

Leishmania spp: Mecanismos de infecção e evasão da resposta imune

Leishmania spp: mechanisms of infection and immune response evasion

Paula Regina Knox de Souza*

* Mestre em Análises Clínicas e Docente do Centro Universitário Municipal de São Caetano do Sul

RESUMO

Atualmente quase 12 milhões de pessoas estão infectadas por *Leishmania sp* no mundo. Devido a sua importância epidemiológica, a leishmaniose tem sido estudada há muitos anos, o que permitiu vários avanços na compreensão dos mecanismos de infecção e de evasão da resposta imune,

apresentados por *Leishmania sp* durante a infecção, que permitem a disseminação da doença no hospedeiro.

Palavras-chave: *Leishmania sp*, mecanismo de infecção, evasão da resposta imune

ABSTRACT

Actually almost 12 million people are infected by *Leishmania sp* in the world. Because of its epidemiological importance, leishmaniosis has been studied for many years, that allowed several advances in understanding of infection mechanisms and immune response evasion,

presented by *Leishmania sp* during the infection, that allow host's sickness spread.

Keywords: *Leishmania sp*, mechanisms of infection, immune response evasion

INTRODUÇÃO

Estima-se que mais de 12 milhões de pessoas sofrem de leishmaniose no mundo, em uma área que abrange desde as florestas tropicais da América do Sul e Central até os desertos da Ásia Ocidental, nas quais é possível encontrar o inseto vetor dos gêneros *Phlebotomus* ou *Lutzomyia*, responsável pela disseminação da doença⁽¹⁾. No Brasil, anualmente, são registrados 30 mil novos casos de leishmaniose tegumentar, enquanto 90% dos casos de leishmaniose visceral do continente americano são brasileiros⁽²⁾.

Graças a sua importância epidemiológica mundial, a leishmaniose tem sido estudada por vários grupos em diferentes regiões do mundo, e muitos avanços têm sido conseguidos na elucidação dos mecanismos de infecção e evasão da resposta imune. Dentre os mecanismos de evasão

da resposta imune, apresentados por parasitas do gênero *Leishmania*, podemos citar interferência no metabolismo de macrófagos⁽³⁾ e a capacidade de mimetizar o processo de morte celular programada (MCP) como recentemente descrito⁽⁴⁾.

Assim, esta revisão bibliográfica tem como objetivo caracterizar os mecanismos de infecção e evasão da resposta imune apresentados por parasitas do gênero *Leishmania* durante a infecção.

REVISÃO DE LITERATURA

A leishmaniose

A leishmaniose, uma doença inflamatória crônica causada por parasitas obrigatoriamente intracelulares do gênero *Leishmania*, é capaz de acometer diferentes tipos de tecidos depen-

dendo da espécie envolvida⁽¹⁾. Existem aproximadamente 21 espécies de *Leishmania* e cerca de 30 espécies de inseto vetor que podem transmitir a doença. Apenas 7 espécies de *Leishmania* causam as 3 principais formas da doença encontradas em humanos: a leishmaniose cutânea, a mucocutânea e a leishmaniose visceral. A forma e a severidade em que a doença acomete o hospedeiro dependem tanto das espécies envolvidas quanto da imunidade do hospedeiro⁽³⁾.

A leishmaniose cutânea, causada por *Leishmania major* e *Leishmania tropica*, é caracterizada por uma ulceração da pele que cura espontaneamente deixando uma cicatriz; a leishmaniose cutânea difusa, resultante da infecção por *Leishmania aethiopica* e *Leishmania mexicana*, causa lesões generalizadas na pele que não se curam espontaneamente. Já a infecção por *Leishmania braziliensis* resulta na forma mucocutânea, na qual ocorre a propagação das lesões cutâneas primárias para sítios mucosos, como mucosas da região oral e nasofaríngea, levando à desfiguração dos indivíduos devido à destruição do tecido afetado.

A forma visceral, também conhecida por "kala-azar", é a mais grave, levando a óbito caso não seja tratada. Resultante da infecção por *Leishmania donovani* e *Leishmania chagasi*, tem como sintomas mais comuns febre, perda de peso, tosse e diarreia acompanhada de anemia, escurecimento da pele e hepatoesplenomegalia⁽⁵⁾.

A *Leishmania sp* apresenta ciclo reprodutivo heteroxênico com dois estágios de desenvolvimento: a promastigota flagelada é responsável pela infecção e a amastigota é responsável pela manutenção e disseminação da infecção no hospedeiro⁽⁶⁾. Ao picar um hospedeiro vertebrado contaminado, o vetor ingere macrófagos que contêm amastigotas em seu interior. Uma vez no trato digestivo do inseto, os amastigotas diferenciam-se em promastigotas procíclicos flagelados e ligam-se ao epitélio desta região, onde, através do processo de metaciclogênese, transformam-se na forma metacíclica infectiva. A forma metacíclica desliga-se do epitélio e migra para a faringe e a cavidade bucal do inseto, que transmite a doença ao próximo hospedeiro vertebrado durante a sucção do sangue⁽³⁾.

Uma vez na circulação do hospedeiro mamífero, os promastigotas são fagocitados por macrófagos. No interior dos macrófagos, permanecem nos fagolisossomos, onde sobrevivem graças a uma ATPase transportadora de próton que mantém o pH dentro da vesícula em torno de 6,5⁽⁷⁾. Dentro dos fagolisossomos, iniciam sua transformação em amastigotas. Estes se reproduzem rapidamente por fissão binária, levando ao rompimento do macrófago. A disseminação da infecção ocorre através da adesão de amastigotas do parasita a macrófagos adjacentes às células rompidas⁽⁸⁾.

Interação parasita-hospedeiro

A fagocitose das formas promastigota e amastigota do parasita, encontradas no hospedeiro mamífero, é representada por processos distintos. A fagocitose de

promastigotas de *Leishmania* é um exemplo típico de endocitose mediada por receptor, enquanto a fagocitose de amastigotas é menos conhecida⁽⁹⁾.

A fagocitose de promastigotas é um processo ativo, que acontece com consumo de energia celular, e que, portanto, pode ser impedida pelo tratamento dos macrófagos com inibidores metabólicos. Durante a fagocitose de promastigotas, há ativação do *burst* respiratório dos fagócitos, ou seja, há produção de espécies reativas de oxigênio pelos macrófagos. Como a ingestão de promastigotas pelos macrófagos do hospedeiro é uma fase crítica para o ciclo biológico do parasita, este utiliza vários receptores celulares durante seu reconhecimento pelos macrófagos a fim de assegurar sua adesão e posterior ingestão⁽¹⁰⁾.

A opsonização do parasita por componentes do sistema complemento, por exemplo, aumenta a adesão destes aos macrófagos, pois o parasita opsonizado liga-se a receptores presentes nos macrófagos específicos para complemento. Dentre estes receptores, o Mac-1, que liga preferencialmente o componente iC_{3b} do sistema complemento, é o receptor primariamente responsável pela adesão do parasita, durante a fagocitose, a receptores do sistema complemento⁽¹¹⁾.

Apesar de importante, o envolvimento de componentes do sistema complemento durante a fagocitose não é estritamente necessário para a entrada do parasita na célula. Existem duas moléculas na superfície dos promastigotas que também estão relacionadas a seu reconhecimento pelos macrófagos: a LPG, que se liga a diferentes receptores do tipo lectina, e a gp63, que se liga a receptores de fibronectina da família das b-1 integrinas⁽¹²⁾.

Por outro lado, estudos com anticorpos monoclonais não permitiram identificar receptores específicos presentes em macrófagos que estejam envolvidos na fagocitose do estágio amastigota de *Leishmania*⁽¹³⁾. Apesar disso, sabe-se que amastigotas apresentam alta eficiência de adesão e de ingestão, além de capacidade de ligarem-se à heparina. A ligação à heparina promove ativamente a adesão a proteoglicanos celulares, facilitando a ingestão dos amastigotas⁽³⁾.

Entre as moléculas de superfície presentes nos amastigotas importantes para a infecção estão os fosfolipídeos de glicosilinositol (GIPL), responsáveis por interferências no metabolismo dos macrófagos do hospedeiro que possibilitam a sobrevivência do parasita⁽⁸⁾. Neste caso, a indução de *burst* respiratório em macrófagos residentes é pobre ou nula durante a infecção com amastigotas⁽⁹⁾. Ao mesmo tempo, amastigotas são capazes de resistir ao conteúdo ácido e proteolítico dos fagolisossomos de macrófagos não ativados, apesar de não sobreviverem em macrófagos ativados⁽¹⁴⁾.

Resposta do hospedeiro

O principal mecanismo de defesa contra a leishmaniose é a resposta imune mediada por células, particularmente por meio da ativação de macrófagos por citocinas derivadas

de células T CD4⁺. Após sua ativação, os macrófagos utilizam, como estratégias contra o parasita, a fagocitose do microrganismo invasor, seguida da ativação do *burst* respiratório, a acidificação da vesícula formada pela fusão do fagossomo com o lisossomo e a produção de NO⁽³⁾.

O desenvolvimento da doença depende da capacidade de resposta do hospedeiro, podendo haver tanto o controle da infecção quanto o desenvolvimento de lesões difusas compostas por macrófagos infectados por parasitas⁽⁷⁾. Assim, caso haja ativação de uma resposta de células Th1, ocorre a produção de γ -IFN, com conseqüente produção de NO⁽³⁾, espécie reativa efetiva na eliminação do parasita; por outro lado, γ -IFN também inibe a proliferação de células Th2, responsáveis pela resposta imune susceptível à doença⁽⁸⁾.

O mecanismo de eliminação do parasita baseia-se na capacidade de os macrófagos produzirem espécies reativas de oxigênio e nitrogênio que agem sobre as formas promastigotas e amastigotas do parasita.

As espécies reativas de oxigênio produzidas pelo *burst* respiratório de macrófagos ativados, como superóxido, peróxido de hidrogênio e radical hidroxila, possuem ação tóxica principalmente contra promastigotas de *Leishmania*⁽¹⁵⁾. NO⁽³⁾ e outras espécies reativas de nitrogênio têm ação tóxica sobre a forma amastigota do parasita⁽¹⁶⁾. Como os amastigotas são o estágio responsável pela disseminação e manutenção da doença no hospedeiro, a resposta leishmanicida mais eficiente é a mediada por NO⁽¹⁷⁾.

Os danos causados pelo NO⁽³⁾ sobre o parasita ocorrem mediante a interferência no metabolismo intracelular de ferro⁽⁸⁾, da amplificação da susceptibilidade ao dano oxidativo, iniciado pelo desequilíbrio da respiração mitocondrial com liberação de Ca⁺ para o citosol⁽¹⁸⁾, assim como da nitratação de resíduos de tirosina de algumas proteínas de membrana do parasita⁽¹⁹⁾.

Algumas alterações funcionais causadas em proteínas de membrana do parasita, devidas à nitratação de resíduos de tirosina, podem modificar a composição iônica intracelular, impossibilitando a sobrevivência – por exemplo, alterações na ATPase de membrana responsável pela manutenção do pH interno do parasita. A manutenção do pH interno do parasita próximo da neutralidade independe do pH ácido do fagolisossomo dos macrófagos, e é essencial para sobrevivência da *Leishmania*⁽¹⁹⁾.

Durante a ativação celular que possibilita a eliminação do parasita, ocorre a produção de peroxinitrito (ONOO⁻), que reage com alguns ânions ou outros radicais, gerando derivados que formam o principal grupo de agentes leishmanicidas produzidos por macrófagos *in vivo*, durante a infecção^(20,21).

Mecanismos adaptativos dos parasitas durante a infecção

Há evidências na literatura de que a *Leishmania* é capaz de evadir a resposta imune do hospedeiro, interferindo diretamente na atividade funcional dos macrófagos⁽³⁾, assim como mimetizando o processo de morte celular programada, uma

situação na qual os macrófagos não reconheceriam o parasita como uma ameaça ao hospedeiro, diminuindo a resposta imune inflamatória⁽²²⁾.

Interferência do parasita sobre a atividade funcional de macrófagos

O parasita é capaz de interferir no metabolismo e na ativação dos macrófagos, especificamente nas cascatas bioquímicas de sinalização intracelular, na produção de óxido nítrico, no *burst* respiratório e na produção de citocinas, modulando negativamente a resposta imune, por meio da interação das moléculas expressas na sua superfície LPG e gp 63, com receptores presentes na superfície dos macrófagos⁽²³⁾.

As alterações de transdução de sinal ocorrem através do bloqueio da cascata de fosforilação celular devido a alterações de quinases e fosfatases celulares, ou através da expressão de fosfatases pelo parasita que age sobre as proteínas dos macrófagos. Ao mesmo tempo, a *Leishmania* também é capaz de diminuir a atividade da proteína quinase C (PKC) dos macrófagos, da interação do LPG, presente na superfície dos promastigotas, ou por meio dos fosfolípidos de glicosilinositol (GIPL) encontrados na superfície dos amastigotas⁽⁸⁾.

Enquanto os amastigotas são capazes de inibir a produção de óxido nítrico por macrófagos através dos GIPLs presentes em sua superfície, as unidades repetitivas de LPG presente nos promastigotas podem protegê-los durante o *burst* respiratório através da reação com radicais hidroxila e ânions superóxido⁽⁸⁾. Além disso, o parasita é capaz de modular a produção de citocinas pelos macrófagos, induzindo a produção de TGF- β pelos macrófagos e inibindo a produção de interleucina 12, necessária para que ocorra ativação de resposta imune Th1, resposta efetiva na eliminação do parasita⁽²³⁾.

Apoptose em Leishmania

Alguns organismos unicelulares como tripanossomatídeos e ciliados de vida livre apresentam um tipo de morte celular programada (MCP) semelhante à apoptose que ocorre nos organismos multicelulares⁽²⁴⁾. A ocorrência de MCP nesses organismos assume um papel importante em sua sobrevivência, considerando sua capacidade de organizarem-se como populações celulares e estabelecerem padrões de comunicação extracelular^(25,26).

A MCP apresentada por parasitas unicelulares parece ter grande importância durante seus ciclos de vida. Em alguns casos pode controlar o número de indivíduos da população, tanto no vetor quanto no hospedeiro definitivo, assim como pode servir como um meio de evasão do parasita à resposta imune do hospedeiro⁽²²⁾.

Em *Leishmania*, a MCP é iniciada quando há mudança brusca de temperatura do meio, que acontece quando há a passagem do parasita do hospedeiro invertebrado (22 °C) para o hospedeiro vertebrado mamífero (37 °C), e em presença de cálcio. Esta brusca mudança de temperatura induz

modificações ultra-estruturais e moleculares típicas de MCP em parte dos indivíduos da população de amastigotas, sendo bem características a fragmentação nuclear, a formação de corpos apoptóticos, a presença de organelas preservadas, formação de vacúolos citoplasmáticos e o padrão de fragmentação do DNA⁽²⁷⁾.

A fagocitose de células em MCP, além de outros fatores, tem efeito antiinflamatório, por prevenir o dano tecidual causado pelo extravasamento de componentes destas células, como enzimas e metabólitos presentes no citoplasma e liberados durante a morte por necrose⁽²⁸⁾. Assim, a fagocitose de uma subpopulação de parasitas em MCP durante a fase inicial da infecção pode diminuir a resposta imune, possibilitando a instalação do parasita no hospedeiro e sua posterior disseminação⁽²²⁾.

CONCLUSÃO

Muitos avanços foram obtidos na compreensão da disseminação e da manutenção da leishmaniose no hospedeiro mamífero. Entre eles pode-se citar a utilização de vários receptores para assegurar sua ingestão pelos macrófagos, o tipo de resposta imune do hospedeiro necessário para controle da infecção, capacidade de o parasita modificar a produção de citocinas pelos macrófagos para diminuir a resposta imune, assim como sua capacidade de mimetizar MCP para desativar os macrófagos.

Apesar disso, muitas perguntas ficaram ainda sem resposta. Assim, torna-se importante ressaltar que existe a necessidade de se realizarem estudos complementares para que se esclareça uma das perguntas mais importantes relacionadas a leishmaniose: como direcionar a resposta imune do hospedeiro para o controle da infecção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller, MA. Medical Microbiology. 3rd ed. Saint Louis: Mosby; 1997.
- Marzochi MCA, Schubach AO, Marzochi KBF. Leishmaniose tegumentar americana. 2nd ed. In: Cimerman B & Cimerman S. Parasitologia Humana e seus fundamentos gerais. São Paulo: Atheneu; 2002.
- Cunningham AC. Parasitic adaptative mechanisms in infection by Leishmania. *Exp Mol Pathol* 2001;72.
- Balanco JMF, Moreira MEC, Bonomo A, Bozza PT, Amarantes-Mendes G, Primez C, Barcinski MA. Apoptotic mimicry by an obligate intracellular parasite downregulates macrophage microbicidal activity. *Curr Biol* 2001;11.
- Liew FY, O'Donnell CA. Immunology of Leishmaniasis. *Adv Parasitol* 1993;32.
- Genaro O. Leishmaniose tegumentar americana. In: Neves DP, Melo AL, Genaro O, Linardi PM. In: Parasitologia Humana. São Paulo: Atheneu; 2000.
- Samuelson J, Lichtenberg FV. Infectious Diseases. 5nd ed. In: Cotran RS, Kumar V, Robbins S. Robbins – Pathologic basis of disease. Philadelphia: W. B. Saunders Company; 1994.
- Descontaux A, Turco SJ. Glycoconjugates in Leishmania infectivity. *Biochim Biophys Acta* 1999;1455.
- Love DC, Kane MM, Mosser DM. Leishmania amazonensis: the phagocytosis of amastigotes by macrophages. *Exp Parasitol* 1998;88.
- Wright EP, Amin ER. Leishmania infection: surfaces and immunity. *Biochem Cell Biol* 1989;67(9).
- Kane MM, Mosser DM. Leishmania parasites and their ploys to disrupt macrophages activation. *Cur Opin Haematol* 2000;7.
- Kane MM, Mosser DM. The role of IL-10 in promoting disease progression in Leishmaniasis. *J Immunol* 2001;166.
- Blackwell JM, Ezekowitz RAB, Roberts MB, Channon JY, Sim RB, Gordon S. Macrophage complement and lectin-like receptors bind Leishmania in the absence of serum. *J Exp Med* 1985;162.
- Kemp M. Regulator and effector functions of t-cell subsets in human Leishmania infections. *APMIS* 1997;68(105).
- Murray HW. Susceptibility of Leishmania to oxygen intermediates and killing by normal macrophages. *J Ex Med* 1981;153.
- Green SJ, Meltzer MS, Hibbs Jr, JB, Nacy CA. Activated macrophages destroy intracellular Leishmania major amastigotes by the arginine-dependent killing mechanism. *J Immunol* 1990;144.
- Liew FY, Xu DM, Cahn WL. Immune effector mechanism in parasitic infections. *Immunol Lett* 1999;65.
- Manuël J, Ransijn A. Leishmania ssp: mechanisms of toxicity of nitrogen oxidation products. *Exp Parasitol* 1997;87.
- Linares E, Giorgio S, Mortara RA, Santos CXC, Yamada AT, Augusto O. Role of peroxynitrite in macrophage microbicidal mechanisms in vivo revealed by protein nitration and hydroxylation. *Free Rad Med* 2001;30(11).
- Assreuy J, Cunha FQ, Epperlein M, Noronha-Dutra A, O'Donnell CA, Liew FY, Moncada S. Production of nitric oxide and superoxide by activated macrophages and killing of Leishmania major. *Eur J Immunol* 1994;23.
- Murray HW, Nathan CF. Macrophage microbicidal mechanisms in vivo: reactive nitrogen versus oxygen intermediates in the killing of intracellular visceral Leishmania donovani. *J Ex Med* 1999;189(4).
- Barcinski MA, Dos Reis GA. Apoptosis in parasites and parasite-induced apoptosis in the host immune system: a new approach to parasitic diseases. *Braz J Med Biol Res* 1999;32.
- Piedrafita D, Proudfoot L, Nikolaev AV, Xu D, Sands W, Feng GJ, Thomas E, Brewer J, Ferguson MAJ, Alexander J, Liew FY. Regulation of macrophage IL-12 synthesis by Leishmania phosphoglycans. *Eur J Immunol* 1999;29.
- Ameisen JC. The origin of programmed cell death. *Science* 1996;272.
- Welburn SC, Barcinski MA, Williams GT. Programmed cell death in trypanosomatids. *Parasitol Today* 1997;13(1).
- Barcinski MA. Apoptosis in trypanosomatids: evolutionary and phylogenetic considerations. *Genet Mol Biol* 1998;21(1).
- Moreira MEC, Del Portillo HA, Milder RV, Balanco JMF, Barcinski MA. Heat shock induction of apoptosis in promastigotes of the unicellular organism Leishmania (leishmania) amazonensis. *J Cell Physiol* 1996;167.
- Fadok VA, Bratton DL, Konowal A, Freed PW, Westcott JY, Henson PM. Macrophages that have ingested apoptotic cells in vitro inhibit proinflammatory cytokine production through autocrine/paracrine mechanisms involving TGF- β , PGE₂, and PAF. *J Clin Invest* 1998;101(4).

Correspondência para / *correspondence to*:
prsouza@imes.edu.br