15–50 milhões de anos, 2,5% genes espécie-específicos

Espécies morfologicamente semelhantes (exceções)

Identificadas por métodos moleculares

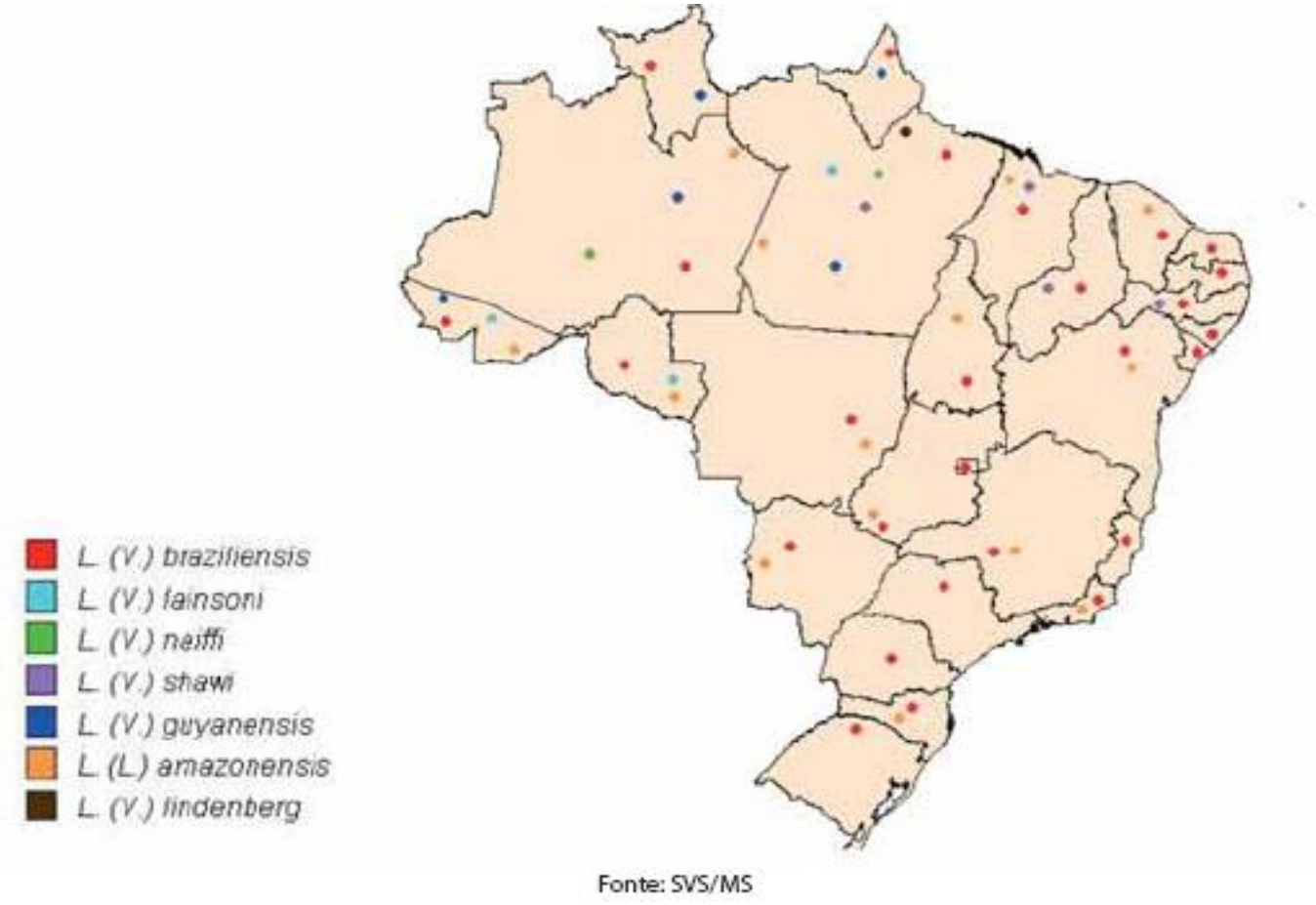
Transmitidas por diferentes espécies de vetores (compatibilidade vetorial)

Infectam diferentes hospedeiros vertebrados

Diferem quanto a moléculas de adesão, fatores de virulência e formas clínicas

Principais agentes da LTA no Brasil:

Leishmania (V.) braziliensis, L.(L.) amazonensis



Fonte: SVS/MS
2005

LV no Brasil: *Leishmania (L.) infantum chagasi*

Vetores

Flebotomíneos- Ordem Phlebotominae

5 gêneros e 700spp

30spp são vetores de *Leishmania*

Lutzomyia nas Américas

Phlebotomus na África, Europa e Ásia

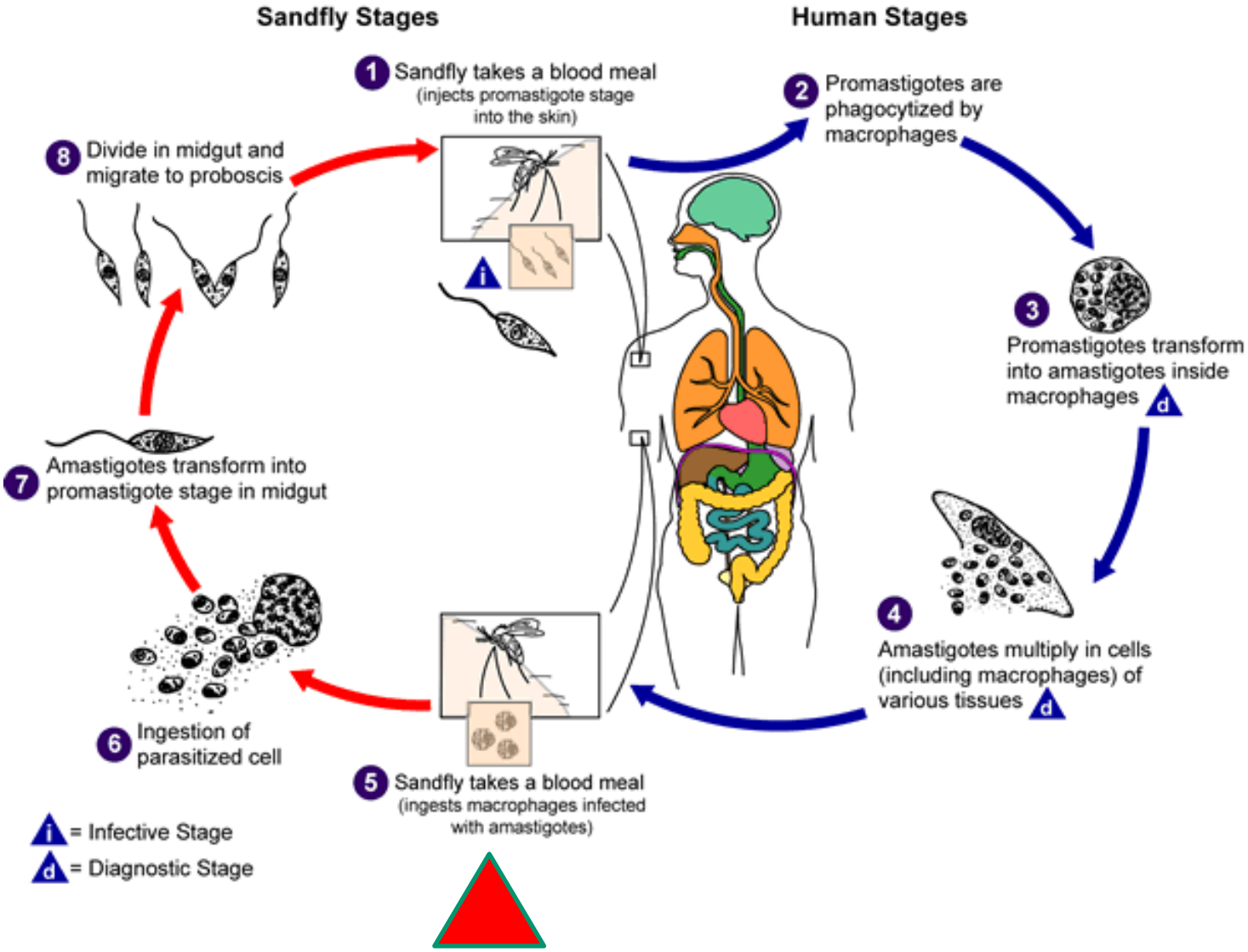
"Mosquito (!) palha", birigui

Vetores

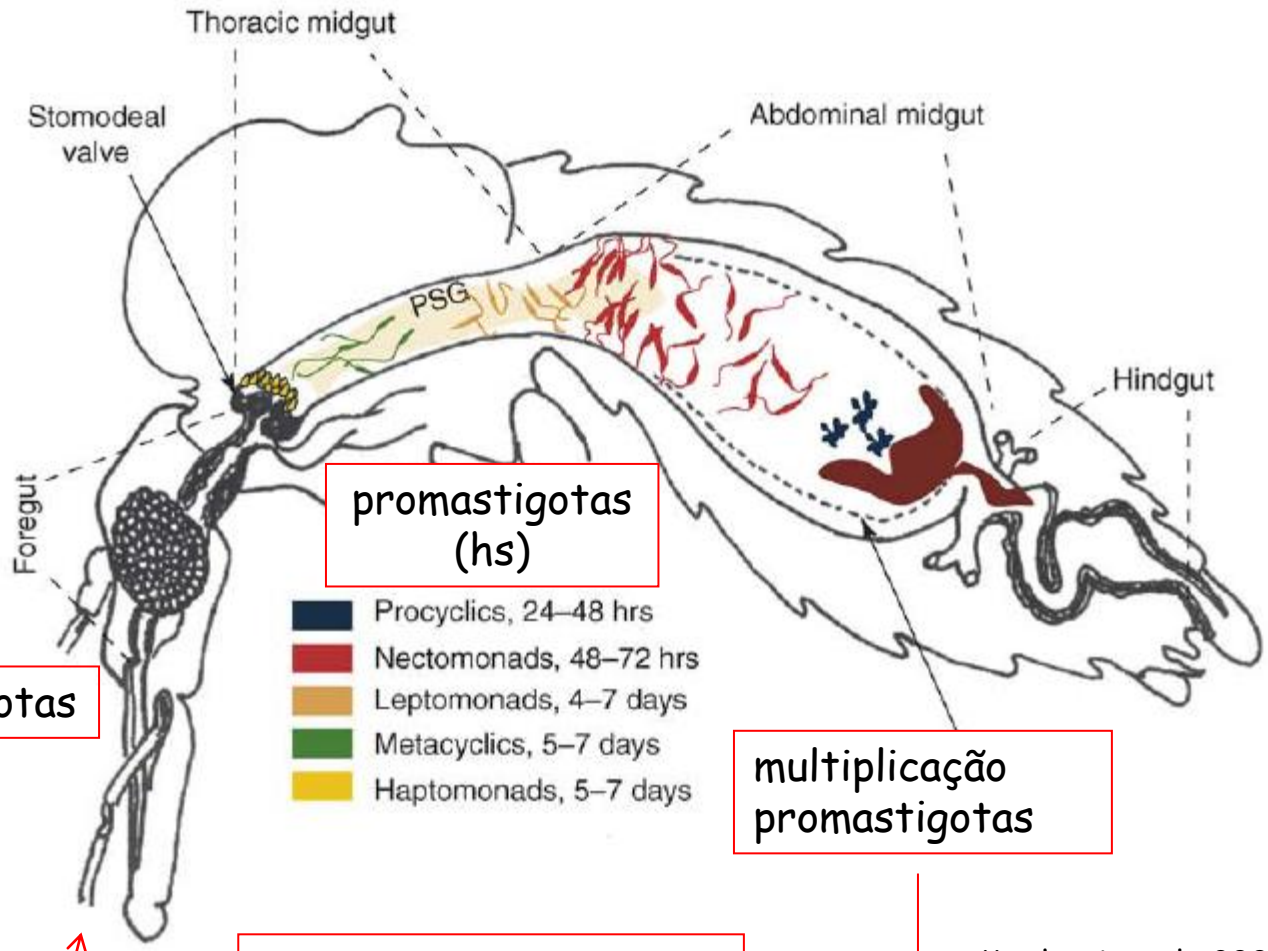
Habitat silvestre/peri-domiciar

lixos e escombros, rachaduras externas de habitações, solo úmido em matas ou florestas, cascas de árvores, tocas de roedores silvestres

Ciclo da *Leishmania*



Desenvolvimento no Vetor



promastigotas (hs)

amastigotas

multiplicação promastigotas

metacíclicos (1 semana)

Macrófagos infectados

Kamhawi et al., 2006

Desenvolvimento no vetor: aproximadamente 10 dias

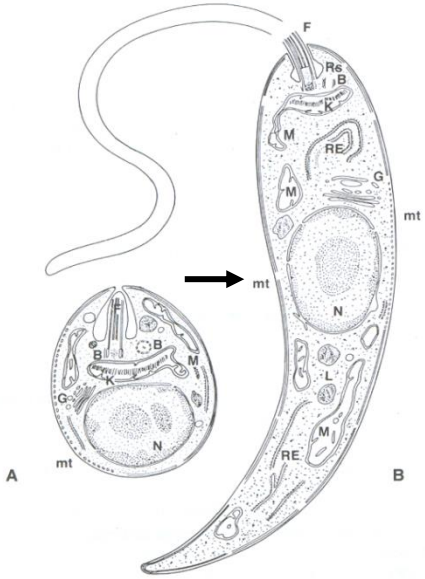
Transformação amastigota- promastigota

Alterações do microambiente: do fagolissomo (ácido e rico em nutrientes) ao intestino do inseto

Cresce 5 vezes

Desenvolve um flagelo (1 a 2 vezes seu tamanho)

Passa a expressar LPG (lipofosfoglicano)
Aumenta gp63



Sobrevivência no vetor

Metaciclogênese: vários estágios, mudanças no LPG

Conclusão da metaciclogênese: saliva e sangue,

migração para região anterior

Inóculo: **regurgitação** do aglomerado de metacíclicos devido ao "promastigote secretory gel (PSG) plug"

Saliva do vetor:

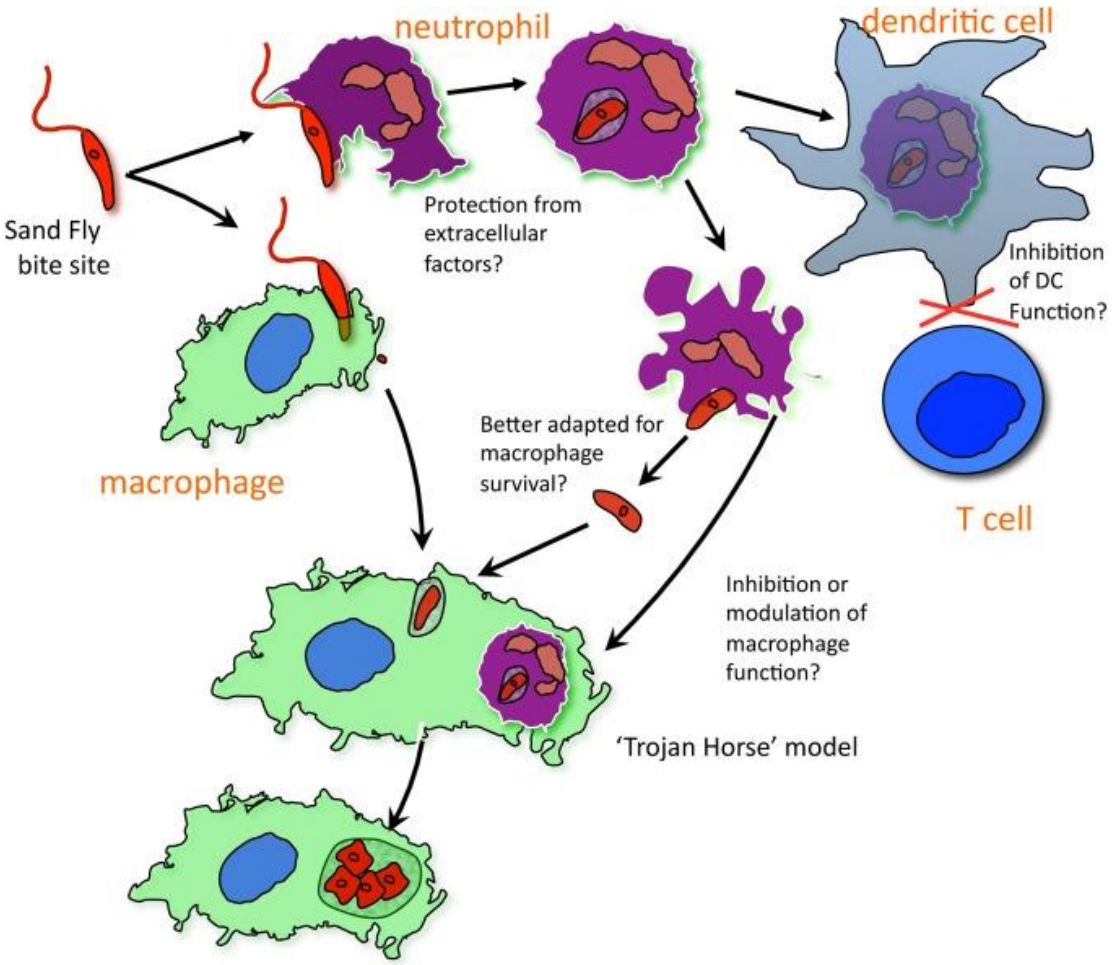
a. induz vasodilatação,

b. previne a coagulação,

c. tem propriedades imunomoduladoras e anti-inflamatórias

http://www.youtube.com/watch?v=kRRlapcxDFs

Papel do neutrófilo na infecção



Ribeiro-Gomes and Sacks, Front Cell Infect Microbiol. 2012;2:59.

In Vivo Imaging Reveals an Essential Role for Neutrophils in Leishmaniasis Transmitted by Sand Flies

Nathan C. Peters,[1*] Jackson G. Egen,[2*†] Nagila Secundino,[1] Alain Debrabant,[3] Nicola Kimblin,[1] Shaden Kamhawi,[1] Phillip Lawyer,[1] Michael P. Fay,[4] Ronald N. Germain,[2‡] David Sacks[1†‡]

Science, ago 2008

Neutrófilos (verdes) migram dos vasos (azuis) para local do inóculo de *L. major* (vermelha)

(filmagem iniciada 30min após infecção, acelerada 600x)

Neutrófilos e *Leishmania*: Cavalo de Tróia?

Cavalo= presente de Odisseu para selar a paz

gregos

Troia, 1200-1300 a.C. (10 anos)

"chegando em casa..." - o macrófago! Mecanismos de evasão

Promastigota metacíclico:

Ativação do complemento

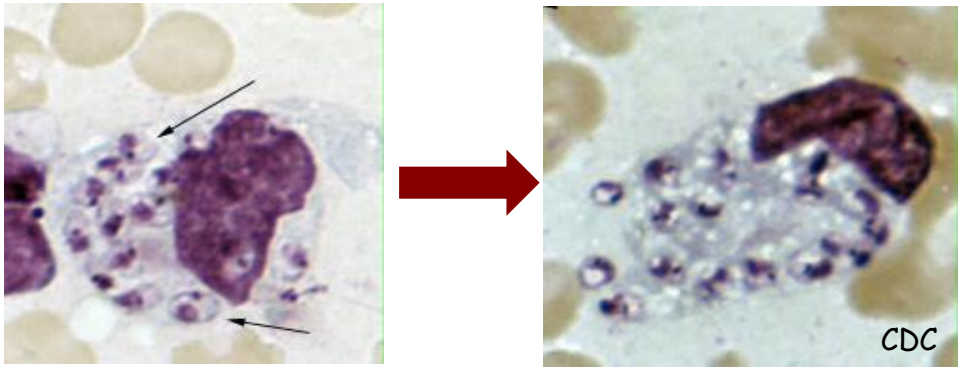
Interação com receptores do macrófago

Fagocitose facilitada

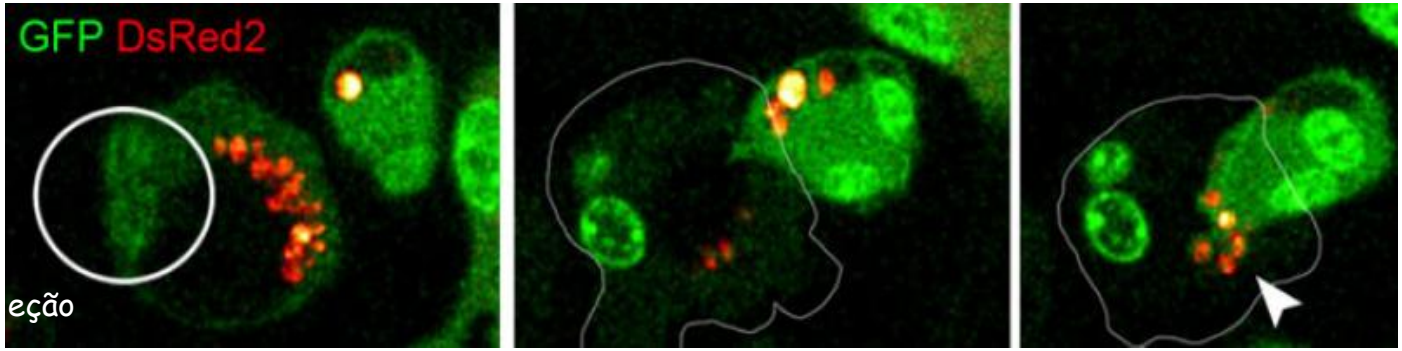
Inibição do burst respiratório/ oxidativo

Saída de amastigotas dos macrófagos

Rompimento do macrófago



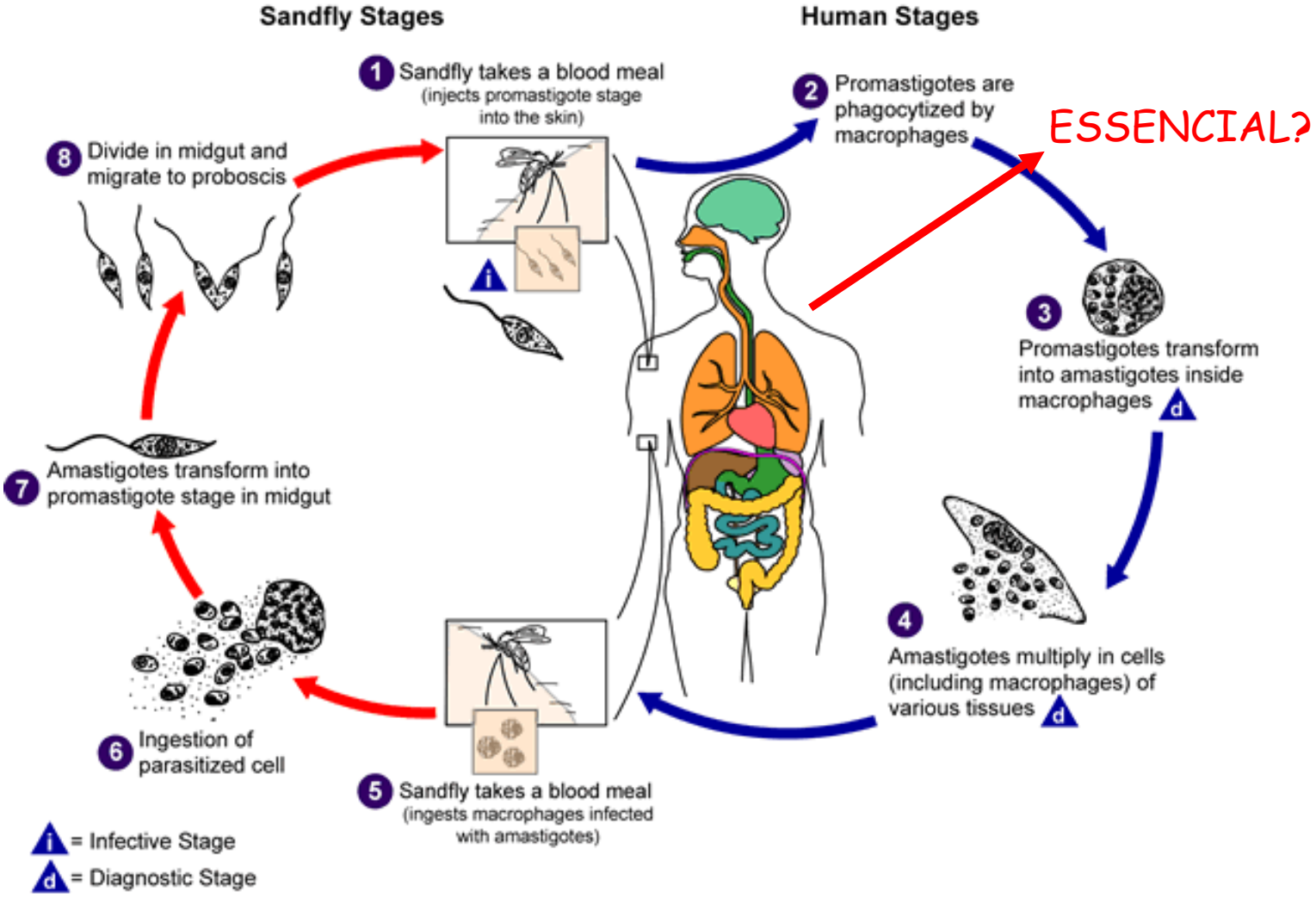
Transferência entre macrófagos



Real et al., 2014

http://www.youtube.com/watch?v=AUUYsYNl-AY

Ciclo da *Leishmania*



Reservatórios na Leishmaniose Tegumentar

Dependem do microambiente do vetor e da espécie de *Leishmania*

Tegumentares: roedores silvestres, cães, equinos

No Brasil:

L. braziliensis: cotias, pacas, roedores silvestres, ratos, cães
L. amazonensis: marsupiais, pequenos roedores

Reservatórios na Leishmaniose Visceral

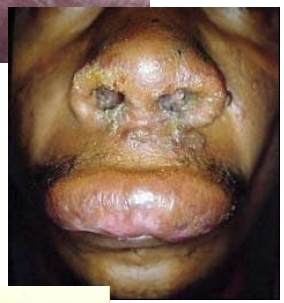
Visceral: canídeos (doença variável, 50% assintomáticos)
Muitos amastigotas em macrófagos da pele: importante para transmissão

No Brasil:

L.chagasi: cães, raposas e provavelmente marsupiais

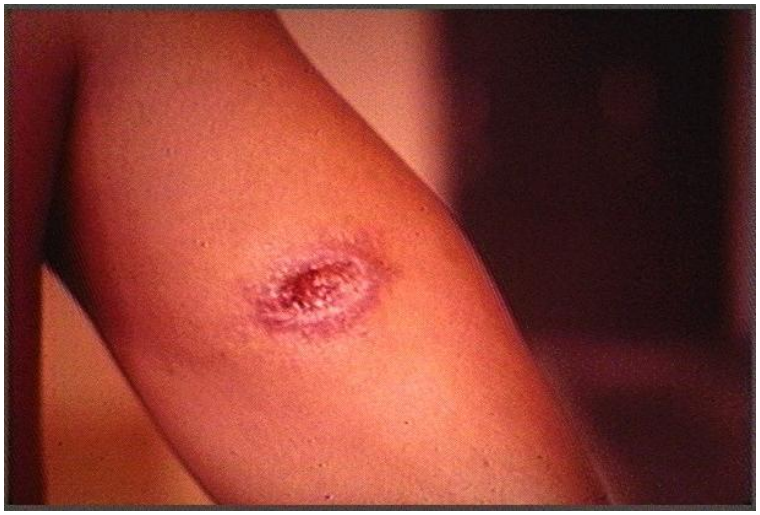
Leishmanioses-Síndromes clínicas

- **Leishmaniose tegumentar**
  - Localizada — *L. braziliensis*, *L. amazonensis*, *L. major*, etc.
  - Mucocutânea — *L. braziliensis*
  - Disseminada — *L. braziliensis*
  - Difusa — *L. amazonensis*
- **Leishmaniose visceral**
  - *L. donovani*
  - *L. i. chagasi*



Quadro clínico- forma cutânea localizada

L. (V.) braziliensis
L. (L.) amazonensis
L. (V.) guyanensis



2-8 sem após infecção

Lesões únicas ou limitadas, úlceras com bordas elevadas

Quadro clínico- forma cutânea difusa

L. (L.) amazonensis

- Anergia da resposta imune- paciente não responde à *Leishmania* (RID -)

- Múltiplas lesões nodulares disseminadas

-Difícil tratamento

- Rara (5% dos pacientes com *L. amazonensis*)

Quadro clínico - forma disseminada

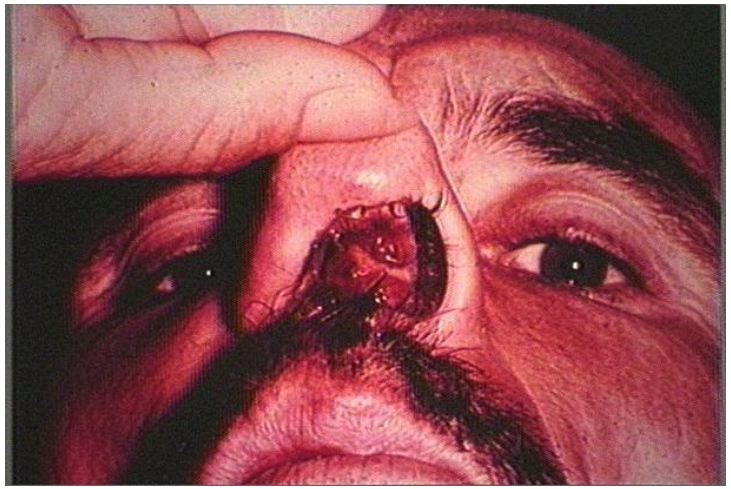
L. (V.) braziliensis

Disseminated Cutaneous Leishmaniasis: A Patient with 749 Lesions

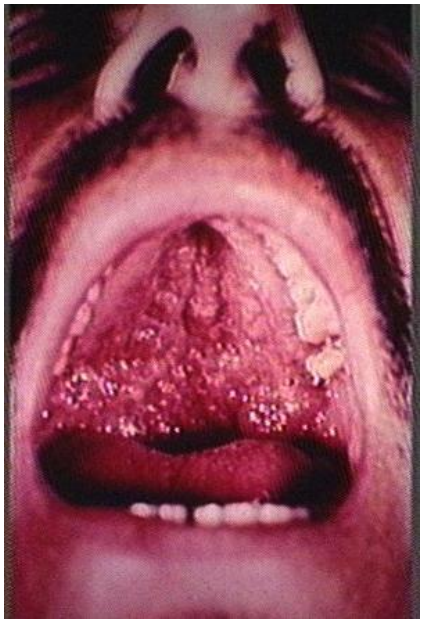
Souza et al., Braz J Infect Dis 10 (3); 2006

Quadro clínico- forma mucosa

L. (V.) braziliensis



- Doença crônica
- Morbidade e estigma social
- Tratamento prolongado e tóxico.



Quadro clínico-forma visceral (calazar)

L. (L.) chagasi

No Brasil crianças são grupo de risco

Infecção sistema FM baço, fígado, linfonodos, medula óssea

Febre irregular, perda de peso, aumento de baço e fígado e anemia. Pele cinza (Índia)= calazar (febre negra)

- Período de incubação: 2 a 6 meses
- Assintomáticos em proporções variáveis

Importância da Resposta imune

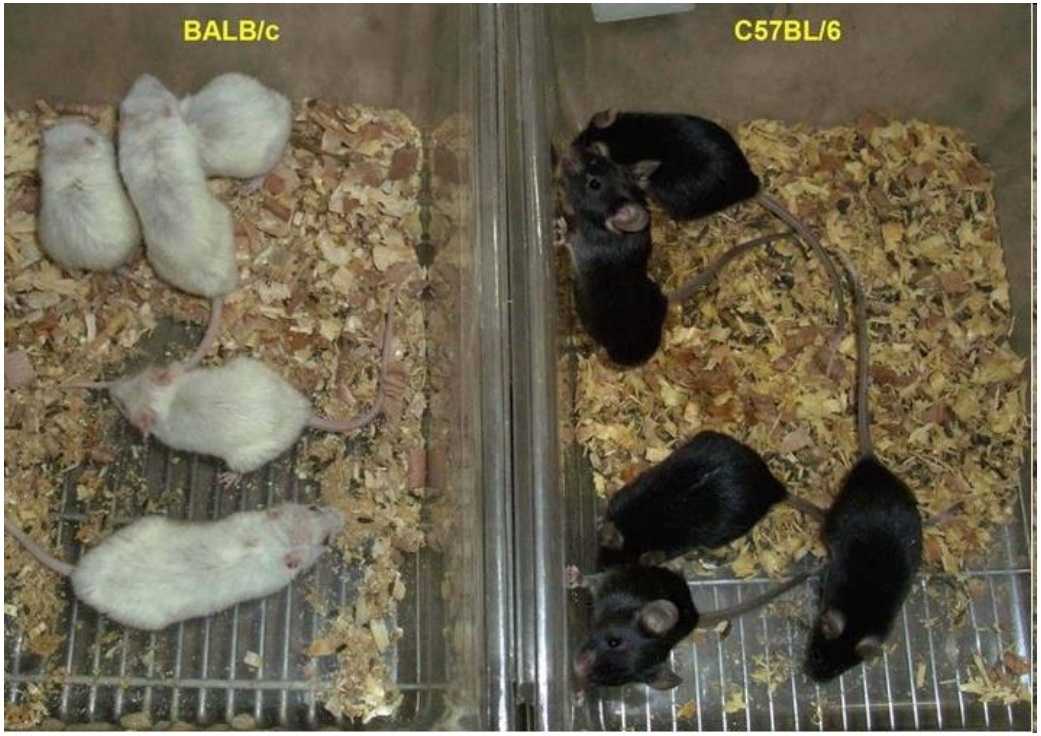
RECIPROCAL EXPRESSION OF INTERFERON γ OR INTERLEUKIN 4 DURING THE RESOLUTION OR PROGRESSION OF MURINE LEISHMANIASIS

Evidence for Expansion of Distinct Helper T Cell Subsets

By FREDERICK P. HEINZEL,* MICHAEL D. SADICK,* BETTIE J. HOLADAY,* ROBERT L. COFFMAN,‡ AND RICHARD M. LOCKSLEY*

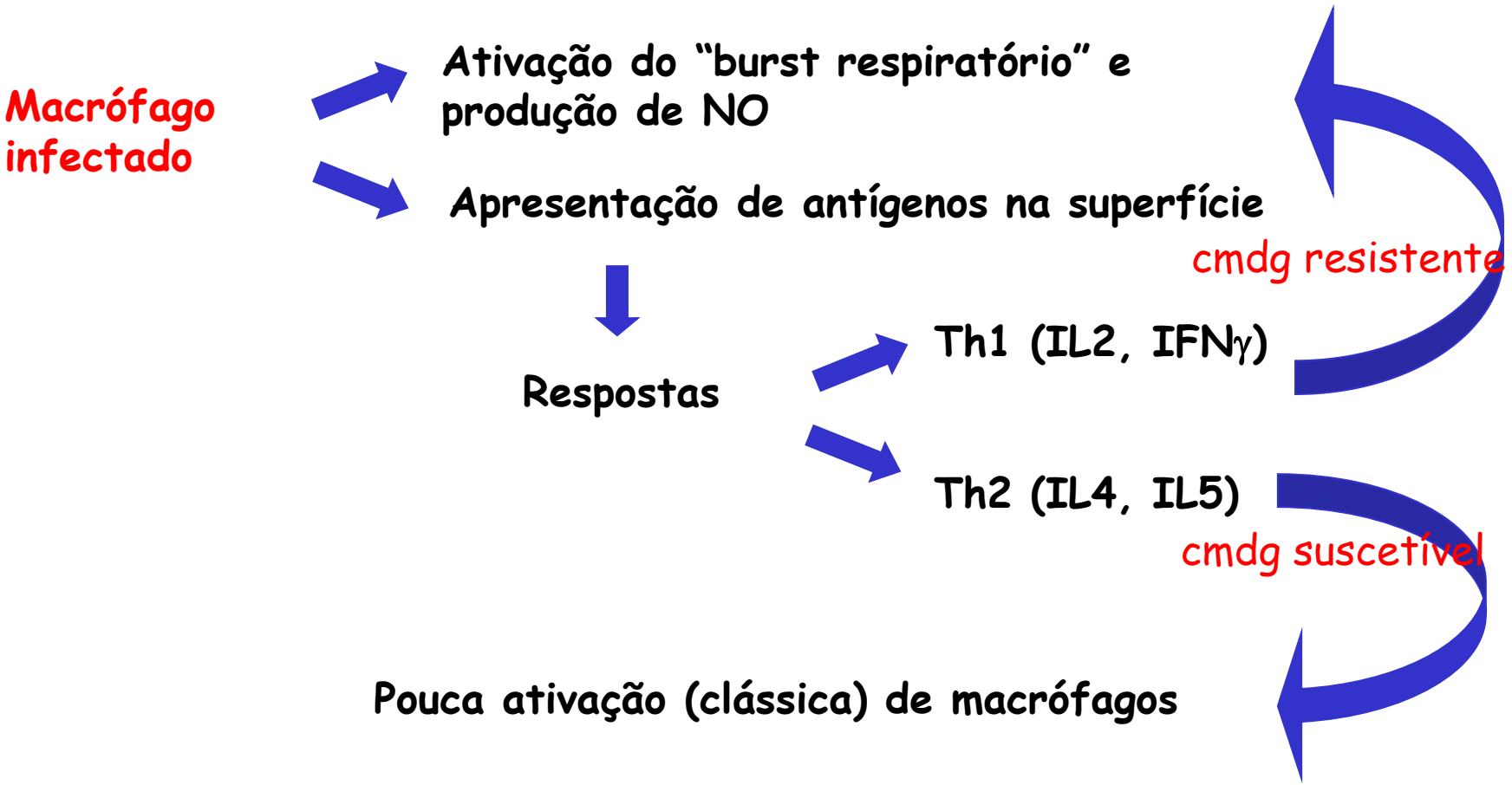
J. Exp. Med. © The Rockefeller University Press
Volume 169 January 1989 59–72

Leishmania major

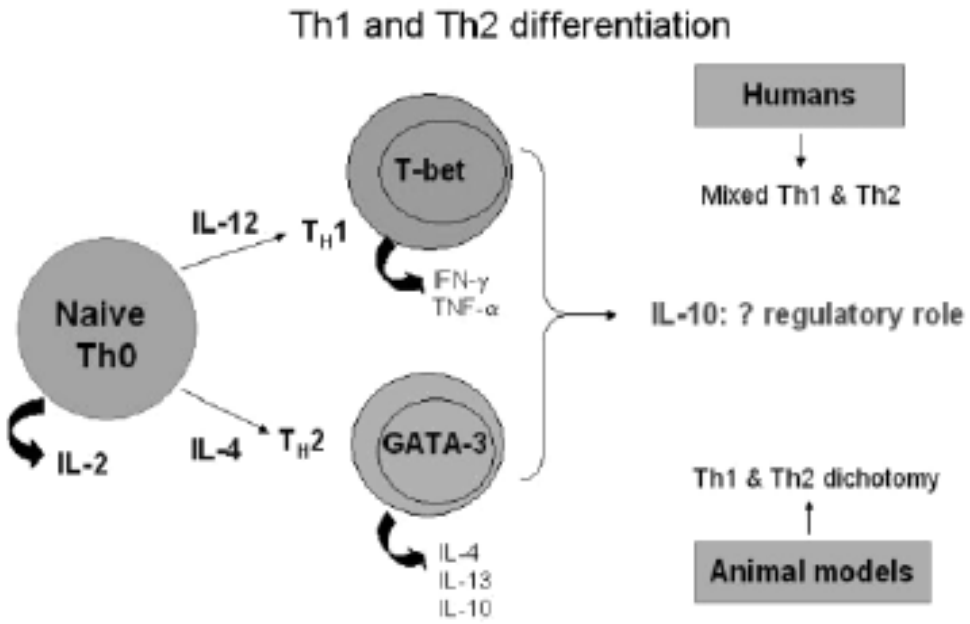


Importância da Resposta imune

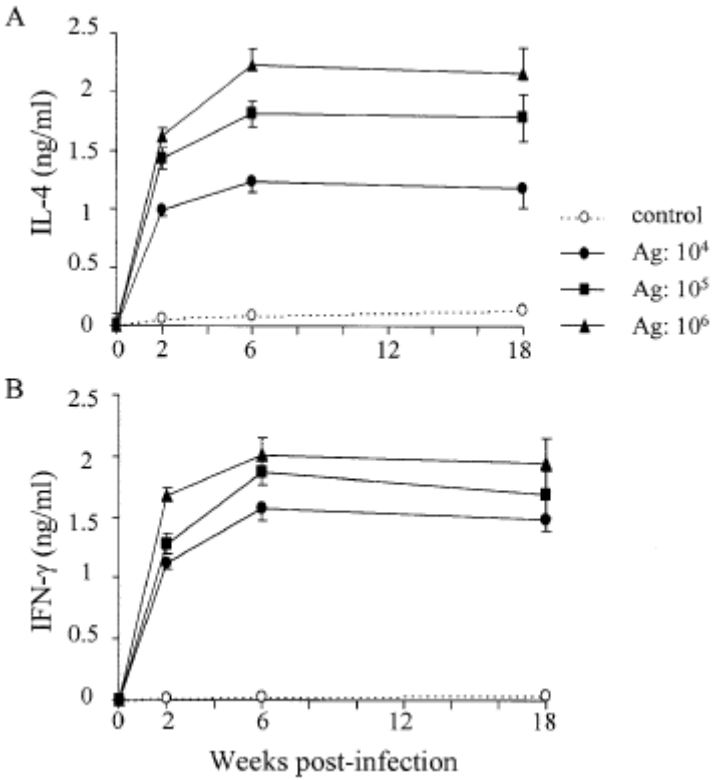
Leishmania major



Homem ≠ camundongo, *L. amazonensis* ≠ *L.major*



L. amazonensis em
BALB/C: mixed Th1/Th2 response



Ji et al, 2002

Diagnóstico

1- Parasitológico

LT- raspado/biópsia da lesão
LV- aspirado de medula óssea/baço/fígado

Pesquisa direta: imprint, esfregaço, histopatológico
Cultura

Diagnóstico

2- Imunodiagnóstico: pesquisa de anticorpos específicos contra o parasita

- Teste imunocromatográfico (teste rápido IT-Leish®)

- Imunofluorescência, ELISA

- Imunohistoquímica

- Reação intradérmica= Resposta celular após 48h (hipersensibilidade tardia)Teste de Montenegro (1926)

Teste imunocromatográfico (teste rápido IT-Leish®)
(baseado no antígeno k39)

sensibilidade 93%
especificidade 97%

Tratamento

1. Antimoniais pentavalentes (Gaspar Vianna, 1913)
-Intravenosos ou intramusculares, tóxicos, hospitalização
-20 dias (cutânea) ou 28 dias (mucosa ou visceral)

2. Anfotericina B:
- Intravenosa, tóxica, hospitalização
• Liposomal (AmBisome®): melhor mas muito cara

3. Pentamidina:
-Intravenosa, tóxica

Tratamentos disponíveis:
Difícil administração, longos, tóxicos, caros, resistência

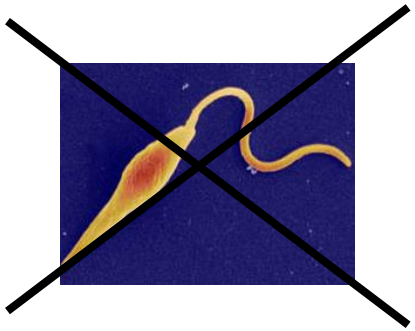
≠

Tratamento ideal:
oral, seguro, eficaz, baixo custo, curta duração (~10 dias)

Miltefosina: primeira droga oral
Teratogênica (proibida para gestantes). Desde 2002
Bom na Índia, variável nas Américas. Resistência
Em análise no Brasil

Tratamento local com drogas ou aquecimento para espécies mais "brandas" (velho mundo)

Controle/ Profilaxia



1-Vetor? Doméstico x Silvestre

2-Reservatórios animais? Doméstico x Silvestre
Cães- Problemas: tratamento pouco eficaz, dificuldade de diagnóstico, reinfecção e sacrifício
Animais silvestres- como controlar?

3-Mudança de hábitos/habitações, reduzir desmatamento

Vacinas

Imunidade protetora após infecção - "leishmanização"
Vacinação com parasitas de lesão/mortos/atenuados confere considerável proteção

Vacinas de combinações de proteinas, DNA, etc

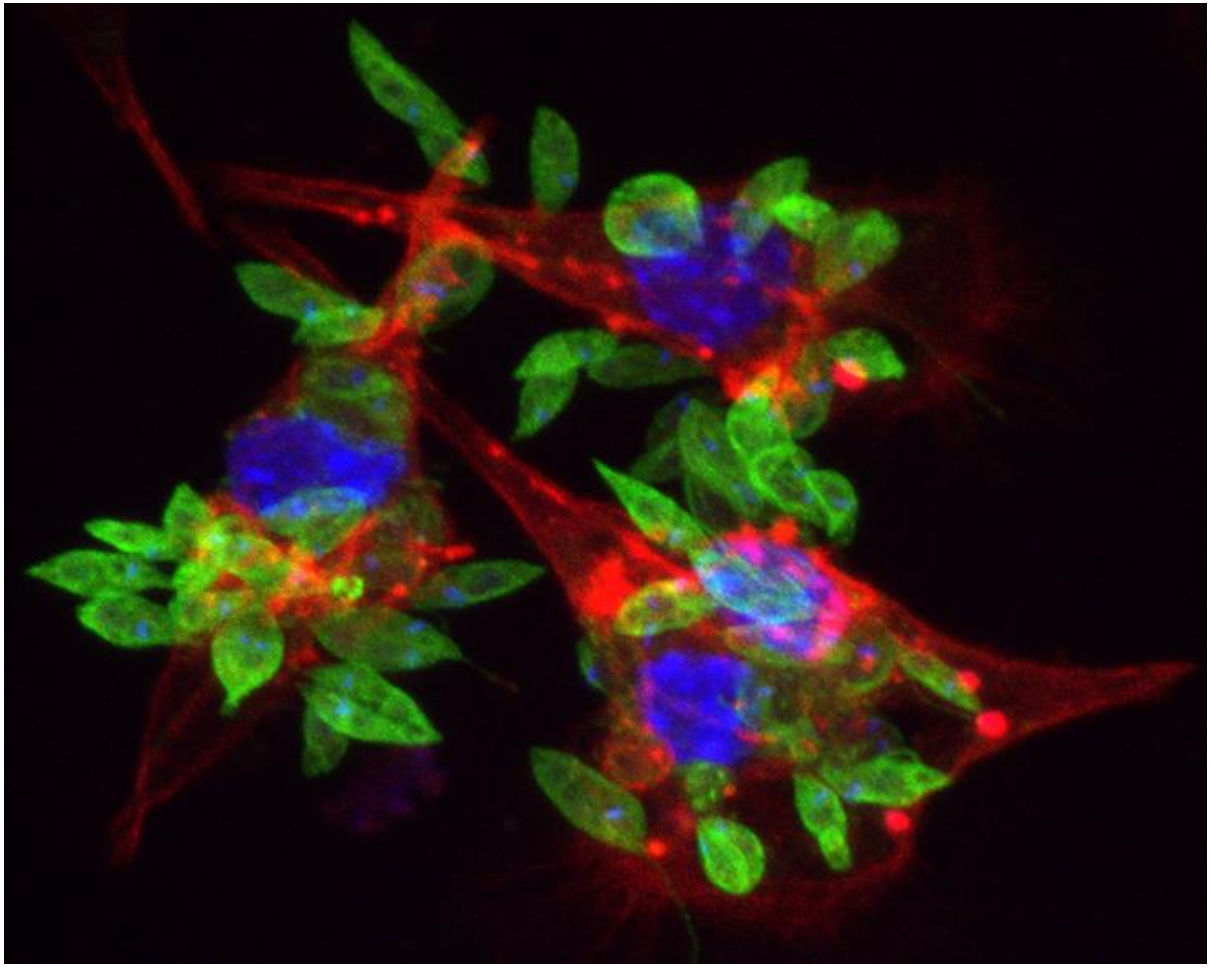
Moléculas da saliva do vetor

Resultados pouco animadores

Vacinas para cães

Particular:
Leish-Tec® = Vacina Recombinante contra Leishmaniose Visceral Canina
Animais soronegativos, preventiva
No mercado desde 2007, única disponível no momento, eficácia contestável

Associar com controle por uso de coleiras impregnadas com deltametrina (duração 4-6 meses) e hábitos preventivos

https://revistapesquisa.fapesp.br/um-parasita-chega-as-metropoles/

Interação *Leishmania*- hospedeiro:
muitas lacunas no conhecimento!