

## Papel do Parasita e do Hospedeiro na Expressão Clínica das Leishmanioses

### Host and Parasite Roles in the Clinical Outcome of Leishmaniasis

Ana Lúzia F. Schriefer<sup>1</sup>, Rosana S. Sousa<sup>1</sup>, Luiz Henrique Guimarães<sup>1</sup>, Aristóteles Góes-Neto<sup>3</sup>, Albert Schriefer<sup>1,2</sup>  
*Serviço de Imunologia<sup>1</sup>, Hospital Universitário Professor Edgard Santos, UFBA; Departamento de Ciências da Biointeração, Instituto de Ciências da Saúde<sup>2</sup>, UFBA; Salvador, BA; Laboratório de Pesquisa em Microbiologia<sup>3</sup>, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana; Feira de Santana, BA, Brasil*

As leishmanioses constituem um espectro de formas clínicas de origem multifatorial. Camundongos isogênicos infectados com diferentes espécies e cepas do microorganismo apresentam cursos infecciosos diversos, indicando a importância de fatores parasitários da doença. Por outro lado, um mesmo isolado ou cepa de *Leishmania* sp. é capaz de levar a cursos distintos quando inoculados em animais de diferentes linhagens, mostrando o papel do conteúdo genético do hospedeiro no desfecho da infecção. Esses dados experimentais são reforçados por achados epidemiológicos, mostrando uma grande diversidade nas populações naturais dos integrantes desse gênero e associações entre determinadas espécies e cepas com formas viscerais ou tegumentares da doença humana. O presente texto revisa as principais contribuições que têm resultado em uma melhor compreensão sobre a variabilidade clínica das infecções por *L. chagasi*, *L. amazonensis* e *L. braziliensis*, causadores das leishmanioses no estado da Bahia, e seus determinantes.

**Palavras-chave:** Leishmaniose, variabilidade clínica, polimorfismo parasitário.

*Leishmaniasis correspond to a spectrum of clinical outcomes of multi-factorial origin. Syngeneic mice infected with different species and strains of the parasite present diverse infectious courses, indicating a role for parasite factors in the disease. On the other hand, a single strain or clinical isolate of Leishmania sp. can lead to diverse outcomes if inoculated into different mice lineages, attesting to the role of the host's genetic background in the outcome of the infection. These experimental data are reinforced by epidemiological findings showing a marked diversity within and between natural populations of these organisms in addition to associations of species or strains with visceral or tegumentary forms of the human disease. This manuscript reviews the most important scientific contributions that have increased our understanding on the clinical variability of infections with *L. chagasi*, *L. amazonensis* and *L. braziliensis*, the major causative agents of leishmaniasis in the state of Bahia/Brazil.*

**Key words:** Leishmaniasis, clinical variability, parasite polymorphism.

Recebido em 22/02/2005                      Aceito em 27/05/2005  
 Endereço para correspondência: Dra. Ana Lúzia Fernandes Schriefer. Serviço de Imunologia, Hospital Universitário Professor Edgard Santos, Universidade Federal da Bahia. Rua João das Botas s/n, 5º andar, Canela. 40.110-160. Salvador/Bahia/Brasil. Telefone: (5571) 3237-7353. Fax: (5571) 3245-7110. E-mail: aschriefer@hupes.ufba.br

**Gazeta Médica da Bahia** 2005;75(1):Jan-Jun:46-56.  
 © 2005 Gazeta Médica da Bahia (ISSN 0016-545X).  
 Todos os direitos reservados.

As leishmanioses constituem um importante problema de saúde pública mundial. O Brasil figura entre os cinco países mais afetados<sup>(51)</sup>, apresentando incidências crescentes dessas enfermidades. Dentre as várias unidades da Federação, a Bahia corresponde a uma das áreas de maior endemicidade. Uma das mais marcantes características das leishmanioses nesse Estado é a grande riqueza de quadros clínicos observada, ora representada por doença visceral (leishmaniose visceral americana, LVA), ora por

diversas manifestações tegumentares (leishmaniose tegumentar americana, LTA). Essa riqueza se justifica por fatores relacionados ao hospedeiro e pela presença de três espécies de *Leishmania* envolvidas nas infecções humanas: *L. braziliensis*, *L. amazonensis* e *L. chagasi*.

A capacidade divergente dos agentes etiológicos das leishmanioses tem sido reconhecida há muito tempo, sendo exemplificada pelas cerca de 15 espécies de importância médica até então detectadas<sup>(47,48)</sup>. A plasticidade dos integrantes do gênero *Lesh* tem conferido poder adaptativo a condições ecológicas diversas, envolvendo diferentes paisagens, reservatórios e vetores, o que justifica a ampla distribuição global e parte da variabilidade de apresentações clínicas das doenças humanas. Todavia, a freqüente implicação de uma única espécie do parasita em mais de uma forma de leishmaniose, com gravidades e respostas terapêuticas distintas, tem sugerido que essa plasticidade estende-se ao nível intra-específico.

Os efeitos da variação intra-específica das leishmanias sobre os desfechos das infecções têm sido avaliados explorando-se linhagens de camundongos isogênicos e hamsters. Nesses experimentos, animais com conteúdos genéticos semelhantes são inoculados com diferentes cepas dos parasitas e parâmetros como infectividade, virulência e apresentação clínica são comparados. A variabilidade detectada no comportamento das cepas de *Leishmania* sp. nos trabalhos experimentais tem sido acompanhada pela identificação de um grande polimorfismo entre esses microorganismos no campo, em estudos que têm buscado correlacionar isolados naturais e apresentações da doença humana<sup>(22,41,44,49)</sup>. Comparando-se os conteúdos de isoenzimas dos parasitas, as diferenças nas reatividades de seus extratos antigênicos contra painéis de anticorpos monoclonais, ou seus genótipos moleculares, tem-se mostrado a existência de subpopulações geneticamente distintas numa mesma espécie, tanto em grandes quanto em pequenas áreas geográficas. Algumas vezes, essa variabilidade tem sido acompanhada de significativa associação entre genótipo ou fenótipo microbiano e curso da leishmaniose.

Dados experimentais e observações epidemiológicas têm também enfatizado a importância da carga genética e do estado imunológico do hospedeiro sobre as infecções, deixando claro que os desfechos das leishmanioses têm origens multifatoriais complexas. No presente texto, serão revisados estudos que abordam os determinantes da variabilidade clínica observada nas doenças causadas por *L. chagasi*, *L. amazonensis* e *L. braziliensis*. Serão levados em consideração os principais trabalhos de pesquisadores ligados ao estado da Bahia, além de contribuições relevantes de outros grupos.

### **O Estado Imunológico do Hospedeiro Exerce Grande Influência sobre o Curso da Infecção pela *Leishmania chagasi***

A *L. chagasi* tem sido a principal responsável pelos casos de LVA na Bahia<sup>(28)</sup>. Essa doença consiste em uma forma de hepatoesplenomegalia febril, acompanhada de anemia e episódios recorrentes de infecções secundárias, que põem em risco a vida dos pacientes. Imunologicamente, a doença se caracteriza por uma baixa resposta celular aos antígenos do parasito e hipergamaglobulinemia às custas de ativação policlonal de linfócitos B<sup>(35)</sup>.

Em um importante trabalho, Badaró et al.<sup>(4)</sup> chamaram a atenção sobre a importância do estado imune do hospedeiro na expressão da LVA por *L. chagasi*. Foram descritos três casos: (1) paciente com colite ulcerativa sob terapêutica corticosteróide; (2) paciente com glomerulonefrite proliferativa sob tratamento com corticosteróide e ciclofosfamida; e (3) um paciente com forma hepatoesplênica de esquistossomose, apresentando bacteremia por salmonela, em tratamento com cloranfenicol. Em todos esses pacientes, o estado de comprometimento da resposta imune se fez acompanhar por provável ativação de infecções latentes, resultando em doença progressiva.

Bittencourt et al.<sup>(14)</sup> deram um outro exemplo de como o estado imunológico do hospedeiro pode

influenciar profundamente o curso da LVA ao relatarem o caso de um jovem de 28 anos que, tendo desenvolvido a síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS), apresentou leishmaniose visceral como infecção oportunista, seguida de leishmaniose dérmica pós-calazar (*post-kalazar dermal leishmaniasis*, PKDL). A PKDL é comumente resultante de infecção por *L. donovani* e limitada ao Velho Mundo, sendo inesperada em um paciente do Novo Mundo. Um trabalho experimental de Barbosa et al.<sup>(6)</sup>, em que camundongos C57BL/10, susceptíveis à *L. chagasi*, demoravam mais a controlar a infecção que os resistentes DBA/2, ajuda a completar a nossa compreensão sobre a contribuição do hospedeiro à expressão clínica da LVA, sugerindo uma importante participação tanto do seu estado imunológico quanto da sua carga genética.

O entendimento acerca do papel do polimorfismo da *L. chagasi* sobre a LVA é mais limitado. A *L. chagasi* e a *L. infantum* são filogeneticamente muito próximas, compartilhando um mesmo nodo no complexo *Leishmania donovani*<sup>(17,37)</sup>. Suspeita-se que a *L. chagasi* atual descenda de uma ou várias cepas de *L. infantum* introduzidas no Brasil após o descobrimento<sup>(37,38)</sup>. Portanto, espera-se que parte dos achados relativos à *L. infantum* devam ser extrapoláveis e eventualmente confirmados na LVA por *L. chagasi*.

Diversos trabalhos têm indicado que uma marcada variabilidade intra-específica caracteriza a *L. infantum*. Avaliações dos perfis de isoenzimas têm mostrado que as cepas mediterrâneas desses parasitas pertencem a inúmeros zimodemas<sup>(25,26,32,40)</sup>, ao passo que métodos moleculares com elevada capacidade discriminativa têm revelado polimorfismo mesmo entre integrantes de um mesmo zimodema<sup>(5,30,49)</sup>. Num exemplo de potencial relevância clínica e epidemiológica, foi detectada uma grande heterogeneidade no zimodema MON1, levando os autores a sugerirem que isso talvez reflita parte das inconsistências referentes à infecção com esses parasitos<sup>(5,30)</sup>. É importante lembrar que essa é uma das poucas subpopulações de *L. infantum* até então envolvidas tanto em doença visceral quanto tegumentar no Velho Mundo<sup>(12,24,27,29,30,40)</sup>.

Os estudos com *L. infantum* também são bastante esclarecedores quanto ao papel do hospedeiro no curso da LV, reforçando o que foi colocado acima sobre as infecções por *L. chagasi*. Diferentes estudos têm evidenciado formas clínicas atípicas em imunocomprometidos infectados por certos zimodemas do parasita. Por exemplo, MON 24, MON 29 e MON 33, que são normalmente dermatotrópicos, têm sido encontrados causando doença visceral nesses pacientes<sup>(39,40)</sup>. Por outro lado, integrantes de certos zimodemas tendem a ser mais freqüentemente ou exclusivamente isolados desses indivíduos com comprometimento da resposta imune<sup>(27,32)</sup>. É possível que isso corresponda, em parte, à contrapartida no Velho Mundo das observações sobre a ativação de infecções latentes entre imunossuprimidos descritas por Badaró et al.<sup>(4)</sup> na Bahia.

### **Parasito e Hospedeiro Contribuem para o Polimorfismo Clínico das Infecções por *Leishmania amazonensis***

A *L. amazonensis* tem sido associada, sobretudo, a uma parcela dos casos de leishmaniose cutânea localizada (LC)<sup>(28)</sup>, com características clínicas e imunológicas semelhantes às abaixo descritas para a doença por *L. braziliensis*. Mais raramente, tem sido também observada doença difusa por esses parasitas, em que predominam lesões nodulares e infiltrativas, ricas em macrófagos infectados por amastigotas<sup>(35)</sup>. Contudo, Barral et al.<sup>(7,8)</sup> identificaram uma marcada variabilidade nos desfechos clínicos das infecções por integrantes dessa espécie no estado da Bahia. Em um primeiro trabalho, esses autores reportaram o isolamento de *L. amazonensis* a partir de aspirado de medula óssea de um paciente com LVA, que foi descrito como o primeiro caso humano de LV causado por *L. amazonensis*. A identidade do parasita foi checada por meio de reatividade a anticorpos monoclonais e avaliação de perfil isoenzimático. Expandindo esses achados, após avaliar 114 casos de leishmaniose e caracterizar as espécies de parasita envolvidas por meio de monoclonais, Barral et al.

detectaram que a *L. amazonensis*, proveniente de áreas endêmicas baianas, pode ser isolada não apenas de casos de leishmaniose cutânea localizada, cutânea difusa (LCD) e visceral como previamente descrito, mas também de leishmaniose mucosa (LM) e até mesmo de PKDL. Essas observações levaram os autores a concluir que a *L. amazonensis* é capaz de causar um amplo espectro de doenças<sup>(8)</sup>.

Reforçando a existência de uma marcante variabilidade de quadros clínicos secundários à infecção por esses parasitas, Bittencourt et al.<sup>(13)</sup> descreveram um caso humano atípico de LCD. Nele, as lesões infiltrativas eram acompanhadas por uma ulceração profunda e extensa, em cujo infiltrado inflamatório se encontrava um elevado número de eosinófilos. Em um outro trabalho, Barral et al.<sup>(9)</sup> descreveram que a forma difusa de leishmaniose era mais heterogênea do que se suspeitava anteriormente. Nesse estudo, que envolveu seis pacientes, foi descrito que a LCD apresenta um espectro de comportamentos imunológicos. Em um extremo, que os autores chamaram de forma polar da LCD, os pacientes ou suas células imunes eram incapazes de responder à estimulação com antígenos de leishmania, ao passo que na forma denominada de subpolar podia ser detectada uma resposta, ainda que fraca, aos extratos do parasita.

Uma série de trabalhos experimentais empregando *L. amazonensis* e linhagens murinas isogênicas evidenciaram que parte da variabilidade clínica descrita acima, provavelmente, é influenciada pela carga genética do hospedeiro e o seu estado imunológico. Ainda na década de 80, Barral-Netto et al.<sup>(10)</sup> mostraram que um mesmo clone de *L. amazonensis* era capaz de causar infecções com características distintas entre duas linhagens de animais geneticamente diferentes, BALB/c e C57BL/6. Esses autores confirmaram e estenderam dados previamente publicados por outros grupos, que tinham como ponto fraco o emprego de populações mistas do parasita em seus inóculos. Nesse trabalho, camundongos BALB/c se mostraram susceptíveis à infecção, ao passo que C57BL/6 foram resistentes. Além do mais, a linhagem susceptível apresentava perda da resposta imune celular contra o parasita, evidenciada pela negativação

dos testes de hipersensibilidade tardia aos antígenos de leishmania. Empregando inúmeras linhagens murinas, Falcoff et al.<sup>(23)</sup> confirmaram o importante papel dessas respostas imunes geneticamente condicionadas aos antígenos dos parasitas sobre o curso das infecções por *L. amazonensis*.

Ao mostrarem que camundongos naturalmente resistentes à *L. amazonensis* se tornavam susceptíveis quando infectados com um retrovírus capaz de induzir à imunodeficiência, Barral-Netto et al.<sup>(11)</sup> estenderam a nossa compreensão sobre o papel do hospedeiro na doença por esses microorganismos. Animais infectados apenas com o parasito apresentavam lesões transitórias, que frequentemente evoluíam para a cura espontânea. Por outro lado, animais previamente infectados com o vírus da leucemia murina (Mu-LV), portanto tornados imunodeficientes, desenvolviam grandes lesões, que não apresentavam tendência à cura, atestando também o papel do estado imunológico do hospedeiro sobre a leishmaniose experimental e potencialmente humana pela *L. amazonensis*.

Importantes contribuições para a compreensão da variabilidade intra-específica de isolados naturais da *L. amazonensis* foram feitas por Leon et al.<sup>(33,34)</sup>. Nesses trabalhos, foi investigada a existência de diferenças antigênicas entre isolados provenientes de uma mesma manifestação clínica (LCD) ou de diferentes formas de leishmaniose (LC, LM, LCD, LV e PKDL). Utilizando-se de painéis de soros de pacientes com leishmaniose para esse fim, os autores mostraram a presença de heterogeneidade fenotípica entre esses microorganismos. Contudo, associações entre fenótipo parasitário e forma clínica ou distribuição geográfica das doenças não foram detectadas.

Embora as avaliações epidemiológicas de Leon et al. não tenham permitido detectar uma associação entre cepas de *L. amazonensis* e desfechos da LTA, um estudo de Almeida et al.<sup>(1)</sup> ajudou na melhor compreensão da importância que a variabilidade entre esses parasitas apresenta sobre a resposta clínica e imunológica do hospedeiro. Os autores reportaram que *L. amazonensis* isoladas de pacientes com diferentes formas de leishmaniose apresentavam comportamentos biológicos distintos em animais de experimentação.

Parasitas isolados de casos de LC, LM e LV eram inoculados nas patas de camundongos BALB/c e os cursos das infecções avaliados. Como principais resultados, as *L. amazonensis* obtidas de casos de LTA causavam lesões ulcerativas nas patas dos animais, caracterizadas por grande destruição tecidual e presença de macrófagos carregados de amastigotas. Em marcado contraste, a infecção causada pelos parasitas cultivados a partir de pacientes com LVA era facilmente controlada pelos hospedeiros, sendo caracterizada por pequenas lesões nas patas inoculadas, onde se encontrava um infiltrado de células mononucleares, poucos macrófagos parasitados e granulomas. Os autores interpretaram esses achados como indicativos da provável relevância clínica da variabilidade intra-específica da *L. amazonensis*.

### **O Papel da Variabilidade Intra-Específica da *Leishmania braziliensis* sobre o Desfecho Clínico da Leishmaniose Tegumentar Americana**

As infecções por *L. braziliensis* têm-se mostrado igualmente ricas em suas formas clínicas e ainda mais prevalentes que aquelas por *L. chagasi* e *L. amazonensis* nas áreas endêmicas baianas. Mais freqüentemente, os integrantes dessa espécie têm sido implicados nas formas cutânea localizada e mucosa da LTA (28,35). A LC é normalmente limitada a uma ou poucas úlceras na pele, mais freqüentes nas áreas descobertas do corpo. O quadro imunológico é caracterizado por uma resposta imune do tipo Th1 moderada e bem regulada contra a leishmania (2). Até 4% dos pacientes de LC evoluem para LM, que consiste na mais grave complicação da leishmaniose tegumentar americana. A LM afeta sobretudo as mucosas oral, nasal e faríngea, sendo a resposta do hospedeiro aos antígenos do parasito caracterizada pela produção exacerbada das citocinas inflamatórias TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  (3,36).

Além das formas cutânea localizada e mucosa, uma forma emergente tem sido identificada no estado da Bahia, denominada de leishmaniose disseminada (LD) pelos investigadores que a têm descrito e

caracterizado (15,16,50). A LD se caracteriza pela presença de grande número de lesões acneiformes, papulares e ulceradas, distribuídas por mais de uma área da superfície corpórea dos pacientes. As células imunes desses indivíduos produzem menos TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  frente à estimulação com antígenos de leishmania que aquelas de pacientes de LC (50). Desde cedo foi percebido que a LD se tratava de uma nova entidade clínica (15,16) diferente da leishmaniose cutânea difusa, normalmente causada pela *L. amazonensis*. A emergência da LD é a expressão clínica da grande capacidade de diversificação e adaptação da *L. braziliensis*, também refletidas em sua habilidade de colonizar novos ecótopos, o que lhe confere uma ampla distribuição geográfica no continente americano (18,19,28).

Diversos estudos epidemiológicos têm tentado associar a forma de LTA a subpopulações de *L. braziliensis* genotipicamente ou fenotipicamente distintas. Empregos de isolados provenientes de áreas geográficas distantes e de múltiplas fontes (*e.g.* vetores, reservatórios e hospedeiros humanos HIV<sup>+</sup> e HIV<sup>-</sup>) em uma mesma avaliação são alguns dos motivos que têm dificultado essas análises. Visando a minorar esses problemas, um estudo de Schriefer *et al.* (45) avaliou detalhadamente a estrutura populacional da *L. braziliensis* em uma área endêmica para LTA, bem delimitada no sudeste do estado da Bahia. Essa área, denominada de Corte de Pedra, compreende vinte municípios, estendendo-se por, aproximadamente, 10.000 Km<sup>2</sup>, em uma faixa coberta pela Mata Atlântica (Figura 1), onde as três formas de doença secundárias à *L. braziliensis*, acima descritas, podem ser encontradas.

O polimorfismo genotípico entre as *L. braziliensis* provenientes de casos de LC, LM e LD de Corte de Pedra foi avaliado empregando-se diversos protocolos de RAPD (*Randomly Amplified Polymorphic DNA*) como ferramentas. Para cada parasita testado, o RAPD gera um perfil eletroforético de bandas, o genótipo molecular, que é comparado com aqueles dos outros integrantes da amostra avaliada, permitindo inferir sobre a homogeneidade genética dos microorganismos da região. Os resultados desse estudo revelaram uma população polimórfica com estrutura

multiclinal, formada por diversas subpopulações, denominadas de clados, correspondentes a grupos de clones genotipicamente mais semelhantes entre si (Figura 2). Contudo, uma das principais contribuições desse trabalho foi a detecção de uma associação estatisticamente significativa entre clados de *L. braziliensis* e a forma da doença humana em Corte de Pedra (Tabela 1).

A identificação de uma população com estrutura multiclinal e da associação entre clados do parasito e forma de leishmaniose abrem a perspectiva de se detectar polimorfismos cepa-específicos para as *L. braziliensis*. Esses marcadores genéticos poderiam ser explorados no desenvolvimento de ferramentas diagnósticas com valor preditivo sobre os desfechos das doenças e respostas terapêuticas dos pacientes. Seu principal emprego seria no melhor manejo dos casos de LM. A identificação de infecções por cepas associadas à LM permitiria um acompanhamento mais cuidadoso dos pacientes envolvidos, mesmo após a cura da lesão inicial na pele, maximizando o diagnóstico de acometimentos metastáticos em estágios precoces e ajudando no combate às formas mais mutilantes.

Dois estudos recentes por Saravia et al.<sup>(42,43)</sup> na Colômbia somam-se aos achados acima para reforçar a importância da variabilidade intra-específica da *L. braziliensis* na forma de LTA. Os autores avaliaram os perfis isoenzimáticos e de reatividade contra um painel de anticorpos monoclonais de mais de mil parasitas de diferentes espécies, isolados de casos humanos de LC e LM. Em um dos trabalhos, foi detectada uma frequência aumentada de envolvimento de mucosas entre casos humanos secundários à infecção por um determinado zimodema de *L. braziliensis*<sup>(42)</sup>. No outro, achados semelhantes foram descritos para um grupo de cepas sorologicamente nulas dessa espécie<sup>(43)</sup>. Além do mais, a evolução da doença naqueles infectados com parasitos do zimodema referido no primeiro estudo acima mostrou-se estatisticamente mais longa ( $p=0,002$ ) do que aquela causada por outras cepas<sup>(42)</sup>.

Dados experimentais, recentemente publicados<sup>(31,46)</sup>, reforçam os achados epidemiológicos sobre a importância da variabilidade intra-específica da *L.*

*braziliensis* no curso da LTA. Indiani et al.<sup>(31)</sup> e Teixeira et al.<sup>(46)</sup> mostraram que *L. braziliensis* obtidas de diferentes formas de doença humana, ou provenientes de áreas geográficas diversas podem apresentar comportamentos biológicos distintos em animais de laboratório. No primeiro estudo, foram comparados dois isolados clínicos provenientes de casos de LC: um do Ceará (H3227), outro da Bahia (BA788). À inoculação na pata, camundongos BALB/c infectados com H3227 desenvolveram lesão, ao passo que aqueles infectados com BA788, não. Além disso, a comparação das células provenientes dos linfonodos responsáveis pela drenagem dos sítios de inoculação mostrou diferenças entre os dois grupos de animais. Células obtidas com pouco tempo de infecção por BA788 produziram significativamente mais interferon gama, enquanto que células de camundongos infectados com H3227, obtidas mais tardiamente, mostraram-se maiores produtoras de IL-12p70 e IL-10. Reforçando o papel da variabilidade intra-específica entre *L. braziliensis* na resposta imune do hospedeiro, o segundo trabalho mostrou que cepas distintas eram capazes de induzir diferentes cinéticas de expressão de quimiocinas nos sítios de inoculação nos animais, o que era acompanhado de recrutamentos celulares e respostas inflamatórias diversos nesses locais.

### **O Desafio que a Variabilidade entre as Leishmanias Impõe sobre o Tratamento e a Prevenção das Leishmanioses**

Embora fatores dos hospedeiros e dos parasitas componham os cenários que condicionam os vários desfechos clínicos e terapêuticos das leishmanioses, certamente as leishmanias constituem os alvos principais para o controle das endemias. Isso torna a marcante e aparentemente crescente variabilidade dos integrantes do gênero um desafio a ser enfrentado para o efetivo tratamento e profilaxia dessas doenças. Dois estudos ilustram bem como os pontos em comum entre esses microorganismos podem ser detectados e explorados com esses objetivos. De Sousa et al.<sup>(21)</sup> mostraram que o gene da DNA topoisomerase II (TOP2) da *L.*

**Figura 1.** Mapa da Bahia destacando em cinza a localização dos municípios do sudeste do estado que perfazem a área endêmica para leishmaniose tegumentar americana denominada Corte de Pedra.

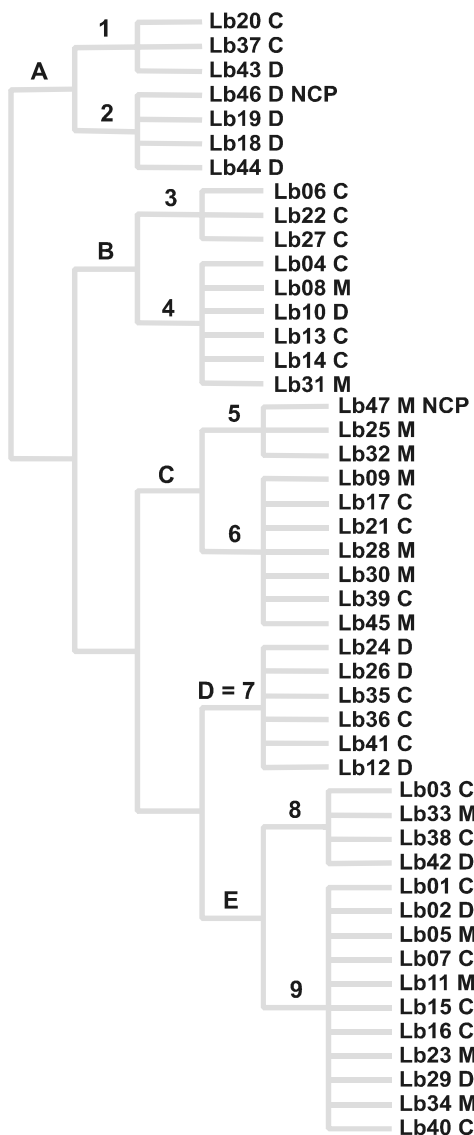


**Tabela 1.** Distribuição das frequências de casos humanos de leishmaniose cutânea localizada (LC), mucosa (LM) e disseminada (LD) entre três grupos de clados de *Leishmania braziliensis* (descritos na Figura 2) existentes na área endêmica para leishmaniose tegumentar americana de Corte de Pedra/BA.

CLADOS	LC	LM	LD	n
A+D	5*	0**	8***	13
B+E	13*	7**	4***	24
C	3*	7**	0***	10
n	21	14	12	47

\*p=0,001, \*\*p=0,03, \*\*\*p=0,02, frequências comparadas por quiquadrado.

**Figura 2.** Dendrograma mostrando os cinco clados (A a E) e os nove clones (1 a 9) de *Leishmania braziliensis* (Lb) existentes na área endêmica para leishmaniose tegumentar americana de Corte de Pedra. A estratificação dos 47 (números 1 a 47 nas extremidades dos galhos terminais) parasitas isolados de casos clínicos de leishmaniose cutânea (C), mucosa (M) e disseminada (D), distribuídos na árvore, foi realizada com base em seus genótipos moleculares por meio de *unweighted pair group matrix analysis* (UPGMA) conforme a referência<sup>(45)</sup>. Os dois isolados contendo a notação NCP são provenientes do estado da Bahia, porém não pertencentes a Corte de Pedra.





*chagasi* apresenta elevado grau de homologia com aqueles de outras espécies de *Leishmania*, em contraste com uma baixa identidade ao TOP2 humano. Uma vez que a DNA topoisomerase II é uma enzima essencial para a replicação celular, esses achados apontam um caminho para o desenvolvimento de novas modalidades de tratamento com amplo espectro contra esses parasitas. Já De Carvalho et al. <sup>(20)</sup> identificaram antígenos imunodominantes que, a despeito de terem sido originalmente obtidos de *L. infantum*, são reconhecidos por células e anticorpos de pacientes de diferentes formas de LTA e LVA, sugerindo que o desenvolvimento de um único reagente para a imunoprofilaxia das leishmanioses, embora difícil, é uma tarefa factível.

## Referências Bibliográficas

- Almeida RP, Barral-Netto M, De Jesus AM, De Freitas LA, Carvalho EM, Barral A. Biological behavior of *Leishmania amazonensis* isolated from humans with cutaneous, mucosal, or visceral leishmaniasis in BALB/C mice. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 54:178-184, 1996.
- Azulay RD & Azulay Junior DR. Immune-clinical-pathologic spectrum of leishmaniasis. *International Journal of Dermatology* 34: 303-307, 1995.
- Bacellar O, Lessa HA, Schriefer A, Machado P, Ribeiro de Jesus A, Dutra WO, Gollob KJ, Carvalho EM. Up-regulation of Th1-type responses in mucosal leishmaniasis patients. *Infection and Immunity* 70: 6734-6740, 2002.
- Badaro R, Carvalho EM, Rocha H, Queiroz AC, Jones TC. *Leishmania donovani*: an opportunistic microbe associated with progressive disease in three immunocompromised patients. *The Lancet* 22: 647-649, 1986.
- Banuls AL, Hide M, Tibayrenc M. Molecular epidemiology and evolutionary genetics of *Leishmania* parasites. *International Journal of Parasitology* 29: 1137-1147, 1999.
- Barbosa Junior AA, Andrade ZA, Reed SG. The pathology of experimental visceral leishmaniasis in resistant and susceptible lines of inbred mice. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 20: 63-72, 1987.
- Barral A, Badaro R, Barral-Netto M, Grimaldi G Jr, Momen H, Carvalho EM. Isolation of *Leishmania mexicana amazonensis* from the bone marrow in a case of American visceral leishmaniasis. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 35: 732-734, 1986.
- Barral A, Pedral-Sampaio D, Grimaldi Junior G, Momen H, McMahon-Pratt D, Ribeiro de Jesus A, Almeida R, Badaro R, Barral-Netto M, Carvalho EM. Leishmaniasis in Bahia, Brazil: evidence that *Leishmania amazonensis* produces a wide spectrum of clinical disease. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 44: 536-546, 1991.
- Barral A, Costa JM, Bittencourt AL, Barral-Netto M, Carvalho EM. Polar and subpolar diffuse cutaneous leishmaniasis in Brazil: clinical and immunopathologic aspects. *International Journal of Dermatology* 34: 474-479, 1995.
- Barral-Netto M, Cardoso SA, Barral A. Different patterns of disease in two inbred mouse strains infected with a clone of *Leishmania mexicana amazonensis*. *Acta Tropica* 44: 5-11, 1987.
- Barral-Netto M, da Silva JS, Barral A, Reed S. Up-regulation of T helper 2 and down-regulation of T helper 1 cytokines during murine retrovirus-induced immunodeficiency syndrome enhances susceptibility of a resistant mouse strain to *Leishmania amazonensis*. *American Journal of Pathology* 146: 635-642, 1995.
- Belhadj S, Pratlong F, Hammami M, Kallel K, Dedet JP, Chaker E. Human cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania infantum* in the Sidi Bourouis focus (Northern Tunisia): epidemiological study and isoenzymatic characterization of the parasites. *Acta Tropica* 85: 83-86, 2003.
- Bittencourt AL, Barral A, Costa JM, Saldanha AC, Badaro F, Barral-Netto M, Freitas LA. Diffuse cutaneous leishmaniasis with atypical aspects. *International Journal of Dermatology* 31: 568-570, 1992.
- Bittencourt A, Silva N, Straatmann A, Correia Nunes VL, Follador I, Badaró R. Post-kala-azar Dermal Leishmaniasis Associated With AIDS. *Brazilian Journal of Infectious Diseases* 7: 229-233, 2003.
- Carvalho EM, Barral A, Costa JM, Bittencourt A, Marsden P. Clinical and immunopathological aspects of disseminated cutaneous leishmaniasis. *Acta Tropica* 56: 315-325, 1994.
- Costa JM, Marsden PD, Llanos-Cuentas EA, Netto EM, Carvalho EM, Barral A, Rosa AC, Cuba CC, Magalhaes AV, Barreto AC. Disseminated cutaneous leishmaniasis in a field clinic in Bahia, Brazil: a report of eight cases. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 89: 319-323, 1986.
- Croan DG, Morrison DA, Ellis JT. Evolution of the genus *Leishmania* revealed by comparison of DNA and RNA polymerase gene sequences. *Molecular and Biochemical Parasitology* 89: 149-159, 1997.
- Cupolillo E, Grimaldi G Jr, Momen H. A general classification of New World *Leishmania* using numerical zymotaxonomy. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 50: 296-311, 1994.

19. Cupolillo E, Brahim LR, Toaldo CB, de Oliveira-Neto MP, de Brito ME, Falqueto A, de Farias Naiff M, Grimaldi G Jr. Genetic polymorphism and molecular epidemiology of *Leishmania (Viannia) braziliensis* from different hosts and geographic areas in Brazil. *Journal of Clinical Microbiology* 41: 3126-3132, 2003.
20. de Carvalho LP, Soto M, Jeronimo S, Dondji B, Bacellar O, Luz V, Orge Orge G, Alonso C, Jesus AR, Carvalho EM. Characterization of the immune response to *Leishmania infantum* recombinant antigens. *Microbes and Infection* 5: 7-12, 2003.
21. De Sousa JM, Lareau SM, Pearson RD, Carvalho EM, Mann BJ, Jerônimo SM. Characterization of *Leishmania chagasi* DNA topoisomerase II: a potential chemotherapeutic target. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 35: 826-829, 2003.
22. El Tai NO, El Fari M, Mauricio I, Miles MA, Oskam L, El Safi SH, Presber WH, Schonian G. *Leishmania donovani*: intraspecific polymorphisms of Sudanese isolates revealed by PCR-based analyses and DNA sequencing. *Experimental Parasitology* 97: 35-44, 2001.
23. Falcoff R, Barral-Netto M, Stiffel C, Bouthillier Y, Barral A, Freitas LA, Mevel JC, Mouton D. Variations in susceptibility to *Leishmania amazonensis* infection in lines of mice selected for high or low immunoresponsiveness. *Parasite Immunology* 13: 639-647, 1991.
24. Frank C, Hadziandoniou M, Pratlong F, Garifallou A, Rioux JA. *Leishmania tropica* and *Leishmania infantum* responsible for cutaneous leishmaniasis in Greece: sixteen autochthonous cases. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 87: 184-185, 1993.
25. Gallego M, Pratlong F, Fisa R, Riera C, Rioux JA, Dedet JP, Portus M. The life-cycle of *Leishmania infantum* MON-77 in the Priorat (Catalonia, Spain) involves humans, dogs and sandflies; also literature review of distribution and hosts of *L. infantum* zymodemes in the Old World. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 95: 269-271, 2001.
26. Gallego M, Pratlong F, Riera C, Munoz C, Ribera E, Fisa R, Rioux JA, Dedet JP, Portus M. Isoenzymatic identification of *Leishmania* isolates from repeated clinical human leishmaniasis episodes in Catalonia (Spain). *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 96: 45-47, 2002.
27. Gramiccia M, Gradoni L, Troiani M. Heterogeneity among zymodemes of *Leishmania infantum* from HIV-positive patients with visceral leishmaniasis in south Italy. *FEMS Microbiology Letters* 128: 33-38, 1995.
28. Grimaldi G Jr, David JR, McMahon-Pratt D. Identification and distribution of New World *Leishmania* species characterized by serodeme analysis using monoclonal antibodies. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 36: 270-287, 1987.
29. Harrat Z, Pratlong F, Belazzoug S, Dereure J, Deniau M, Rioux JA, Belkaid M, Dedet JP. *Leishmania infantum* and *L. major* in Algeria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 90: 625-629, 1996.
30. Hide M, Banuls AL, Tibayrenc M. Genetic heterogeneity and phylogenetic status of *Leishmania (Leishmania) infantum* zymodeme MON-1: epidemiological implications. *Parasitology* 123: 425-432, 2001.
31. Indiani de Oliveira C, Teixeira MJ, Teixeira CR, Ramos de Jesus J, Bomura Rosato A, Santa da Silva J, Brodskyn C, Barral-Netto M, Barral A. *Leishmania braziliensis* isolates differing at the genome level display distinctive features in BALB/c mice. *Microbes and Infection* 6: 977-984, 2004.
32. Jimenez M, Ferrer-Dufol M, Canavate C, Gutierrez-Solar B, Molina R, Laguna F, Lopez-Velez R, Cercenado E, Dauden E, Blazquez J. Variability of *Leishmania (Leishmania) infantum* among stocks from immunocompromised, immunocompetent patients and dogs in Spain. *FEMS Microbiology Letters* 131: 197-204, 1995.
33. Leon LL, Machado GM, Paes LE, Grimaldi Junior G. Antigenic differences of *Leishmania amazonensis* isolates causing diffuse cutaneous leishmaniasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 84: 678-680, 1990.
34. Leon LL, Machado GM, Barral A, de Carvalho-Paes LE, Grimaldi Junior G. Antigenic differences among *Leishmania amazonensis* isolates and their relationship with distinct clinical forms of the disease. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 87: 229-234, 1992.
35. Marsden PD & Jones TC. *Leishmaniasis*. 1ª Edição, Elsevier Science Publisher: Amsterdam, 1985.
36. Marsden PD. Mucosal leishmaniasis ("espundia" Escomel, 1911). *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 80: 859-876, 1986.
37. Mauricio IL, Howard MK, Stothard JR, Miles MA. Genomic diversity in the *Leishmania donovani* complex. *Parasitology* 119: 237-246, 1999.
38. Mauricio IL, Stothard JR, Miles MA. The strange case of *Leishmania chagasi*. *Parasitology Today* 16: 188-189, 2000.
39. Pratlong F, Dedet JP, Marty P, Portus M, Deniau M, Dereure J, Abranches P, Reynes J, Martini A, Lefebvre M. *Leishmania*-human immunodeficiency virus coinfection in the Mediterranean basin: isoenzymatic characterization of 100 isolates of the *Leishmania infantum* complex. *Journal of Infectious Diseases* 172: 323-326, 1995.
40. Pratlong F, Rioux JA, Marty P, Faraut-Gambarelli F, Dereure J, Lanotte G, Dedet JP. Isoenzymatic analysis of 712 strains of *Leishmania infantum* in the south of France and relationship of enzymatic polymorphism to clinical and epidemiological features. *Journal of Clinical Microbiology* 42: 4077-4082, 2004.

41. Reiner NE, Lo R, Llanos-Cuentas A, Guerra H, Button LL, McMaster WR. Genetic heterogeneity in Peruvian *Leishmania* isolates. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 41: 416-421, 1989.
42. Saravia NG, Segura I, Holguin AF, Santrich C, Valderrama L, Ocampo C. Epidemiologic, genetic, and clinical associations among phenotypically distinct populations of *Leishmania (Viannia)* in Colombia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 59: 86-94, 1998.
43. Saravia NG, Weigle K, Navas C, Segura I, Valderrama L, Valencia AZ, Escorcía B, McMahon-Pratt D. Heterogeneity, geographic distribution, and pathogenicity of serodemes of *Leishmania viannia* in Colombia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 66: 738-744, 2002.
44. Schonian G, Schnur L, El Fari M, Oskam L, Kolesnikov AA, Sokolowska-Köhler W, Presber W. Genetic heterogeneity in the species *Leishmania tropica* revealed by different PCR-based methods. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 95: 217-224, 2001.
45. Schriefer A, Schriefer ALF, Góes-Neto A, Gimações LH, Carvalho LP, Almeida RP, Machado PR, Lessa HA, Ribeiro de Jesus A, Riley LH, Carvalho EM. Multiclonal *Leishmania braziliensis* population structure and its clinical implication in a region of endemicity for American tegumentary leishmaniasis (ATL). *Infection and Immunity* 72: 508-514, 2004.
46. Teixeira MJ, Fernandes JD, Teixeira CR, Andrade BB, Pompeu ML, Santana da Silva J, Brodskyn CI, Barral-Netto M, Barral A. Distinct *Leishmania braziliensis* isolates induce different paces of chemokine expression patterns. *Infection and Immunity* 73: 1191-1195, 2005.
47. Thomaz-Soccol V, Lanotte G, Rioux JA, Pratlong F, Martini-Dumas A, Serres E. Phylogenetic Taxonomy of New World *Leishmania*. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparee* 68: 104-106, 1993.
48. Thomaz-Soccol V, Lanotte G, Rioux JA, Pratlong F, Martini-Dumas A, Serres E. Monophyletic origin of the genus *Leishmania* Ross, 1903. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparee* 68: 107-108, 1993.
49. Toledo A, Martin-Sanchez J, Pesson B, Sanchiz-Marin C, Morillas-Marquez F. Genetic variability within the species *Leishmania infantum* by RAPD. A lack of correlation with zymodeme structure. *Molecular and Biochemical Parasitology* 119: 257-264, 2002.
50. Turetz ML, Machado PR, Ko AI, Alves F, Bittencourt A, Almeida RP, Mobashery N, Johnson WD Jr, Carvalho EM. Disseminated leishmaniasis: a new and emerging form of leishmaniasis observed in northeastern Brazil. *Journal of Infectious Diseases* 186: 1829-1834, 2002.
51. World Health Organization. Extraído de <http://www.who.int/topics/leishmaniasis>.