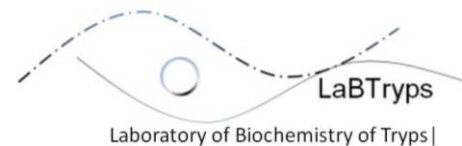


Aspectos contemporâneos da parasitologia

BMP0104

Leishmania spp. e leishmanioses



Ariel Mariano Silber
Depto de Parasitologia
ICB-USP



@Ariel_Lab

Leishmania spp.

Dois sub-gêneros: *Viannia* e *Leishmania*

Leishmaniose cutânea – *L. V. braziliensis*,
L. L. amazonensis,
L. V. guyanensis
L.L.major

Leishmaniose difusa – *L. L. amazonensis*

Leishmaniose mucocutânea – *L. V. braziliensis*

Leishmaniose visceral – *L. L. chagasi*, *L. L. donovani*



Novo Mundo Velho Mundo

Leishmanioses: formas clínicas

Leishmaniose cutânea localizada

Leishmaniose cutâneo difusa

Leishmaniose cutâneo-mucosa

Leishmaniose visceral

Leishmaniose tegumentar

Quadro clínico - forma cutânea localizada

L. braziliensis

L. guyanensis

L. amazonensis

L. mexicana



Evolução clássica:

2-8 sem após infecção

1. Nódulo/Pápula no local infecção

2. Crosta central

3. Úlcera clássica



Leishmanioses: formas clínicas

Leishmaniose cutânea localizada

Leishmaniose cutâneo difusa

Leishmaniose cutâneo-mucosa

Leishmaniose visceral

Leishmaniose tegumentar

Quadro clínico - forma cutânea difusa

L. amazonensis

- Anergia da resposta imune
- Disseminação da doença (lesões nodulares) e difícil tratamento



Leishmanioses: formas clínicas

Leishmaniose cutânea localizada

Leishmaniose cutâneo difusa

Leishmaniose cutâneo-mucosa

Leishmaniose visceral

Leishmaniose tegumentar

Quadro clínico - forma cutânea mucosa

L. brasiliensis

- Evolução pode ser concomitante a uma manifestação de LC ou até vários anos após tratamento de LC

- Ulceração e erosão que destroem progressivamente tecidos moles e cartilagens das cavidades oronasal e faríngea.



Leishmanioses: formas clínicas

Leishmaniose cutânea localizada

Leishmaniose cutâneo difusa

Leishmaniose cutâneo-mucosa

Leishmaniose tegumentar

Leishmaniose visceral

Quadro clínico - forma visceral ou calazar

L. chagasi

No Brasil, crianças são grupo de risco.

Febre irregular, perda de peso acentuada, aumento de baço e fígado, e anemia.



Forma visceral - reservatórios

L. chagasi

- Área urbana:
canídeo é o reservatório principal (infecção é mais prevalente do que no homem)
- Eventualmente gatos, equinos

- Ambientes silvestres: raposa e marsupiais foram encontrados infectados.



Figura 22 - Cão com emagrecimento, ceratoconjuntivite, lesões de face e orelha.



Figura 6- Raposa: reservatório silvestre da *Leishmania chagasi*



Figura 7- Marsupial didelfídeo: reservatório silvestre da *Leishmania chagasi*

Espécies e distribuição geográfica

~20 espécies patogênicas para o homem

Tabla 1. Especies y subespecies de *Leishmania*

Especie	Localidad
SUBGÉNERO LEISHMANIA (ROSS, 1903)	
Complejo <i>L. Donovanii</i>	
<i>L. donovani</i> (Laveran y Mesnil, 1903)	India, China, Bangladesh
<i>L. archibaldi</i> (Castellani y Chalmers, 1919)	Sudán, Etiopía
Complejo <i>L. Infantum</i>	
<i>L. infantum</i> (Nicolle, 1908)	Centronorte de Asia, noroeste de China, Oriente Medio, noroeste de África
<i>L. chagasi</i> (Cunha y Chagas, 1937)	América central y del sur
Complejo <i>L. Tropica</i>	
<i>L. tropica</i> (Wright, 1903)	Áreas urbanas de Próximo Oriente e India
<i>L. killicki</i> (Rioux, Lanotte y Prating, 1986)	Túnez
Complejo <i>L. Major</i>	
<i>L. major</i>	África, Oriente Medio, norte de Asia
<i>L. arabica</i> (Peters, Elbihari, Evans, 1986)	Arabia Saudí
<i>L. aethiopica</i> (Bray, Ashford, Bray, 1973)	Etiopía, Kenya
<i>L. gerbilli</i> (Wang, Qu, Guan, 1973)	China, Mongolia
Complejo <i>L. Mexicana</i>	
<i>L. mexicana</i> (Biagi, 1953)	México, Belice, Guatemala, sur de Estados Unidos,
<i>L. amazonensis</i> (Lainson and Shaw, 1972)	Bajo Amazonas y Brasil
<i>L. venezuelensis</i> (Bonfante-Garrido, 1980)	Venezuela
SUBGÉNERO VIANNIA (LAINSON AND SHAW, 1977)	
Complejo <i>Leishmania braziliensis</i>	
<i>L. braziliensis</i> (Viannia, 1911)	Brasil
<i>L. peruviana</i> (Vélez, 1913)	Oeste de los Andes
Complejo <i>L. Guyanensis</i>	
<i>L. guyanensis</i> (Floch, 1954)	Guayana Francesa, Guyana y Surinam
<i>L. panamensis</i> (Lainson and Shaw, 1972)	Panamá, Costa Rica

Espécies e distribuição geográfica

Principais espécies patogênicas para o homem (~20 espécies)

	Subgenus	Clinical form	Main clinical features	Natural progression	Risk groups	Main reservoir	High-burden countries or regions	Estimated annual worldwide incidence
<i>Leishmania donovani</i> *	<i>Leishmania</i>	VL and PKDL	Persistent fever, splenomegaly, weight loss, and anaemia in VL; multiple painless macular, papular, or nodular lesions in PKDL	VL is fatal within 2 years; PKDL lesions self-heal in up to 85% of cases in Africa but rarely in Asia	Predominantly adolescents and young adults for VL; young children in Sudan and no clearly established risk factors for PKDL	Humans	India, Bangladesh, Ethiopia, Sudan, and South Sudan	50 000–90 000 VL cases; unknown number of PKDL cases
<i>Leishmania tropica</i> *	<i>Leishmania</i>	CL, LR, and rarely VL	Ulcerating dry lesions, painless, and frequently multiple	CL lesions often self-heal within 1 year	No well defined risk groups	Humans but zoonotic foci exist	Eastern Mediterranean, the Middle East, and northeastern and southern Africa	200 000–400 000 CL
<i>Leishmania aethiopia</i> *	<i>Leishmania</i>	CL, DCL, DsCL, and oronasal CL	Localised cutaneous nodular lesions; occasionally oronasal; rarely ulcerates	Self-healing, except for DCL, within 2–5 years	Limited evidence; adolescents	Hyraxes	Ethiopia and Kenya	20 000–40 000 CL
<i>Leishmania major</i> *	<i>Leishmania</i>	CL	Rapid necrosis, multiple wet sores, and severe inflammation	Self-healing in >50% of cases within 2–8 months; multiple lesions slow to heal, and severe scarring	No well defined risk groups	Rodents	Iran, Saudi Arabia, north Africa, the Middle East, central Asia, and west Africa	230 000–430 000 CL
<i>Leishmania infantum</i> *	<i>Leishmania</i>	VL and CL	Persistent fever and splenomegaly in VL; typically single nodules and minimal inflammation in CL	VL is fatal within 2 years; CL lesions self-heal within 1 year and confers individual immunity	Children under 5 years and immunocompromised adults for VL; older children and young adults for CL	Dogs, hares, and humans	China, southern Europe, Brazil, and South America for VL and CL; Central America for CL	6200–12 000 cases of Old World VL and 4500–6800 cases of New World VL; unknown number of CL cases
<i>Leishmania mexicana</i> †	<i>Leishmania</i>	CL, DCL, and DsCL	Ulcerating lesions, single or multiple	Often self-healing within 3–4 months	No well defined risk groups	Rodents and marsupials	South America	Limited number of cases, included in the 187 200–300 000 total cases of New World CL‡
<i>Leishmania amazonensis</i> †	<i>Leishmania</i>	CL, DCL, and DsCL	Ulcerating lesions, single or multiple	Not well described	No well defined risk groups	Possums and rodents	South America	Limited number of cases, included in the 187 200–300 000 total cases of New World CL‡
<i>Leishmania braziliensis</i> †	<i>Viannia</i>	CL, MCL, DCL, and LR	Ulcerating lesions can progress to mucocutaneous form; local lymph nodes are palpable before and early on in the onset of the lesions	Might self-heal within 6 months; 2.5% of cases progress to MCL	No well defined risk groups	Dogs, humans, rodents, and horses	South America	Majority of the 187 200–300 000 total cases of New World CL‡
<i>Leishmania guyanensis</i> †	<i>Viannia</i>	CL, DsCL, and MCL	Ulcerating lesions, single or multiple that can progress to mucocutaneous form; palpable lymph nodes.	Might self-heal within 6 months	No well defined risk groups	Possums, sloths, and anteaters	South America	Limited number of cases, included in the 187 200–300 000 total cases of New World CL‡

VL=visceral leishmaniasis. PKDL=post-kala-azar dermal leishmaniasis. CL=cutaneous leishmaniasis. LR=leishmaniasis recidivans. DCL=diffuse cutaneous leishmaniasis. DsCL=disseminated cutaneous leishmaniasis. MCL=mucocutaneous leishmaniasis. * Old World leishmaniasis. † New World leishmaniasis. ‡ Estimates are of all New World leishmaniases, with *Leishmania braziliensis* comprising the vast majority of these cases.

Table 1: Clinical and epidemiological characteristics of the main *Leishmania* species

Leishmaniasis

Sakib Burza, Simon L Croft, Marleen Boelaert

www.thelancet.com Vol 392 September 15, 2018

Leishmanioses, leishmanias e seus vetores nas Américas

Subgênero	Espécie	Distribuição geográfica	Apresentação clínica	Vetores
<i>Viannia</i>	<i>L. (V.) braziliensis</i>	América do Sul e Central	LT (LMC)	<i>Lu. whitmani</i> , <i>Lu. intermedia</i> , <i>Lu. wellcomei</i>
	<i>L. (V.) guyanensis</i>	Norte da América do Sul	LT	<i>Lu. umbratilis</i>
	<i>L. (V.) naiffii</i>	Amazônia legal	LT	<i>Psychodopygus davisii</i> , <i>Lu. whitmani</i>
	<i>L. (V.) lainsoni</i>	Amazônia legal	LT	<i>Lu. ubiquitalis</i>
	<i>L. (V.) shawi</i>	Amazônia legal	LT	<i>Lu. whitmani</i>
<i>Leishmania</i>	<i>L. (L.) amazonensis</i>	América do Sul	LT, (LCD), LV (?)	<i>Lu. flaviscutellata</i>
	<i>L.(L.) mexicana</i>	Norte da América do Sul	LT	<i>Lu. olmeca</i>
	<i>L. (L.) infantum chagasi</i>	América do Sul	LV	<i>Lu. longipalpis</i>

Situação epidemiológica

- Prevalência: >12 milhões de casos
- População sob risco: 350 milhões
- Distribuição: 88 países em 4 continentes
- Mortes: >57.000/ ano
- Coinfecção Leishmania/HIV

Paisagem & Epidemiologia

- Doença de transmissão exclusivamente vetorial
- Areas de transmissão relacionada à proximidade com os nichos onde circula o vetor (áreas de desmatamento, ou próximas a florestas)
- Recentemente, tem se expandido para áreas urbanas, especialmente a doença visceral, ou calazar.



Paisagem & Epidemiologia

- Doença de transmissão exclusivamente vetorial
- Areas de transmissão relacionada à proximidade com os nichos onde circula o vetor (áreas de desmatamento, ou próximas a florestas)
- Recentemente, tem se expandido para áreas urbanas, especialmente a doença visceral, ou calazar.



Leishmaniose cutânea e mucocutânea

90% dos casos de leishmaniose cutânea ocorrem no Afeganistão, Brasil, Iran, Peru, Arábia Saudita e Síria.

90% dos casos de leishmaniose mucocutânea ocorrem na Bolívia, Brasil e Peru.

THE LANCET
Infectious Diseases

Global burden of cutaneous leishmaniasis: a cross-sectional analysis from the Global Burden of Disease Study 2013

Dr Chante Karimkhani, MD · Valentine Wanga, MSc · Luc E Coffeng, MD · Paria Naghavi, BEdSc · Robert P Dellavalle, MD · Mohsen Naghavi, MD

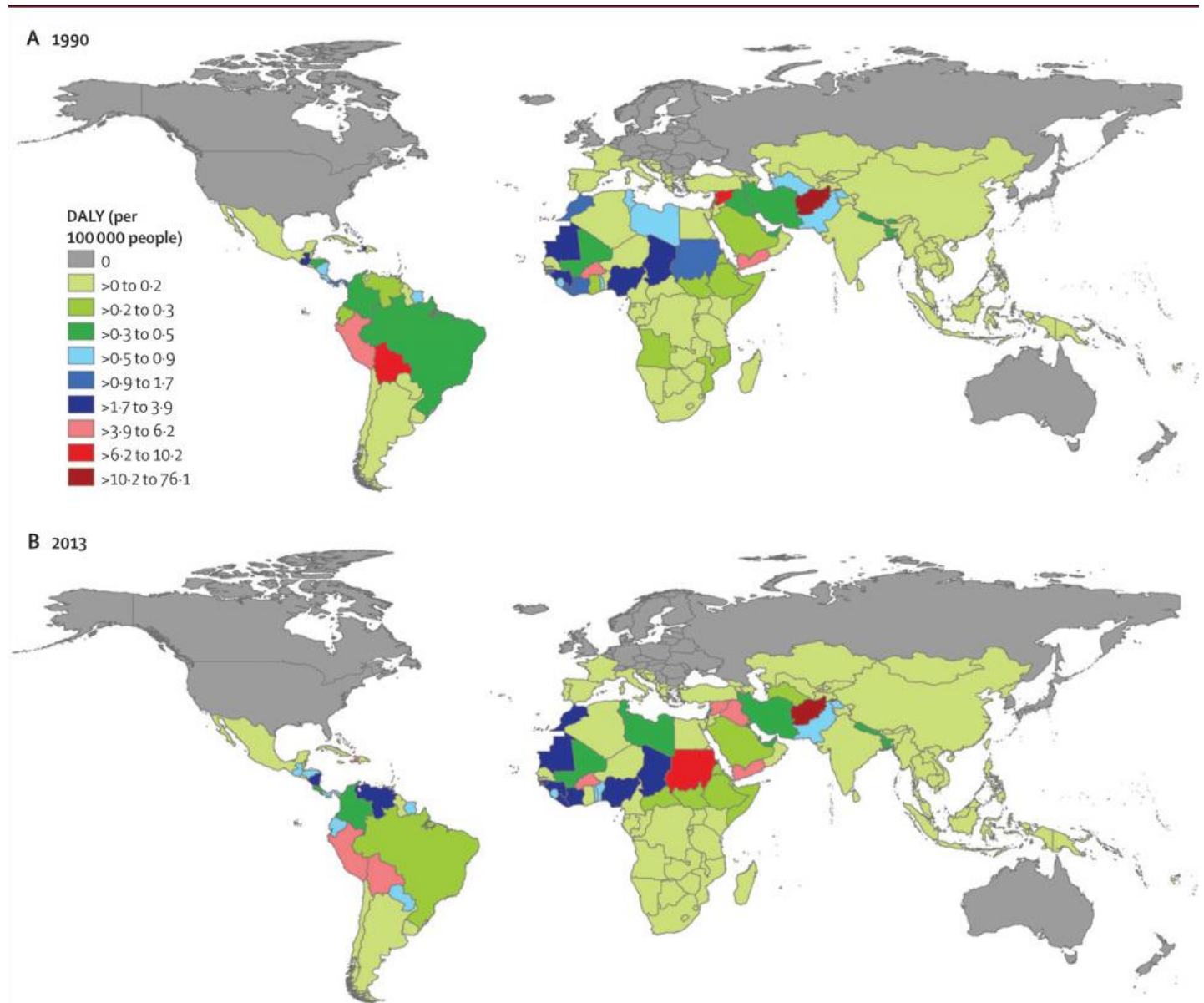
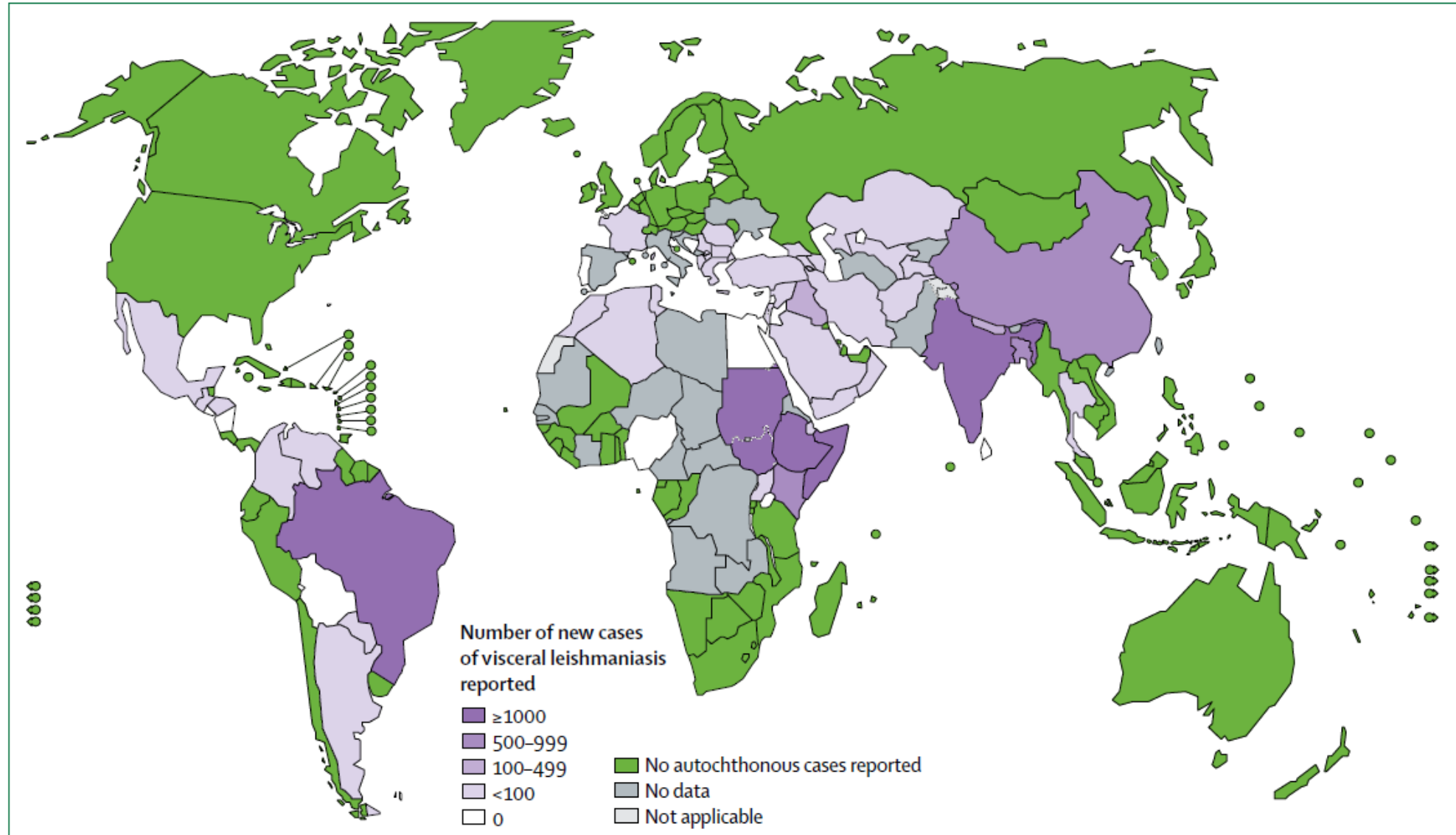


Figure 1 Global cutaneous leishmaniasis age-standardised DALYs in 1990 (A) and 2013 (B)

Leishmaniose visceral

90% dos casos de leishmaniose visceral em Bangladesh, Brasil, Índia, Nepal e Sudão.



Leishmaniasis

Sakib Burza, Simon L. Croft, Marleen Boelaert

www.thelancet.com Vol 392 September 15, 2018

Figure 2: Status of endemicity of visceral leishmaniasis worldwide in 2016

Reproduced from WHO,⁶ by permission of the World Health Organization.

Vetores: os flebotomíneos

Ordem: Diptera

Família: *Psycodidae*

Subfamília: *Phlebotominae*

Ordem: *Phlebotominae*

Gênero: *Phlebotomus* e *Lutzomya*

Aprox. 30 espécies são transmissoras

Não é mosquito!
(não pertence a família *Culicidae*)



Insetos pequenos

Se reproduzem e vivem em solo úmido em áreas de matas ou florestas.

Fêmea: se alimenta de sangue de animais silvestres e/ou domésticos ou homens → **só a fêmea transmite a infecção**

Vetores: os flebotomíneos

Habitat silvestres/peri-domiciares:

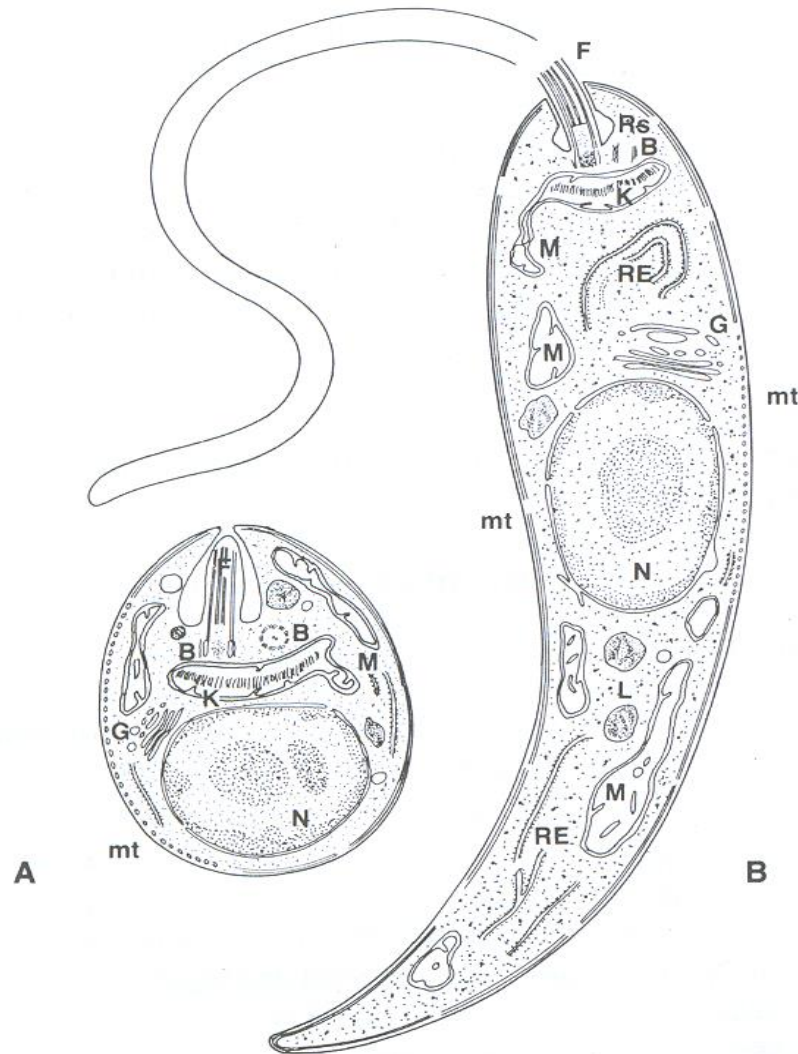
lixos e escombros, rachaduras externas de habitações, solo úmido em matas ou florestas, cascas de árvores, tocas de roedores silvestres.

Geralmente o homem é hospedeiro accidental (se infecta quando “invade” nichos nos quais a infecção circula entre animais).



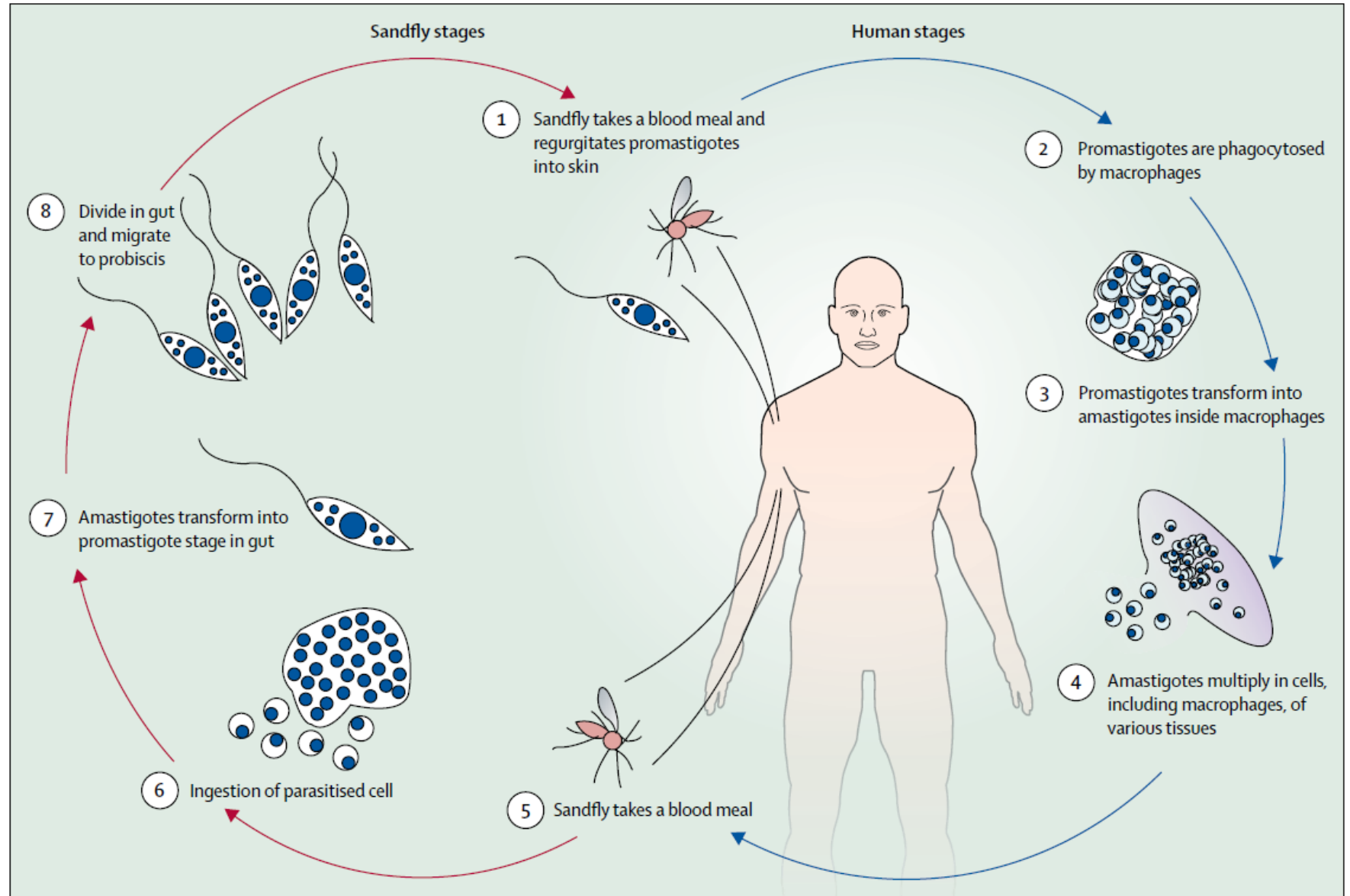
Leishmania spp.

Amastigota
Intracelular
(anaeróbio)
(2-6um)



Promastigota
Vetor, cultura
(aeróbio)
(14-20um)

Ciclo de vida



Leishmaniasis

Sakib Burza, Simon L Croft, Marleen Boelaert

www.thelancet.com Vol 392 September 15, 2018

Amastigota

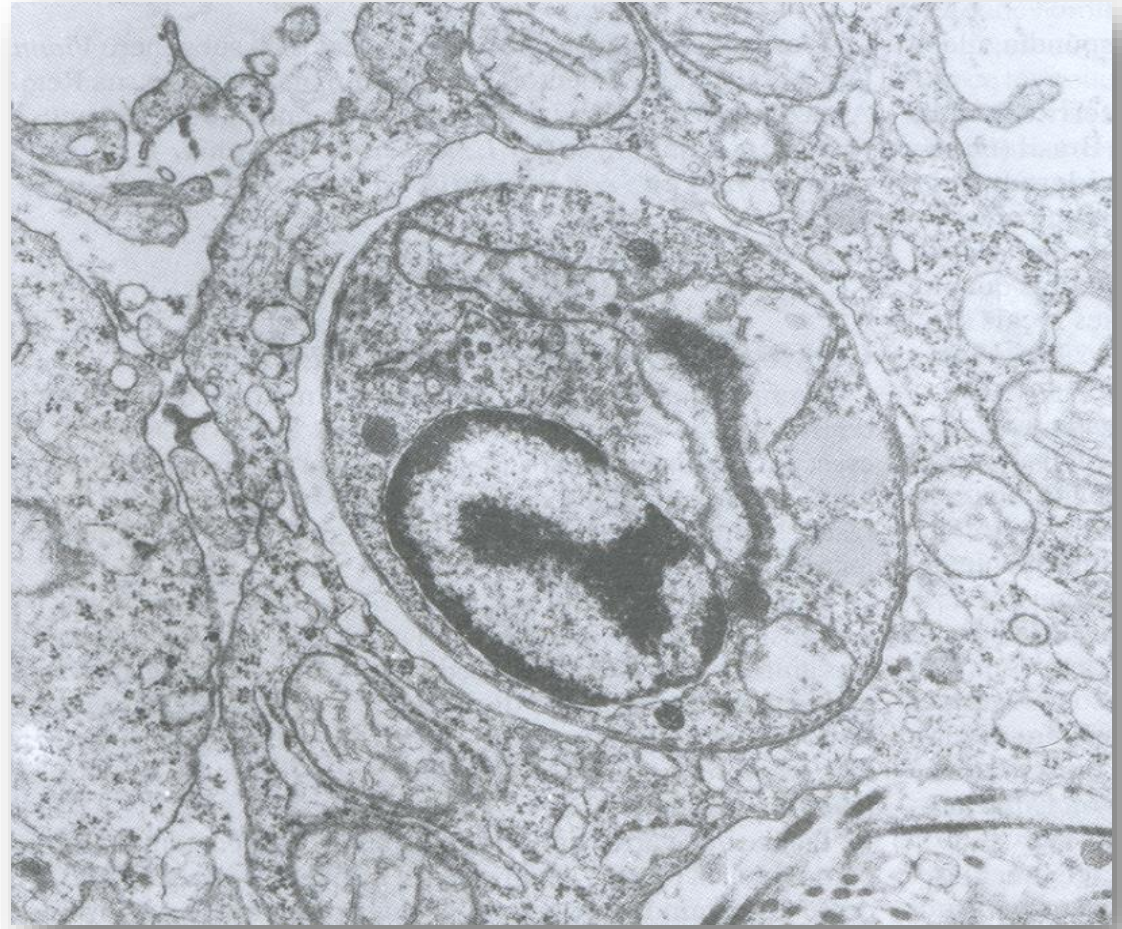
Infecta células do sistema mononuclear fagocítico:

Macrófagos

Neutrófilos

Células dendríticas.

Reprodução por fissão binária.

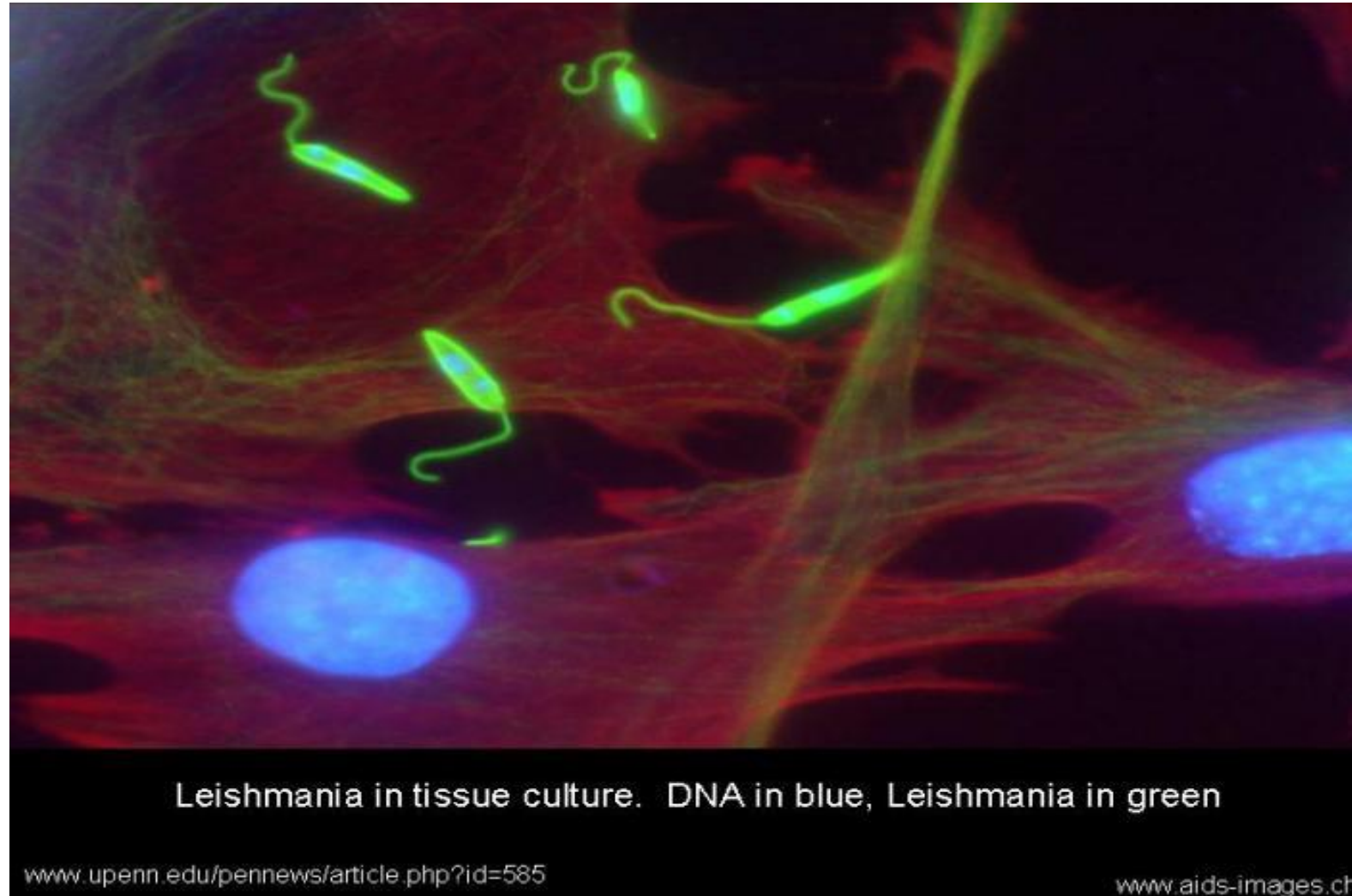


Promastigota

Reprodução por fissão binária
promastigota procíclico

Forma invasiva
promastigota metacíclico
(no replica)

**Ambos são morfológicamente
semelhantes**



Interação com o hospedeiro invertebrado

Obstáculos:

1. Proteases digestivas do vetor:

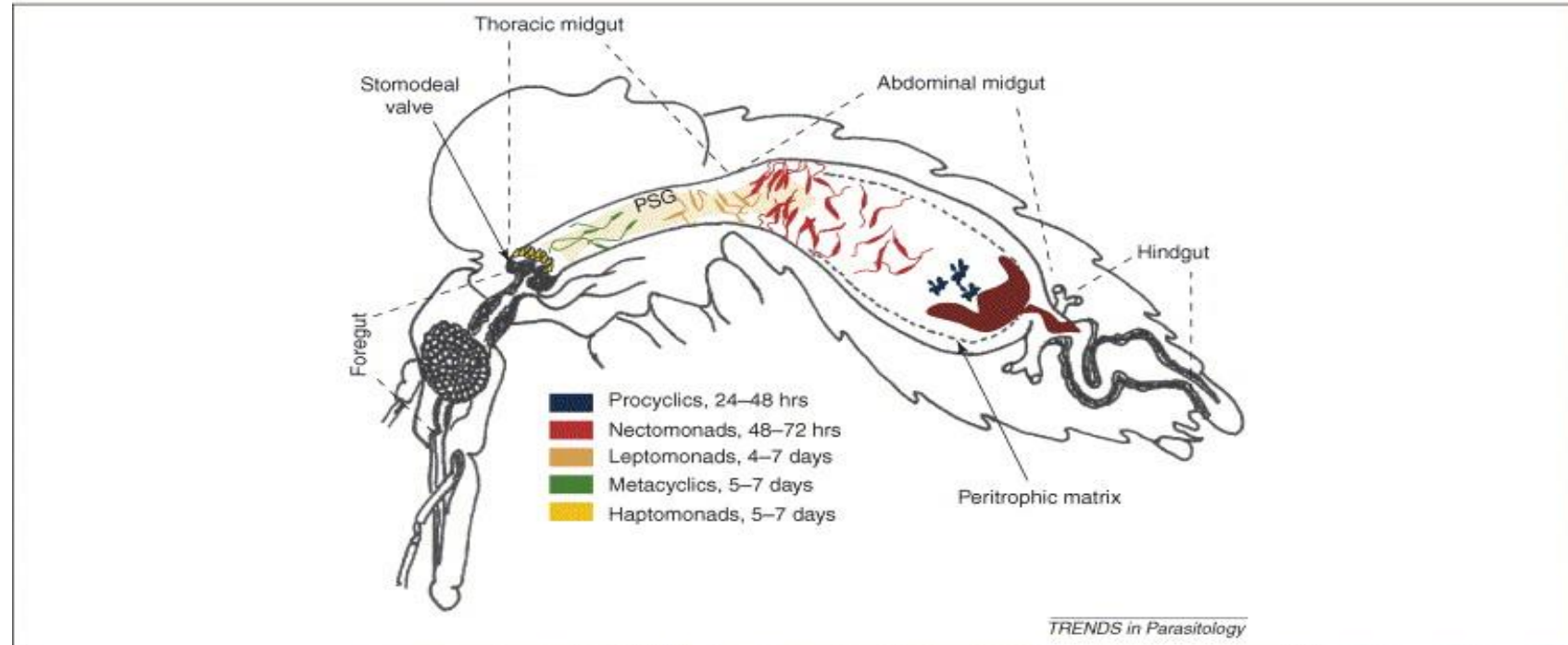
As leishmanias são capazes de retrazar, diminuir e as vezes neutralizar completamente a atividade das proteases digestivas.

Recoberto de lipofosfoglicanos (LPG):
protege o parasita contra as proteases intestinais do inseto.

2. Membrana peritrófica

Quitinases e protease gp-63:

capazes de degradar a MP.



Interação com o hospedeiro invertebrado

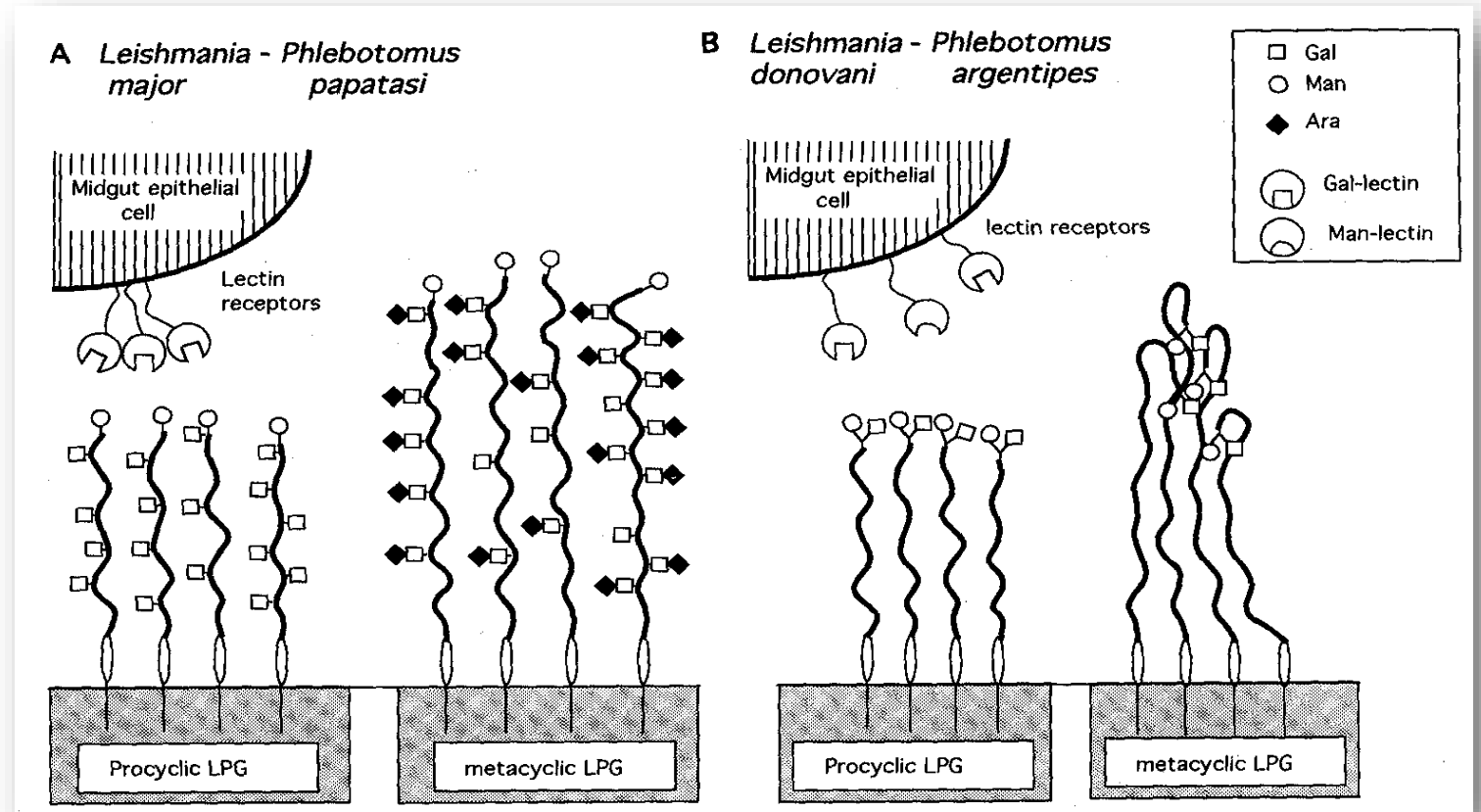
Lipofosfoglicanos (LPG):

ancora as Leishmanias às microviliosidades do epitélio intestinal.

O **LPG** é modificado durante a **metaciclogênese**, facilitando a migração do promastigota para o esôfago.

Proteofosfoglicanos (PPGs):

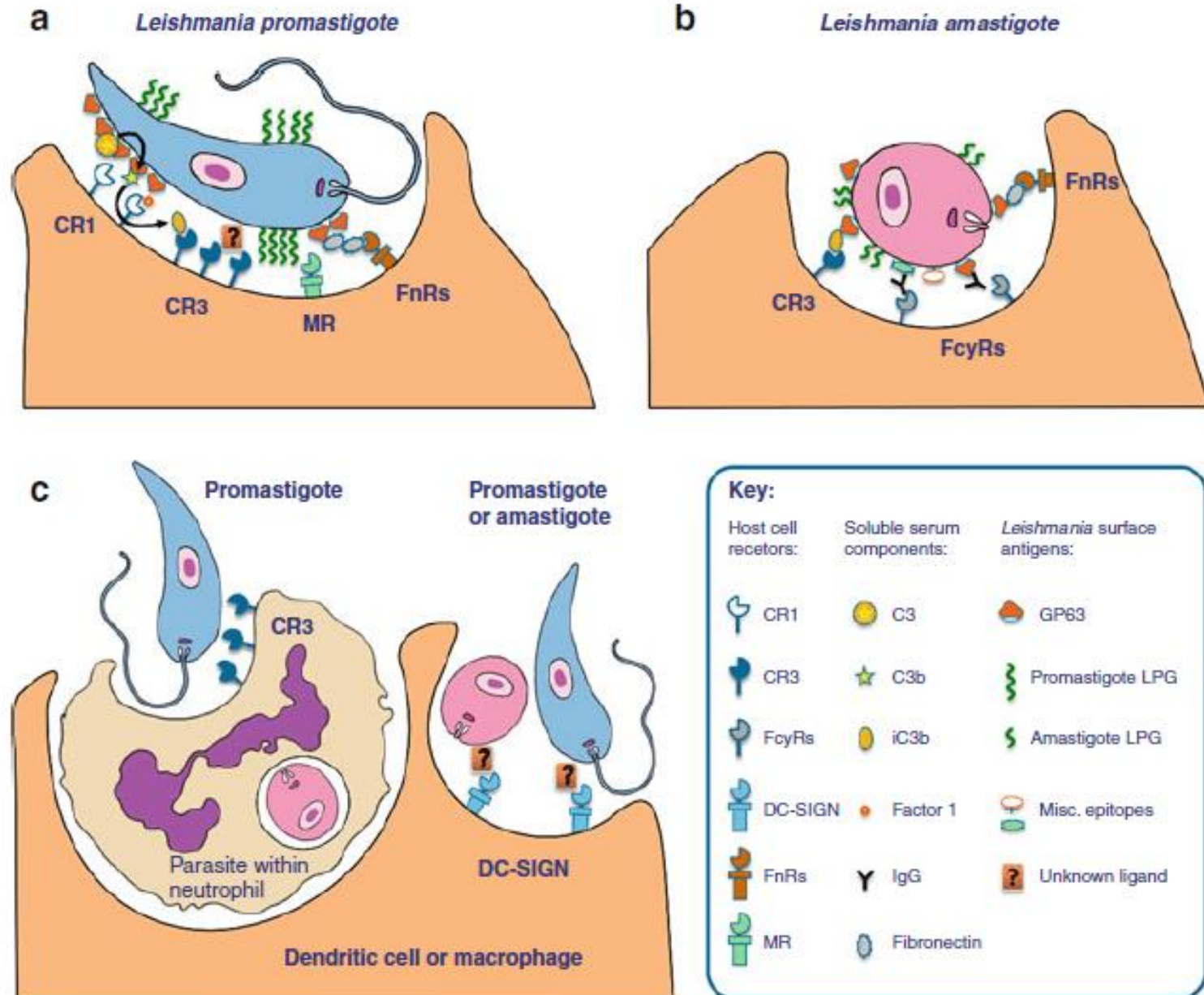
formam um gel que produz bloqueio mecânico da sucção do sangue.



Interação com as células do hospedeiro

Receptores para a entrada de *Leishmania* nos fagocitos.

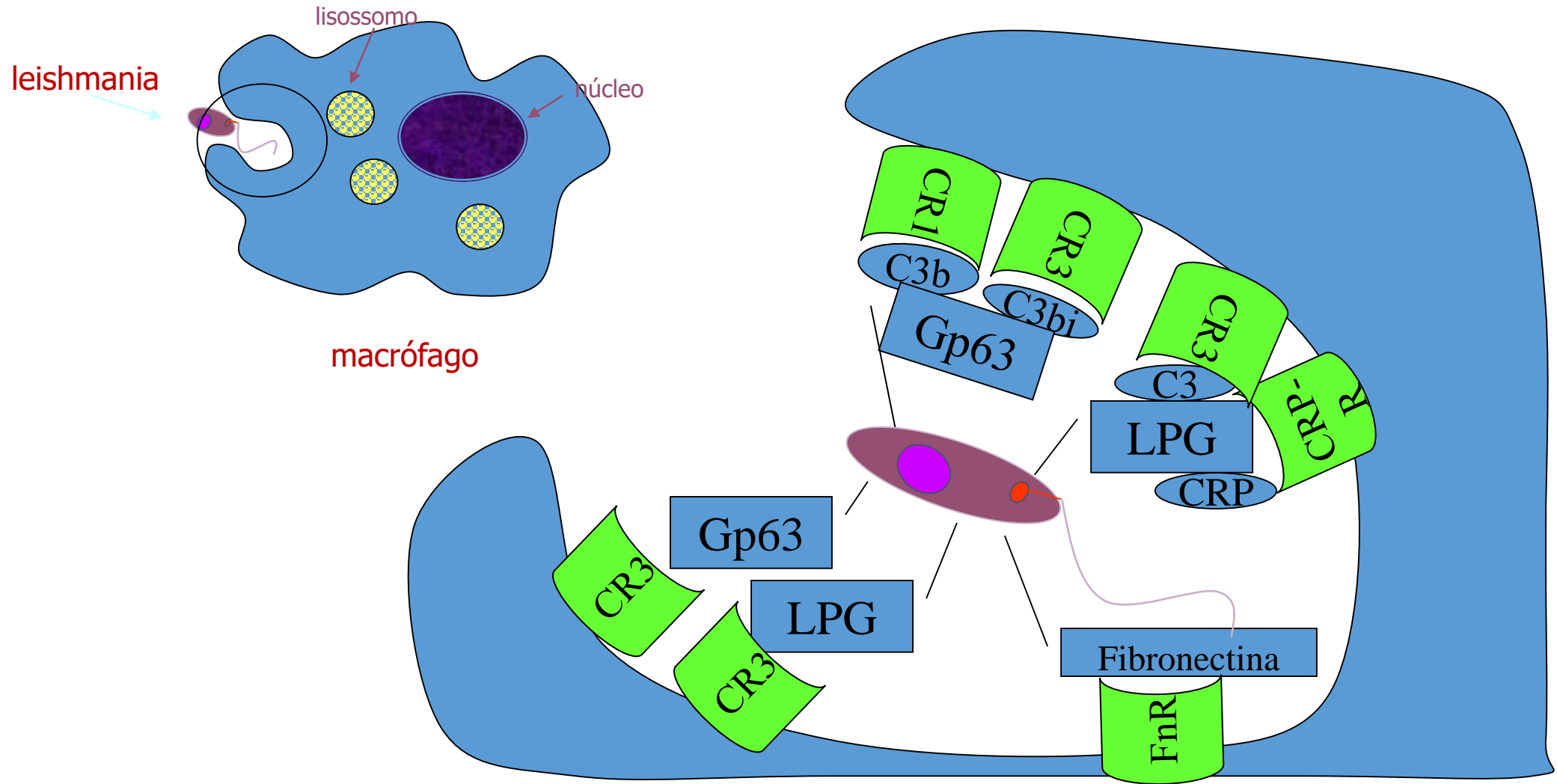
Leishmania usa vias de invasão celular mediadas por receptores. Promastigotas (azul), amastigotas (magenta), células hospedeiras (fagócitos) (laranja). (a) GP63, altamente expressa em promastigotas converte C3 (3ro componente do complemento) em C3b, ligante natural para CR1 (receptor 1 do complemento). CR1, com o factor I, cliva C3b para iC3b (forma inactiva de C3b), facilitando a ligação a CR3. CR3 pode também ligar os promastigotas de forma directa através de um epitope de superfície no parasita ainda não identificado. Os açúcares terminais do LPG podem também ser reconhecidos por receptores de manose (MR). GP63 também liga a fibronectina, que pode fazer uma ponte com receptors de fibronectin (FnRs). (b) Amastigotas expresam em baixas quantidades LPG e GP63 e portanto não seriam ligantes tão relevantes. Porém, os anticorpos e fibronectina ligada a amastigotas contribui com a ligação via receptores de fragmento Fc dos anticorpos (FcγRs) e de fibronectina (FnRs), respectivamente. (c) Imediatamente após a inoculação pelo flebotomíneo os promastigotas são fagocitados predominantemente por neutrófilos, via CR3. Alguns desses neutrófilos infectados podem apresentar sinais apoptóticos, ativando mecanismos de remoção de células apoptóticas ou macrófagos ou células dendríticas, resultando na infecção das mesmas. Os promastigotas e amastigotas podem também infectar DCs de forma directa via adesão através da molécula adhesion molecule-3-grabbing nonintegrin. Nesses casos, o ligante do parasita ainda não foi identificado.



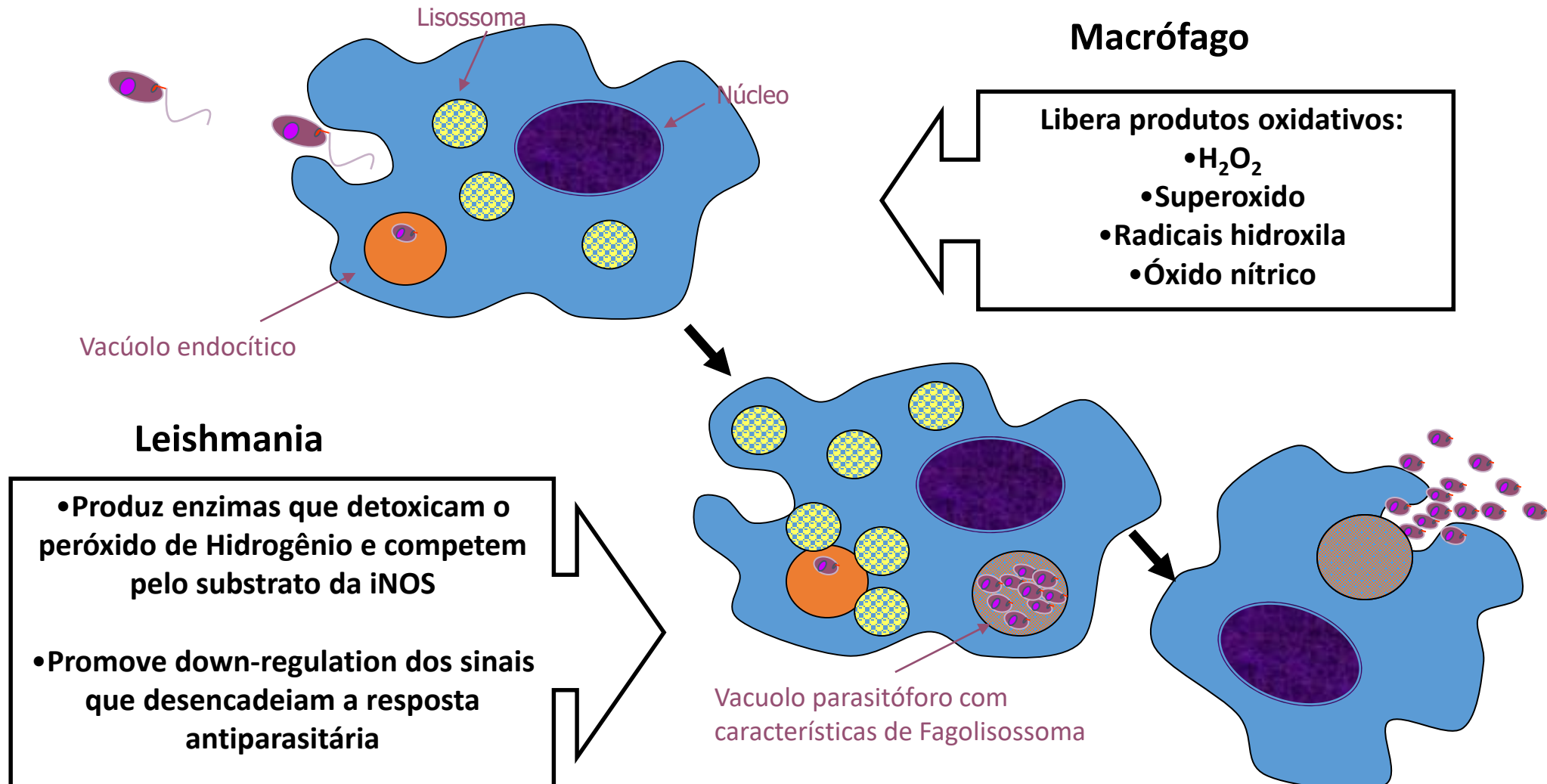
Interação com as células do hospedeiro vertebrado

GP63: ativa a cascata do complemento

LPG: interage com componentes do complemento



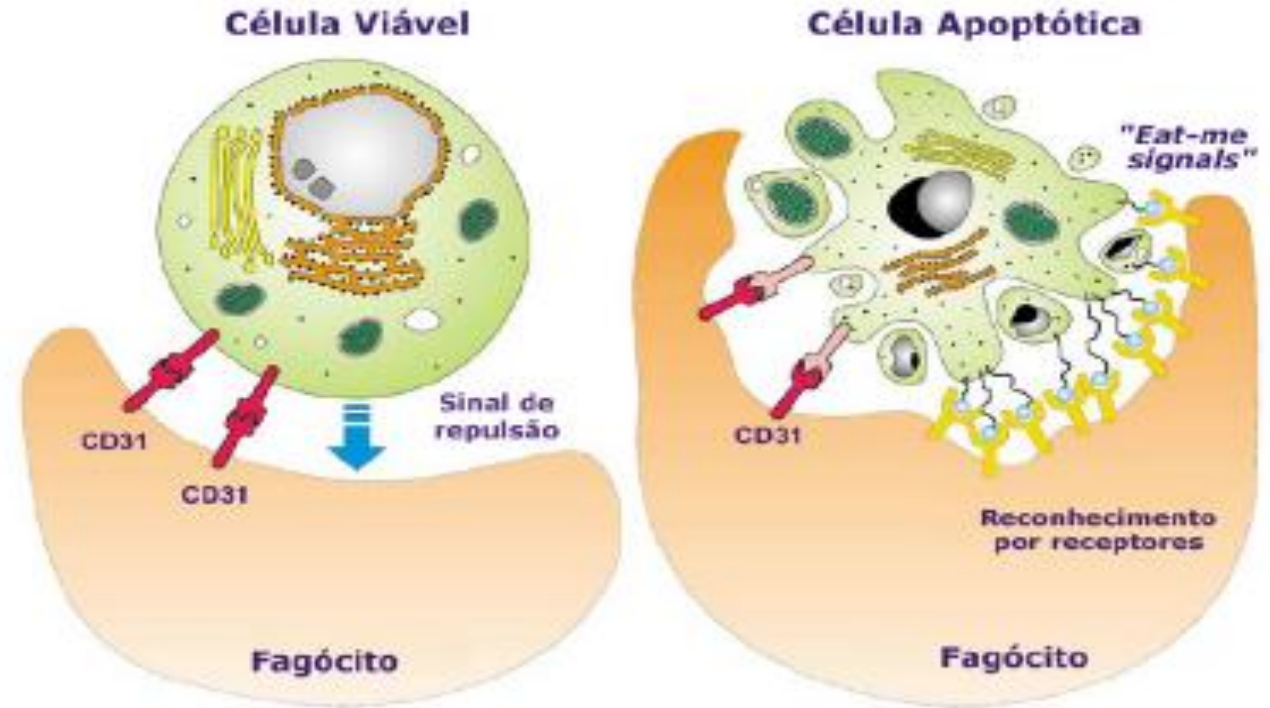
Interação com as células do hospedeiro vertebrado



Interação com as células do hospedeiro vertebrado

Apoptose “altruista”

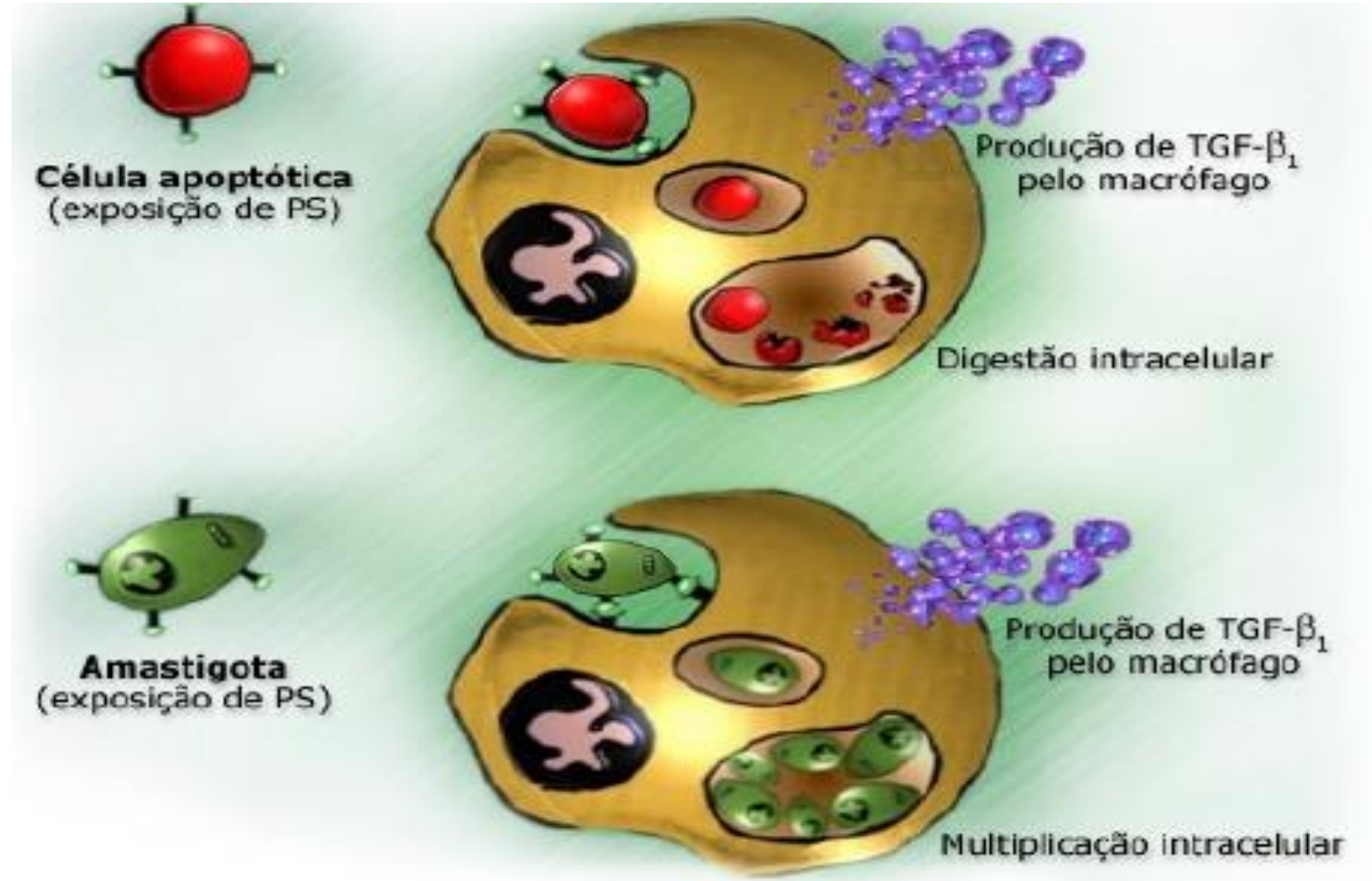
Promastigotas apoptóticas “altruístas” induzem produção de TGFb (citocina anti-inflamatória) e inativam macrófago -> sobrevivência dos parasitas



Interação com as células do hospedeiro vertebrado

“Simulação” de apoptose

Amastigotas expõem PS, inativam macrófago mas não entram em apoptose



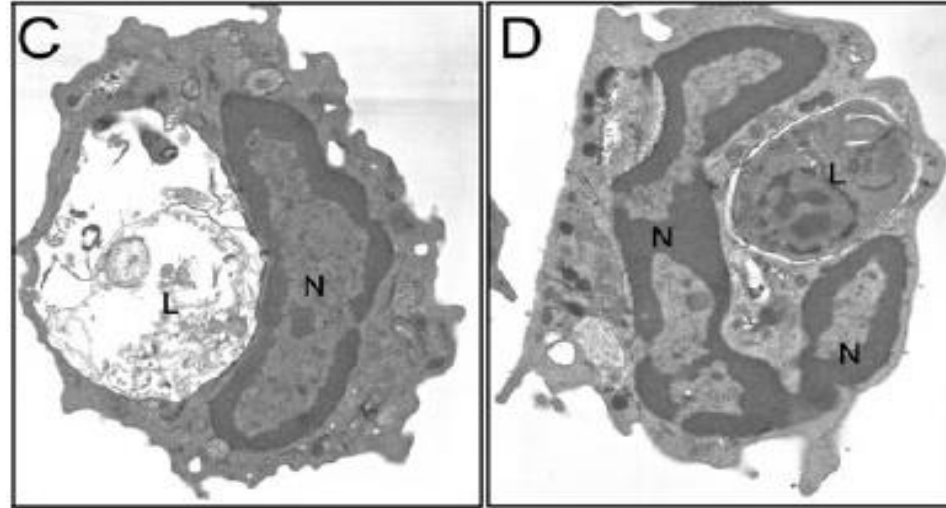
Interação com as células do hospedeiro vertebrado

“Cavalo de Troia”

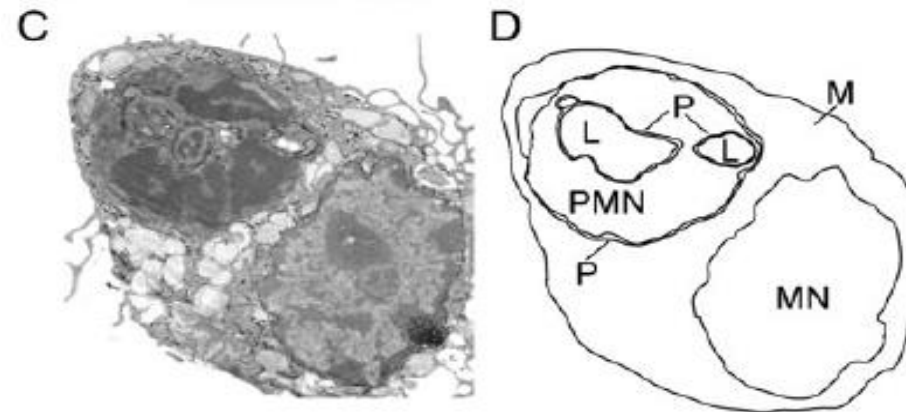
Rápido recrutamento de neutrófilos após inoculação (30min).

LPG inibe lise em alguns neutrófilos

Neutrófilos em apoptose (horas) são fagocitados por macrófagos.



Leishmania donovani em neutrófilos



Macrófago fagocita neutrófilos com *L. donovani*

Resposta imune

Fundamentalmente Celular

Macrófago infectado

Ativação do “burst respiratório” e produção de NO
Apresentação de antígenos na superfície



Linfócitos imunes

Th1 (IL2, IFN γ)

Th2 (IL4, IL5)

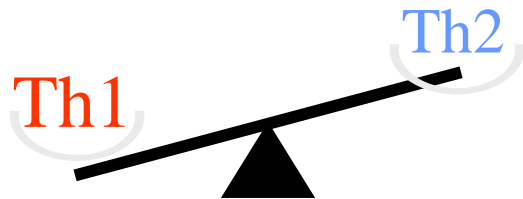
Ausência de ativação de macrófagos



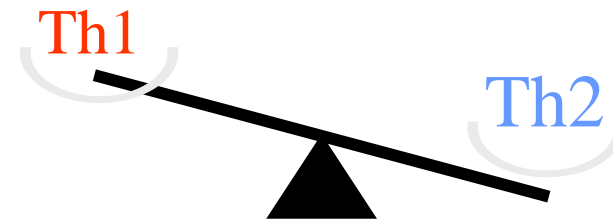
Resposta imune

A resposta protetora primária contra leishmaniose é mediada por células.

- Pacientes com L Cutânea – forte DTH, resposta proliferativa *in vitro*
- Pacientes com L Difusa – ausência de resposta celular e proliferação descontrolada de parasitas e lesões
- Pacientes com L Mucosa – hiper-reatividade da resposta celular
- Pacientes com L Visceral Aguda – não apresentam DTH e proliferação *in vitro*. Porém, este quadro é revertido após o tratamento.



Resposta imune do tipo 1, baixos títulos de Ac e ampla linfoproliferação



Resposta imune do tipo 2, Infecção progressiva, Ac altos, RI deficiente ou anérgica

Leishmanioses: formas clínicas

Leishmaniose cutânea localizada

Leishmaniose cutâneo difusa

Leishmaniose cutâneo-mucosa

Leishmaniose visceral

Leishmaniose tegumentar



Terapia

Tratamentos disponíveis: de difícil administração, longo, tóxico, caro, resistência

- Antimoniais pentavalentes: **tóxicos, hospitalização.**
- Amphotericina B: **tóxicos, hospitalização.**
- Liposomal amphotericin B (AmBisome®): excelente mas caro (US\$ 2800/tto), intravenoso.
- Paromomycin: testada apenas na Índia.
- Miltefosine: primeira droga oral, cara (US\$200) e teratogênica (proibida para gestantes). Desde 2002.

Tratamento ideal:.

Oral, seguro, eficaz, baixo custo, curta duração (~10 dias)

Obrigado!