

Patologia das Doenças 3

Yvanna Carla de Souza Salgado
(Organizadora)



 **Atena**
Editora

Ano 2018

2018 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Geraldo Alves e Natália Sandrini

Revisão: Os autores

Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

P312 Patologia das doenças 3 [recurso eletrônico] / Organizadora Yvanna Carla de Souza Salgado. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2018. – (Patologia das Doenças; v. 3)

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-85107-86-4

DOI 10.22533/at.ed.864181411

1. Doenças transmissíveis. 2. Patologia. I. Salgado, Yvanna Carla de Souza. II. Série.

CDD 616.9

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

2018

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

www.atenaeditora.com.br

Yvanna Carla de Souza Salgado

(Organizadora)

Patologia das Doenças

3

Atena Editora
2018

APRESENTAÇÃO

As obras “Aspectos das Doenças Tropicais II e III” abordam uma série de livros de publicação da Atena Editora. Em seu volume II e III, apresentam em seus capítulos, aspectos gerais e epidemiológicos das doenças tropicais analisados em algumas regiões brasileiras.

As doenças tropicais são assim designadas por se tratarem de um conjunto de doenças infecciosas que ocorrem nas regiões tropicais e subtropicais. Em uma ação que objetiva a avaliação dos indicadores globais e o combate e controle dessas doenças, a Organização Mundial da Saúde lançou uma classificação de “doenças tropicais negligenciadas” para agrupar as doenças tropicais endêmicas, causadas por agentes infecciosos ou parasitas principalmente entre a população mais carente e, cuja prevenção e controle são dificultados pela escassez de investimentos.

Essas doenças afetam especialmente as populações pobres da África, Ásia e América Latina. Juntas, causando aproximadamente entre 500 mil a um milhão de óbitos anualmente, segundo dados da Organização Mundial da Saúde. Segundo o relatório da Organização Mundial da Saúde de 2017, na América Latina e no Caribe, estima-se que 46 milhões de crianças vivem em áreas de alto risco de infecção ou reinfecção com helmintos transmitidos pelo solo e 70,2 milhões estão em risco de doença de Chagas. Mais de 33 mil novos casos de hanseníase e mais de 51 mil casos de leishmaniose cutânea são relatados nas Américas a cada ano. Além disso, 70 milhões de pessoas na região estão em risco de doença de Chagas e 25 milhões sofrem de esquistossomose.

Neste volume III, dedicado às Doenças Tropicais, reunimos um compilado de artigos com estudos dirigidos sobre Doença de Chagas, Leishmaniose, Esquistossomose, Enteroparasitoses, Hanseníase e Raiva em regiões brasileiras, com o intuito de ampliar o conhecimento dos dados epidemiológicos, contribuindo assim para a formulação de políticas públicas de apoio dirigidas às diferentes características regionais deste país continental.

A obra é fruto do esforço e dedicação das pesquisas dos autores e colaboradores de cada capítulo e da Atena Editora em elaborar este projeto de disseminação de conhecimento e da pesquisa brasileira. Espero que este livro possa permitir uma visão geral e regional das doenças tropicais e inspirar os leitores a contribuírem com pesquisas para a promoção de saúde e bem estar social.

Yvanna Carla de Souza Salgado

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
DOENÇA DE CHAGAS NO BRASIL: NOTIFICAÇÕES DE CASOS AGUDOS NO PERÍODO DE 2000 A 2013	
<i>Tiago Ferreira Dantas</i>	
<i>Thaiane do Carmo Wanderley</i>	
<i>Ririslâyne Barbosa da Silva</i>	
<i>Maria Eduarda Guimarães Barros Suruagy do Amaral</i>	
<i>Erika Priscilla Lopes Cordeiro</i>	
<i>Francisca Maria Nunes da Silva</i>	
CAPÍTULO 2	7
VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA DA DOENÇA DE CHAGAS EM ALAGOAS	
<i>Layanna Bezerra Nascimento</i>	
<i>Lucas Roberto da Silva Barbosa</i>	
<i>Rafaella Lima dos Santos</i>	
<i>Rodrigo Daudt Tenório</i>	
<i>Thalita Ferreira Torres</i>	
<i>Marina Valdez Santos</i>	
CAPÍTULO 3	15
SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-T.CRUIZI DE TIAZÓIS	
<i>Lucianna Rabêlo Pessoa de Siqueira</i>	
<i>Miria de Oliveira Barbosa</i>	
<i>Arsênio Rodrigues Oliveira</i>	
<i>Gevanio Bezerra de Oliveira Filho</i>	
<i>Marcos Victor Gregório Oliveira</i>	
<i>Thiago André Ramos dos Santos</i>	
<i>Valéria Rêgo Alves Pereira</i>	
<i>Ana Cristina Lima Leite</i>	
CAPÍTULO 4	25
IDENTIFICAÇÃO DE FÁRMACOS CONTRA TRYPANOSOMA CRUIZI ATRAVÉS DE ESTRATÉGIA DE QUIMIOTERAPÊUTICA POR REPOSICIONAMENTO	
<i>Wanessa Moreira Goes</i>	
<i>Juliana Rodrigues</i>	
<i>Renato Beilner Machado</i>	
<i>Taízy Leda Tavares</i>	
<i>Francesca Guaracyaba Garcia Chapadense</i>	
<i>Moisés Moraes Inácio</i>	
<i>Pedro Vitor Lemos Cravo</i>	
CAPÍTULO 5	35
INCIDÊNCIA DE DOENÇAS PARASITÁRIAS DE NOTIFICAÇÃO COMPULSÓRIA EM ALAGOAS: TRIPANOSSOMÍASE AMERICANA	
<i>Rafael dos Santos Nascimento</i>	
<i>Amanda Cavalcante de Macêdo</i>	
CAPÍTULO 6	41
A IMPORTÂNCIA DA EQUIPE MULTIDISCIPLINAR DA SAÚDE NO ACOMPANHAMENTO DO PACIENTE CHAGÁSICO	
<i>Gabriela Correia de Araújo Novais</i>	
<i>Bárbara Tenório de Almeida</i>	
<i>Caroline Montenegro Silva</i>	
<i>Laís Virgínia de Lima Silva</i>	
<i>Gabriela Castro Guimarães</i>	
<i>Rodrigo Daudt Tenório</i>	
<i>Gabriela Souto Vieira de Mello</i>	

CAPÍTULO 7	48
ASPECTOS SOCIOECONÔMICOS E EPIDEMIOLÓGICOS DA LEISHMANIOSE VISCERAL NO ESTADO DO MATO GROSSO – 2012 A 2016	
<i>Rafaela Freitas</i>	
<i>Andressa Quadros Alba</i>	
<i>Paulo Sérgio de Souza Leite Segura</i>	
CAPÍTULO 8	56
LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA: CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E MOLECULAR DAS ESPÉCIES DE LEISHMANIA PREVALENTES NA REGIÃO DE SAÚDE DE PORTO NACIONAL - TOCANTINS, BRASIL, 2011-2015	
<i>Joandson dos Santos Souza</i>	
<i>Danilo Carvalho Guimarães</i>	
<i>Bruna Silva Resende</i>	
<i>Cálita Pollyanna Marques</i>	
<i>Miriam Leandro Dorta</i>	
<i>Carina Scolari Gosch</i>	
CAPÍTULO 9	70
AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE LEISHMANIOSE VISCERAL EM RELAÇÃO A LOCALIZAÇÃO GEOGRÁFICA EM MONTES CLAROS-MG	
<i>Jefferson Oliveira Silva</i>	
<i>Anna Clara A. Silveira</i>	
<i>Fernando Fialho Pires</i>	
<i>Amanda Evellyn Macedo Silva</i>	
<i>Fernanda Santana da Silva</i>	
<i>Fabiana da Silva Vieira Matrangolo</i>	
CAPÍTULO 10	72
AVALIAÇÃO DA IMUNOGENICIDADE DE CÉLULAS DENDRÍTICAS ESTIMULADAS COM PEPTÍDEOS RECOMBINANTES DE LEISHMANIA VIANNIA BRAZILIENSES	
<i>Ailton Alvaro da Silva</i>	
<i>Rafael de Freitas e Silva</i>	
<i>Beatriz Coutinho de Oliveira</i>	
<i>Maria Carolina Accioly Brelaz-de-Castro</i>	
<i>Luiz Felipe Gomes Rebello Ferreira</i>	
<i>Marcelo Zaldini Hernandez</i>	
<i>Oswaldo Pompílio de Melo Neto</i>	
<i>Antônio Mauro Rezende</i>	
<i>Valéria Rêgo Alves Pereira</i>	
CAPÍTULO 11	88
DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO DAS LEISHMANIOSES: COMPARAÇÃO ENTRE A CITOMETRIA DE FLUXO E MÉTODOS CONVENCIONAIS	
<i>Beatriz Coutinho de Oliveira</i>	
<i>Andresa Pereira de Oliveira Mendes</i>	
<i>Elis Dionísio da Silva</i>	
<i>Allana Maria de Souza Pereira</i>	
<i>Maria Carolina Accioly Brelaz de Castro</i>	
<i>Maria Edileuza Felinto de Brito</i>	
<i>Valéria Rêgo Alves Pereira</i>	
CAPÍTULO 12	103
UTILIZAÇÃO DO SWAB NO SERVIÇO DE REFERÊNCIA EM LEISHMANIOSES DO INSTITUTO AGGEU MAGALHÃES,	

PARA O DIAGNÓSTICO DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA

Angélica Olivino da Silva
Maria Edileuza Felinto de Brito
Sinval Pinto Brandão-Filho
Roberto Pereira Werkhäuser
Eduardo Henrique Gomes Rodrigues

CAPÍTULO 13..... 113

ALTERAÇÕES DO EQUILÍBRIO HIDROELETROLÍTICO NO TRATAMENTO DA COINFECÇÃO LEISHMANIA – HIV

Ray Almeida da Silva Rocha
Iran Roger Alkimin de Oliveira Júnior
Paula Silva Aragão
Bruna Silva Resende
Alexandre Janotti
Carina Scolari Gosch

CAPÍTULO 14..... 123

AVALIAÇÃO DA EFETIVIDADE DOS INQUÉRITOS SOROLÓGICOS CANINOS COMO AÇÃO DE VIGILÂNCIA E CONTROLE DA LEISHMANIOSE VISCERAL NA REGIÃO DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO

Denise Maria Bussoni Bertollo
Jose Eduardo Tolezano

CAPÍTULO 15..... 134

PANORAMA EPIDEMIOLÓGICO DA ESQUISTOSSOMOSE NO NORDESTE BRASILEIRO

Alexandre Wendell Araujo Moura
Everly Santos Menezes
Jean Moisés Ferreira
Adriely Ferreira da Silva
Ana Caroline Melo dos Santos
Willian Miguel
Denise Macêdo da Silva
Edilson Leite de Moura
Karol Fireman de Farias
Elaine Virgínea Martins de Souza Figueiredo

CAPÍTULO 16..... 148

MECANISMO DE AGRESSÃO E DEFESA DA ESQUISTOSSOMOSE: UMA VISÃO DIRECIONADA A REGULAÇÃO DA THO E A EOSINOFILIA

Gabriela Castro Guimarães
Laís Virgínia de Lima Silva
Caroline Montenegro Silva
Bárbara Tenório de Almeida
Gabriela Correia de Araújo Novais
Rodrigo Daudt Tenório
Cristiane Monteiro da Cruz

CAPÍTULO 17 155

SUSCETIBILIDADE DE MOLUSCOS *B. GLABRATA* A INFECÇÃO POR *SCHISTOSOMA MANSONI*, EM ÁREA PERIURBANA DE SÃO LUÍS, MA: UMA REVISÃO

Iramar Borba de Carvalho
Renato Mendes Miranda
Clícia Rosane Costa França Nino
Dorlam's da Silva Oliveira
Renato Juvino de Aragão Mendes
Adalberto Alves Pereira Filho
Inaldo de Castro Garros
Ivone Garros Rosa

CAPÍTULO 18	161
TECNOLOGIAS EDUCATIVAS COMO INSTRUMENTOS PARA O CONHECIMENTO E COMBATE DE AGENTES DE DOENÇAS INFECCIOSAS E PARASITÁRIAS	
<i>Edemilton Ribeiro Santos Junior</i>	
<i>Ligia Maffei Carnevalli</i>	
<i>Luiz Henrique Silva Mota</i>	
<i>Raíssa da Silva Santos</i>	
<i>Rebeca Correa Rossi</i>	
<i>João Victor Vieira Alves</i>	
<i>Ana Lúcia Moreno Amor</i>	
CAPÍTULO 19	174
LEVANTAMENTO DOS PRINCIPAIS ENTEROPARASITAS EM ESCOLARES QUILOMBOLA NO MUNICÍPIO DE MACAPÁ, AMAPÁ	
<i>Rubens Alex de Oliveira Menezes</i>	
<i>Margarete do Socorro Mendonça Gomes</i>	
CAPÍTULO 20	187
FREQUÊNCIA DE PARASITÓSES INTESTINAIS: UM ESTUDO COM CRIANÇAS DE UMA CRECHE PÚBLICA E PARTICULAR NO MUNICÍPIO DE MACAPÁ, AMAPÁ, BRASIL	
<i>Rubens Alex de Oliveira Menezes</i>	
<i>Margarete do Socorro Mendonça Gomes</i>	
CAPÍTULO 21	204
HEMODIALISADOS E INFECÇÃO POR ENTEROPARASITÓSES	
<i>Bianca Teshima de Alencar</i>	
<i>Noely Machado Vieira</i>	
<i>Antonio Francisco Malheiros</i>	
CAPÍTULO 22	211
ALTERAÇÕES LABORATORIAIS NA FASCIOLÍASE	
<i>Yuho Matsumoto</i>	
<i>Valeria Paes Lima Fernandes</i>	
<i>Walcyamar Pereira Santiago</i>	
<i>Shiguero Ofugi</i>	
<i>Cleudson Nery de Castro</i>	
CAPÍTULO 23	213
ASPECTOS GERAIS DA HANSENÍASE	
<i>Luana Nepomuceno Gondim Costa Lima</i>	
<i>Everaldina Cordeiro dos Santos</i>	
<i>Jasna Leticia Pinto Paz</i>	
<i>Karla Valéria Batista Lima</i>	
CAPÍTULO 24	236
PERFIL EPIDEMIOLÓGICO E CLÍNICO DA HANSENÍASE NO NORDESTE BRASILEIRO	
<i>Layanne Almeida Cezário</i>	
<i>Carla Bomfim Silva</i>	
<i>Margé Rufino Nascimento da Silva</i>	
<i>Lealdo Rodrigues de Andrade Filho</i>	
<i>Givânia Bezerra de Melo</i>	
<i>Maria Anilda dos Santos Araújo</i>	
CAPÍTULO 25	249
HANSENÍASE EM MATO GROSSO, AMAZÔNIA LEGAL, BRASIL, 2005-2016	
<i>Tony José de Souza</i>	

Hélio Campos de Jesus
Júlia Maria Vicente de Assis
Marina Atanaka

CAPÍTULO 26 263

SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA HANSENÍASE EM SÃO MATEUS, ESPÍRITO SANTO ENTRE 2010 A 2015

Murilo S. Costa
Blenda de O. Gongô
Lorrane de O. Guerra

CAPÍTULO 27 264

AÇÃO DE INTERVENÇÃO PARA IDENTIFICAÇÃO PRECOCE DE CASOS E CONTATOS DE HANSENÍASE EM UNIDADE DE SAÚDE DA FAMÍLIA DO MUNICÍPIO DE OLINDA - PERNAMBUCO

Janaína Mariana de Araújo Miranda Brito Marques

CAPÍTULO 28 276

GRUPO DE AUTOCUIDADO E PROMOÇÃO DA SAÚDE: UM RELATO DE EXPERIÊNCIA JUNTO A UM GRUPO DE PACIENTES COM HANSENÍASE DE CACOAL-RO

Jessíca Reco Cruz
Cristiano Rodrigue de Souza
Priscilla Cristina dos Santos
Thayanne Pastro Loth
Thereza Christina Torres Pinheiro
Teresinha Cícera Teodora Viana

CAPÍTULO 29 292

NEUROPATIA HANSÊNICA: ACOMETIMENTO DE NERVOS PERIFÉRICOS E O IMPACTO PSICOSSOCIAL

Rodrigo Daudt Tenório
Layanna Bezerra Nascimento
Lucas Roberto da Silva Barbosa
Marina Valdez dos Santos

CAPÍTULO 30 296

LEVANTAMENTO SOBRE A COBERTURA VACINAL ANTIRRÁBICA DE CÃES E GATOS NO PERÍODO DE 2012 A 2014 E SUA ASSOCIAÇÃO COM OS CASOS DE AGRESSÕES A HUMANOS, NO ESTADO DO PIAUÍ

Raissa Paula Araújo Alves
Tibério Barbosa Nunes Neto
Dayane Francisca Higino Miranda
Júlio Cezar da Silva Barros
Inácio Pereira Lima
Nádia Rossi de Almeida
Flaviane Alves de Pinho

SOBRE A ORGANIZADORA 307

AVALIAÇÃO DA IMUNOGENICIDADE DE CÉLULAS DENDRÍTICAS ESTIMULADAS COM PEPTÍDEOS RECOMBINANTES DE *LEISHMANIA VIANNIA BRAZILIENSES*

Ailton Alvaro da Silva

Instituto Aggeu Magalhães/Fiocruz-PE, 50.740-465, Cidade Universitária, Recife, PE, Brasil.

Rafael de Freitas e Silva

Instituto Aggeu Magalhães/Fiocruz-PE, 50.740-465, Cidade Universitária, Recife, PE, Brasil.

Universidade de Pernambuco campus Garanhuns, 55294-902, Garanhuns, PE

Beatriz Coutinho de Oliveira

Instituto Aggeu Magalhães/Fiocruz-PE, 50.740-465, Cidade Universitária, Recife, PE, Brasil.

Maria Carolina Accioly Brelaz-de-Castro

Instituto Aggeu Magalhães/Fiocruz-PE, 50.740-465, Cidade Universitária, Recife, PE, Brasil.

Universidade Federal de Pernambuco – Centro Acadêmico de Vitória (CAV), Vitória de Santo Antão

Luiz Felipe Gomes Rebello Ferreira

Universidade Federal de Pernambuco campus Recife, Dept. de Ciências Farmacêuticas

Marcelo Zaldini Hernandez

Universidade Federal de Pernambuco campus Recife, Dept. de Ciências Farmacêuticas

Oswaldo Pompílio de Melo Neto

Instituto Aggeu Magalhães/Fiocruz-PE, 50.740-465, Cidade Universitária, Recife, PE, Brasil.

Antônio Mauro Rezende

Instituto Aggeu Magalhães/Fiocruz-PE, 50.740-465, Cidade Universitária, Recife, PE, Brasil.

Valéria Rêgo Alves Pereira

Instituto Aggeu Magalhães/Fiocruz-PE, 50.740-465, Cidade Universitária, Recife, PE, Brasil.

RESUMO: As leishmanioses são um grupo de doenças negligenciadas, causadas por protozoários do gênero *Leishmania*, transmitidos pela picada de flebotomíneos infectados. O tratamento utiliza drogas que apresentam algumas limitações, com relatos de resistência dos parasitas. A vacinação, que vem como uma proposta promissora para o controle da doença, deve promover a correta ativação e geração de memória imunológica, e necessita da apresentação de um antígeno ideal por células dendríticas (DCs). Desta forma, o objetivo deste trabalho foi analisar *in vitro*, a imunogenicidade de DCs murinas estimuladas com peptídeos derivados de proteínas de *Leishmania (Viannia) braziliensis*. Para a produção das DCs, foram isoladas células de medula óssea (MO) de camundongos BALB/c. As células foram estimuladas com os peptídeos por 24h e 48h. Após esse período, as células foram marcadas com anticorpos monoclonais: anti-CD11c, anti-CD40, anti-MHC I e anti-MHC II, conjugados à fluorocromos, para análise por citometria de fluxo. Os resultados preliminares das análises demonstraram expressão de todos os marcadores nos intervalos de tempo testados, e é observada uma forte redução na expressão do CD11c, quando comparado ao grupo controle não estimulado. Estes resultados são promissores para futuros estudos de desenvolvimento de uma vacina eficaz no

controle das leishmanioses.

PALAVRAS-CHAVE: Vacina; Leishmaniose; Epítomos peptídicos.

ABSTRACT: Leishmaniasis is a group of neglected diseases caused by protozoans of the genus *Leishmania* and transmitted by the bite of infected sandflies. The drugs used for the treatment present some limitations, with reports of resistance of the parasite. Vaccination comes as a promising proposal to control the disease. It should be able to promote a proper activation and generation of immunological memory, requiring the presentation of an ideal antigen by dendritic cells (DCs). In this sense, the objective of this work was to analyze, *in vitro*, the immunogenicity of murine DCs stimulated with peptides derived from *Leishmania (Viannia) braziliensis* proteins. For the production of the DCs, bone marrow (BM) cells were isolated from BALB/c mice. These cells were stimulated with the peptides for 24h and 48h. After this period, the cells were labeled with monoclonal antibodies: anti-CD11c, anti-CD40, anti-MHC I, anti-MHC II, conjugated to fluorochromes, for flow cytometric analysis. Preliminary results have demonstrated expression of all markers at the time intervals which were tested and a strong reduction at the CD11c expression was observed when compared to the non-stimulated control group. These results are promising for future studies regarding the development of an effective vaccine to control the leishmaniasis.

KEYWORDS: Vaccine; Leishmaniasis; Peptide epitopes.

1 | INTRODUÇÃO

As leishmanioses representam um grupo de doenças tropicais negligenciadas (DTNs) presentes em cerca de 98 países, com relatos de aproximadamente 2 milhões de novos casos de pessoas infectadas por ano (WHO, 2015). Os agentes etiológicos responsáveis por essas doenças são protozoários do gênero *Leishmania* e sua transmissão ocorre no momento em que fêmeas de flebótomos infectadas realizam repasto sanguíneo e injetam os protozoários no hospedeiro vertebrado (MURRAY et al., 2005; WHO, 2015). A leishmaniose pode apresentar as manifestações clínicas tegumentar (LT), mucocutânea (LMC) e a visceral (LV) (CARVALHO et al., 2012).

No tratamento, as drogas de primeira escolha são os antimonialis, , porém, são limitados por serem caros, altamente tóxicos e requerem repetidas doses para atingir a concentração ideal de tratamento (SUNDAR; CHAKRAVARTY, 2010). Outro fator limitante é a resistência ao tratamento pelo parasita (MEHEUS et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2011). Neste contexto, uma vacina segura e eficiente se mostra uma opção de controle viável, uma vez que ela seria capaz de ativar corretamente o sistema imunológico e induzir resposta memória imunológicas adequadas. As células dendríticas (DCs) são as principais apresentadoras de antígenos e sua ativação é espécie específica (GHOSH; BANDYOPADHYAY, 2004). Foi visto que a infecção por *Leishmania (Viannia) braziliensis* (*L. (V.) braziliensis*) está relacionada com a ativação

das DCs e consequente ativação de linfócitos T efetores e a indução de uma resposta imune protetora (VARGAS-INCHAUSTEGUI, D. A.; XIN, L.; SOONG, 2008).

Ademais, frações antigênicas derivadas de outras espécies de *Leishmania* são capazes de induzir a ativação de DCs, estimulando a expressão de moléculas de MHC de classe II e moléculas co-estimulatórias (MASIC et al. 2012).

2 | LEISHMANIA: CICLO DE VIDA E MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Existem pouco mais de 20 espécies de *Leishmania* capazes de causar a doença em humanos (BEAUMIER et al., 2013). Os principais vetores de transmissão do parasita no Velho e Novo Mundo são flebotomíneos do gênero *Phlebotomus* spp. e *Lutzomyia* spp., respectivamente (KILLICK-KENDRICK, 1999). Dentro desse ciclo complexo, também existem as chamadas espécies reservatórios naturais que são importantes no efeito de distribuição da carga parasitária em áreas silvestres.

O parasita pode se apresentar basicamente sob duas fases evolutivas: a promastigota e a amastigota. As formas promastigotas são flageladas, tem alto potencial infectivo e são transmitidas durante a picada do flebotomíneo infectado, onde são regurgitadas (DOSTÁLOVÁ; VOLF, 2012). No hospedeiro, as formas promastigotas após serem fagocitadas, transformam-se em amastigotas. As formas amastigotas se multiplicam através de divisão binária e devido ao grande número de parasitas que podem proliferar no interior das células, provocam o seu rompimento e então são capazes de infectar novas células adjacentes. O ciclo se completa quando o flebotomíneo realiza o repasto sanguíneo, captando células infectadas para o interior de seu trato digestivo, reiniciando o ciclo (WHEELER; GLUENZ; GULL, 2011).

As leishmanioses possuem uma variedade de apresentações clínicas, desde formas tegumentares que podem acometer pele e mucosas, até formas viscerais potencialmente fatais se não tratadas (CARVALHO et al., 2012). Estima-se que ocorram 0,2 – 0,4 milhões de casos de LV e 0,7 – 1,2 milhões de casos de LT (ALVAR et al., 2012), e que provoque de 20 a 30 mil óbitos (WHO, 2015).

A forma cutânea ou tegumentar (LT) das leishmanioses é considerada a forma mais branda da doença e apresenta ampla distribuição em países e territórios do Velho e Novo Mundo (DAVID; CRAFT, 2009). A lesão se manifesta como uma úlcera ou nódulo único próximo ou na região de picada do flebotomíneo podendo se disseminar para áreas diferentes do corpo ou pode ser subclínica, (K. J. GOLLOB, 2008).

A LMC é uma manifestação clínica que causa grandes desfigurações e impactos psicossociais importantes, além dos danos provocados à saúde. A LMC é resultado da destruição crônica e progressiva de tecidos do nariz, boca, oro e naso-faringe e pálpebras. A doença pode progredir afetando a função respiratória e dificultar a nutrição do indivíduo acometido (MCGWIRE; SATOSKAR, 2014). Desta maneira, infecções secundárias decorrentes de má nutrição levam muitos dos indivíduos acometidos pela

doença a óbito.

A LV ou Kala-azar é a forma mais letal, uma vez que é caracterizada por importantes danos viscerais, podendo levar o indivíduo a óbito. A disseminação dos parasitas do local de infecção para os fagócitos do sistema retículo endotelial leva ao acometimento do baço, fígado e, destacando-se, a medula óssea, sendo essa a grande característica da LV. A consequência deste tipo de proliferação dos parasitas é a hepatoesplenomegalia, além de uma supressão das funções da medula óssea (EVANS; KEDZIERSKI, 2012; JAIN; JAIN, 2015).

3 | MEDIDAS DE CONTROLE PARA AS LEISHMANIOSES

Uma das grandes barreiras existentes para o controle da leishmaniose é a falta de uma vacina eficaz e universalmente aceita, principalmente pelas dificuldades encontradas na sua produção. O que tem sido aplicado como estratégias de controle dessas doenças são: o diagnóstico, a quimioterapia com antimoniais e, preventivamente, o controle de vetores. (KOBETS; GREKOV; LIPOLDOVA, 2012).

O diagnóstico é realizado por meio de uma associação de técnicas laboratoriais, para então se chegar a um diagnóstico seguro da doença. Em grande parte, a pesquisa de anticorpos anti-*Leishmania*, a cultura celular de amostras clínicas do indivíduo ou a detecção de material genético do parasita são as técnicas mais utilizadas (KOBETS; GREKOV; LIPOLDOVA, 2012). Contudo, necessitam de técnicas auxiliares para dar uma maior margem de segurança no diagnóstico. Os principais exemplos dessas técnicas auxiliares envolvem PCR ou suas variantes e a citometria de fluxo (OLIVEIRA et al., 2013; POURABBAS et al., 2013; SILVA et al., 2013).

O tratamento ocorre por meio de drogas não específicas para a doença e que não possuem seus mecanismos de ação elucidados completamente (SINGH; KUMAR; SINGH, 2012). A principal classe de drogas utilizadas há mais de 70 anos é a dos antimoniais pentavalentes. A consequência disso, aliada ao mau uso, se reflete no surgimento de parasitas resistentes nos últimos anos (MEHEUS et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2011). Adicionalmente, os antimoniais apresentam mais limitações, uma vez que tem custo elevado, requerem repetidas doses para alcançar um resultado satisfatório e estão frequentemente associados com efeitos adversos importantes (SUNDAR; CHAKRAVARTY, 2010).

Outra estratégia preventiva é o controle de vetores e dos reservatórios. Entretanto, só é efetiva sob determinadas condições, o que não é aplicável em todos os cenários epidemiológicos, pois há necessidade de infraestrutura e vigilância. Devido a todas as limitações apresentadas, sem dúvida a necessidade de uma vacina é a principal alternativa para controlar todas as formas da doença (COSTA et al., 2011).

4 | MECANISMOS IMUNOLÓGICOS ENVOLVIDOS NA INFECÇÃO

O estabelecimento da infecção é em grande parte dependente dos neutrófilos, que rapidamente fagocitam os parasitas, porém, permitem que eles ganhem acesso ao interior da célula. Contudo, como mecanismo de evasão, as formas promastigotas provocam a indução da apoptose de neutrófilos (LASKAY; VAN ZANDBERGEN; SOLBACH, 2003) e com isso, os parasitas mascaram sua presença através da formação de corpos apoptóticos que não são reconhecidos pelo sistema imune.

As células dendríticas (DCs) dérmicas são capazes de fagocitar os parasitas nas primeiras horas após a infecção inicial. A população celular dominante 24 horas após o início da infecção é constituída basicamente de macrófagos dérmicos (NG et al., 2008). Um mecanismo de evasão se manifesta logo após a fagocitose de neutrófilos infectados e/ou apoptóticos por DCs no sítio inicial de entrada dos parasitas. Relatos de estudos recentes demonstram que há bloqueio da atividade de co-apresentação de antígenos pelas DCs (RIBEIRO- GOMES et al., 2015).

No estabelecimento da infecção é também observado o recrutamento de outros tipos celulares como monócitos. Os monócitos se diferenciam em células dendríticas, derivadas de monócitos (moDCs). Este tipo celular não necessariamente favorece a infecção, podendo também provocar uma resposta imunológica individual (CHARMOY et al., 2010). Porém, essas células tem alta atividade fagocítica, que, por sua vez, favorecem o crescimento e sobrevivência dos parasitas em seu interior. Por outro lado, as moDCs tem a capacidade de induzir uma resposta protetora do tipo Th1 através da produção de IL-12, citocina crucial neste tipo de resposta, além de expressar altas quantidades de moléculas do complexo principal de histocompatibilidade classe II (MHC de Classe II) em sua superfície (DE TREZ et al., 2009).

No universo das leishmanioses, as interações complexas entre células do hospedeiro e moléculas do sistema imunológico modulam a resposta imunológica (DUTHIE et al., 2012). Os modelos murinos ajudam a compreender o importante papel das citocinas pró-inflamatórias da via Th1 na resistência e das citocinas da via Th2 associadas à susceptibilidade (DE LUCA; MACEDO, 2016). Em contrapartida, essa relação imunológica tem apresentado algumas discordâncias quando comparados os modelos murinos e os ensaios clínicos com seres humanos (OLIVEIRA et al., 2014).

Particularmente nas leishmanioses, os fatores de proteção têm sido relacionados principalmente com a presença de linfócitos T CD4⁺ com o perfil Th1 produzindo IFN- γ , TNF e IL-12. Essas citocinas são associados com a ativação de macrófagos e melhor controle da carga parasitária (LOEUILLET et al., 2016). Em contrapartida, o perfil Th2 tem sido relacionado com maior carga parasitária e inibição da produção de óxido nítrico por macrófagos ativados por IFN- γ . Esse fato se deve principalmente pelas citocinas IL-4, IL-10 e TGF- β , levando também a uma inibição da diferenciação de linfócitos Th1 (GOMES- SILVA et al., 2007), principalmente por IL-10 (GAUTAM et al., 2011).

Contudo, os linfócitos T CD8⁺ também apresentam um papel protetor importante. A característica chave da ação de proteção realizada pelos linfócitos T CD8⁺, produtores de IFN- γ , é principalmente pela capacidade dessas células de alternar a resposta Th2 para a resposta Th1 (NOVAIS et al., 2018).

Adicionalmente, os linfócitos Th17 são produtores de algumas citocinas, tais como a IL-17, IL-22 e IL-6. Ainda que o papel dessas citocinas na infecção por *Leishmania* spp. não esteja completamente elucidado, resultados de diversos trabalhos demonstraram uma dependência espécie-específica e de fatores do hospedeiro (NASCIMENTO, 2015; PITTA et al., 2009).

É crucial no desenvolvimento de uma estratégia vacinal, que os mecanismos de uma resposta protetora e da geração e manutenção de células de memória sejam bem compreendidos (MUTISO et al., 2013).

5 | VACINAS E LEISHMANIOSES

O maior desafio para uma vacina é ativar corretamente o sistema imunológico do hospedeiro. Essa ativação correta se refere ao desenvolvimento de uma resposta imune protetora contra um patógeno específico. Via de regra, uma vacina consiste de dois elementos essenciais: o antígeno e o adjuvante (KOCOURKOVA et al., 2016). Tendo isso em vista, diferentes moléculas estão sendo utilizadas como adjuvantes vacinais, uma vez que são capazes de ativar o sistema imune do indivíduo e permitir uma melhor resposta ao antígeno (AWATE; BABIUK; MUTWIRI, 2013). Um exemplo são os CpG oligodeoxinucleotídeos (CpG ODN) por serem capazes de estimular Receptores tipo Toll-9 (TLR-9) (GURSEL; GURSEL, 2016).

As vacinas são elencadas com base na composição do antígeno principal. Basicamente existem três classes de vacinas: primeira, segunda e terceira geração. As bases do antígeno usado nas vacinas de primeira geração podem ser por parasita completo, inativado ou morto, seja por processos físicos e/ou químicos. Já as vacinas de segunda geração são compostas por antígenos molecularmente definidos, podendo ser de uma ou mais proteínas. Por fim, as vacinas de terceira geração são a abordagem mais moderna, a qual utiliza o DNA como antígeno vacinal.

A leishmanização (LZ), abordagem que consiste na inoculação de uma cepa viva virulenta de *L. major* para produzir a lesão, inicialmente provou ser eficiente em induzir uma resposta protetora contra exposição subsequente a *Leishmania* spp (HANDMAN, 2001). Todavia, essa indução levou a uma “cronificação” das lesões em alguns casos, tornando ainda mais difícil o tratamento (KHATAMI et al., 2007). Embora existam limitações, o tema tem sido reproduzido por pesquisadores que continuam propondo novas abordagens baseadas em LZ, usando diferentes espécies de *Leishmania* spp. (MCCALL et al., 2013).

Há uma série de limitações na abordagem de vacinas que utilizam parasitas

vivos atenuados ou mortos, como os critérios de segurança, reprodutibilidade e padronização das condições de cultura (DUTHIE et al., 2012; MODABBER, 2010). Neste sentido, alternativas ao uso dessas vacinas foram criadas no sentido de obter melhores resultados, como por exemplo, o “*gene targeting*” de genes de virulência em *Leishmania* spp. Nesta categoria são incluídas as vacinas produzidas com organismos geneticamente modificados, *knock-out* de genes de virulência de *Leishmania* spp. (COSTA et al., 2011). O sucesso no uso desses parasitas modificados é devido ao curto ciclo de vida, suficiente para induzir uma resposta imune específica, além de ser capaz de eliminar a infecção e não induzir doença no homem.

As vacinas, baseadas no uso de antígenos recombinantes, se mostram uma alternativa promissora, fornecem bons resultados e esclarecimentos quanto à segurança para uso em humanos e/ou animais. Diante disso, são feitas investigações da potencial imunogenicidade de antígenos de espécies de *Leishmania*. Alguns exemplos dos mais promissores foram: proteína 11 de membrana do kinetoplastídeo (AGALLOU et al., 2014; DE MENDONÇA; CYSNE-FINKELSTEIN; MATOS, 2015) e nucleosídeo hidrolase (NICO et al., 2014).

A proposta da imunização genética surgiu como uma alternativa interessante, visando induzir imunidade específica em hospedeiros. Nesse tipo vacinal é observado a capacidade de expressão seletiva de genes muito próximos a sua conformação nativa natural, indução de resposta imune celular específica, persistência da expressão do antígeno por um período, e, por fim, indução de células de memória para proteger contra reinfecção (TANG; DEVIT; JOHNSTON, 1992). Sem dúvidas, a vacinação com DNA tem como importante característica a indução conjunta de linfócitos T CD8⁺ citotóxicos e T CD4⁺ auxiliares e a produção de anticorpos (DAS; ALI, 2012).

Adicionalmente a isso, a combinação de vacinas DNA-proteínas também tem demonstrado ser uma alternativa promissora, como por exemplo associando diferentes estratégias para vacinação com DNA e com as proteínas KMP11, TRYP, LACK, e PAPLE22 (TODOLÍ et al., 2012). Uma vacina de DNA multiantigênica foi desenvolvida contendo KMP11, TRYP, LACK e GP63 para proteger cães contra LV causada por *L. infantum*. Após a imunização e o desafio com *L. infantum*, contudo, nem resposta celular nem humoral foram detectadas contra os antígenos (RODRÍGUEZ-CORTÉS et al., 2007).

6 | AS CÉLULAS DENDRÍTICAS: UM CANDIDATO A VACINA

As células apresentadoras de antígenos (APCs) tem papel fundamental na resposta imunológica, sobretudo contra a leishmaniose. As DC ganham destaque como uma importante classe de APCs para o sistema imunológico (LIU; UZONNA, 2010). A regulação da atividade das DCs parece ser espécie- específica, visto que algumas espécies de *Leishmania*, como a *L. major* e a *L. donovani* são capazes de ativar as DCs

para expressarem moléculas co-estimulatórias e produzir IL-12 (GHOSH et al., 2006; WOELBING et al., 2006). Já a *L. (V.) braziliensis* está associada com forte indução de resposta imune, iniciada principalmente pela ativação de DCs e consequente ativação de linfócitos T efetores (VARGAS-INCHAUSTEGUI, D. A.; XIN, L.; SOONG, 2008).

Por essas características, diversos trabalhos têm utilizado DCs estimuladas com antígenos como estratégia no combate a diferentes tipos de doenças infecciosas, além do câncer (BROWNING, 2013; GARCÍA et al., 2013). Apesar disso, o número de estudos referentes ao desenvolvimento e investigação de vacinas para a leishmaniose que utilizam as DCs como modelos celulares carreadores de antígeno é limitado (COSTA et al., 2011). As DCs são derivadas de precursores medulares e são encontradas nos tecidos do organismo em um estado imaturo. Sua ativação ocorre no momento em que entram em contato com antígenos, provocando um amadurecimento, de forma a passarem a expressar diversos marcadores de superfície, sobretudo MHC de classe II e moléculas co-estimulatórias (OLEX et al., 2010).

Ainda falta uma maior compreensão dos fatores que governam os mecanismos de ação das DCs. O que está bem estabelecido experimentalmente, é que uma das maneiras pelas quais as DCs agem é por meio da indução dos diferentes subtipos efetores de linfócitos T helper (Th) (KLECHEVSKY et al., 2008), sendo os linfócitos Th1 produtores de INF- γ , associados com a resistência à infecção por *Leishmania* (DARRAH et al., 2010). A sinalização via Toll Like Receptors (TLR) é uma das responsáveis por induzir a secreção de citocinas pelas DCs, estimulando uma resposta do tipo Th1 (SOONG, 2008). O DNA CpG atua como uma das moléculas que se ligam ao TLR-9, e trabalhos realizados por vários grupos de pesquisa demonstraram que a utilização de DNA CpG com parasitas de *Leishmania* vivos ativam as DCs dérmicas a produzirem citocinas, especialmente a IL-6 (WENHUI WU, LUISE WEIGAND, 2009). A IL-6 induz diferentes efeitos, agindo como fator de diferenciação para linfócitos, células mesangiais e linfócitos Th17.

Nesse contexto, o desafio no estudo da abordagem de vacinas utilizando DCs é o encontro de antígenos ideais. Sendo assim, métodos clássicos desenvolvidos anteriormente na área de vacinas foram realizados para essa finalidade. Em contrapartida, há uma série de limitações desses métodos que dificultam o processo como um todo. Portanto, métodos modernos de investigação aplicando ferramentas de bioinformática têm sido utilizados para a pesquisa e desenvolvimento de vacinas (FLOWER, 2013).

7 | VACINOLOGIA REVERSA: UMA NOVA FORMA DE PENSAR VACINAS

Nos últimos anos, têm sido crescente o número de sequências genômicas de patógenos ao homem e animais registrados em bancos de dados. O fácil acesso a muitas dessas sequências permite a escolha racional de antígenos utilizando métodos

computacionais, ou *in silico*. Um grande exemplo disso é a vacinologia reversa (SETTE, 2010).

A vacinologia reversa teve sua primeira aplicação no desenvolvimento de uma vacina contra o meningococo B (MenB), onde foi possível a identificação de 600 antígenos em potencial, que foram expressos em *Escherichia coli* e testados com soro de animais imunizados. Destes, foram identificados 90 novos antígenos que nunca tinham sido descritos na literatura, onde 29 apresentaram capacidade de induzir anticorpos capazes de destruir a bactéria *in vitro*. (GIULIANI et al., 2006).

Ao comparar com a vacinologia clássica, que só tinha chegado a 5 antígenos com atividade bactericida (TETTELIN et al., 2000), a vacinologia reversa se mostrou muito promissora ao fazer a busca no genoma dos parasitas. Além de identificar antígenos com potencial protetor, ela também permite avaliar o papel biológico de novas proteínas nos patógenos (LAUER et al., 2005; MADICO et al., 2006).

A maioria das doenças parasitárias necessitam da imunidade celular com linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺, sendo um dos componentes principais para prevenção ou controle (DUTHIE et al., 2012; SACKS, 2014). Nesse sentido, a vacinologia reversa é capaz de identificar epítomos em potencial presentes em proteínas codificadas por patógenos e que podem ser reconhecidos por linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺ (GROOT et al., 2009), uma vez que essa metodologia utiliza ferramentas capazes de realizar a predição da ligação de peptídeos especificamente às moléculas do MHC.

Nesse contexto, há diversos trabalhos procurando identificar antígenos de *Leishmania* spp. com base em vacinologia reversa. Alguns deles utilizaram métodos lineares e/ou estruturais na busca de epítomos no proteoma de diferentes espécies de *Leishmania* (MUTISO et al., 2013; FREITAS-SILVA et al., 2016). Em paralelo, outro trabalho concentrou esforços para identificar potenciais epítomos contidos em proteínas candidatas já previamente identificadas (MARIA et al., 2013). Mais tarde, foi desenvolvida de uma vacina com múltiplos epítomos de *Leishmania* (AGALLOU et al., 2014).

8 | IMUNOGENICIDADE DE CÉLULAS DENDRÍTICAS MEDIADA POR EPÍTOPOS VACINAIS

Embora a *L. (V). braziliensis* seja uma das principais espécies responsáveis pelos casos endêmicos de leishmaniose tegumentar e mucocutânea no Brasil, grande parte dos trabalhos se concentra no uso de antígenos de outras espécies como *L. major*, *L. amazonensis* ou *L. donovani* (NANDA, 2009; SCHWARZ et al., 2013). As frações antigênicas possuem grande quantidade de moléculas do parasita e não são ideais para serem utilizadas como abordagem vacinal. Assim, o ideal é a busca de moléculas únicas ou uma combinação que seja capaz de estimular uma resposta protetora e de memória. Devido ao potencial das DCs para a abordagem vacinal e

diante da complexidade de encontrar um antígeno ideal, nosso grupo de pesquisa avaliou o efeito de epítomos peptídicos de *L. (V) braziliensis* em células dendríticas derivadas de medula óssea (BMDCs) em um modelo murino. Esses epítomos foram gerados, utilizando-se uma combinação de métodos *in silico*, considerando epítomos de linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺ no proteoma predito de *L. (V.) braziliensis* (FREITAS-SILVA et al., 2016).

O estímulo de BMDCs com esses epítomos indicaram uma indução da expressão de moléculas de MHC classe I, MHC de classe II e CD40 nas primeiras 24h. Além disso, foi analisada a expressão das moléculas em BMDCs: negativas para o marcador CD11c e positivas para CD11c. Essa molécula, citada anteriormente, representa um marcador específico de DCs. Entretanto, observou-se uma redução nos níveis de expressão de MHC de classe I, MHC de classe II e CD40 nas BMDC CD11c⁺ estimuladas por 48h com os epítomos.

De modo geral, em células CD11c⁻, há uma forte redução na expressão dos marcadores anteriormente citados em células controle, nos tempos de 24h e 48h. Contudo, o percentual de células positivas para MHC II e CD40 foi maior que o do controle para ambos os intervalos investigados. Isso indica que durante a ativação dessas células há diminuição da expressão de CD11c (SINGH-JASUJA et al., 2013). Nesse mesmo trabalho, as amostras estimuladas com antígeno total de *L. (V.) braziliensis* também expressaram altos níveis dos marcadores. Entretanto, para as amostras estimuladas com os peptídeos, observou-se uma diminuição nos níveis de expressão de MHC I, MHC II e CD40.

Os peptídeos, possivelmente induziram ativação na população de BMDCs CD11c⁺ e redução na expressão dos marcadores analisados MHC I, MHC II e CD40. Por outro lado, níveis crescentes de MHC II e CD40 foram observados na população de células BMDCs CD11c⁻ para os intervalos de tempo. A ativação do CD40 é uma das principais vias que estimulam a produção de IL-12, conseqüentemente, estimula o perfil Th1 com produção de IFN- γ e resistência a *L. major* (OKWOR; UZONNA, 2016).

Além de marcadores de superfície, foi observado que os epítomos foram capazes de induzir produção de citocinas importantes por BMDCs. Foram identificados níveis elevados das citocinas TNF e IL6 quando comparados com o controle. Em contrapartida, baixos níveis de citocinas foram encontrados para as células estimuladas com o antígeno total de *L. (V.) braziliensis*, exceto IL-6 após 48h, nos quais os níveis foram maiores do que o controle. Níveis consideráveis de TNF e IL-6 também foram produzidos pelos controles, principalmente a IL-6. A produção crescente de citocinas pró-inflamatórias tais como IL-6 e TNF por BMDC foi relatada após estimulação com lipopolissacárido (LPS) (ABDI; SINGH; MATZINGER, 2013; BOONSTRA et al., 2006; GEISEL et al., 2007; HELFT et al., 2015).

A IL-6 parece exercer um duplo papel como citocina pró-inflamatória e também de prevenir os perfis de células T reguladoras que podem estar associados à exacerbação da doença (COSTA et al., 2013; KIMURA; KISHIMOTO, 2010). Não só considerando

as principais citocinas envolvidas com o perfil de células Th1, mas também com a ausência ou os baixos níveis das outras citocinas do perfil de células Th2 e Th17, é provável que exista um potencial dos peptídeos em promover uma resposta imune, que culminaria com a proteção contra LT.

9 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

As leishmanioses ainda representam um sério problema de saúde pública nos países tropicais e subtropicais em desenvolvimento. Seu tratamento atual enfrenta limitações causadas pela elevada toxicidade, alto custo, muitas vezes com necessidade de internamento e a crescente resistência de cepas do parasita. Considerando esse fato e a importante relação entre a resposta imune e o desenvolvimento da doença, faz-se necessário medidas alternativas para o seu combate. A vacinação é uma abordagem promissora como medida de controle, uma vez que tem o papel de promover uma correta ativação do sistema imunológico e geração de memória imunológica, pré-requisitos fundamentais de proteção contra a doença. Entretanto, as vacinas tradicionais de primeira geração podem apresentar limitações que impedem o seu avanço e a produção segura. Métodos modernos *in silico*, como a bioinformática e o *docking* molecular, são essenciais para discriminar e identificar potenciais moléculas candidatas para uso como vacina contra as leishmanioses. O presente trabalho utilizou epítomos potenciais para linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺, selecionados a partir do proteoma de *L. (V.) braziliensis*, já descrito em trabalho prévio de nosso grupo (FREITAS-SILVA et al., 2016). Esses epítomos até o momento se mostraram bons candidatos para uma vacina segura e eficaz contra a doença. Para uma estratégia vacinal ser bem sucedida é crucial que os mecanismos de resposta imunológica protetora e da geração e manutenção de células de memória imunológica, sejam bem compreendidos. A compreensão desses mecanismos constitui um dos aspectos mais negligenciados durante o desenvolvimento da vacina.

REFERÊNCIAS

ABDI, K.; SINGH, N. J.; MATZINGER, P. LPS Activated Dendritic cells: “Exhausted” or alert and waiting? DCs: “Exhausted”, alerted or waiting? v. 188, n. 12, p. 5981–5989, 2013.

AGALLOU, M. et al. Experimental validation of multi-epitope peptides including promising MHC class I- and II-restricted epitopes of four known *Leishmania infantum* proteins. **Frontiers in Immunology**, v. 5, n. JUN, 2014.

ALVAR, J. et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence.

PLoS ONE, v. 7, n. 5, 2012.

AWATE, S.; BABIUK, L. A.; MUTWIRI, G. Mechanisms of action of adjuvants.

Frontiers in Immunology, v. 4, n. MAY, p. 1–10, 2013.

BEAUMIER, C. M. et al. New vaccines for neglected parasitic diseases and dengue. **Translational Research**, v. 162, n. 3, p. 144–155, 2013.

BOONSTRA, A. et al. Macrophages and myeloid dendritic cells, but not plasmacytoid dendritic cells, produce IL-10 in response to MyD88- and TRIF- dependent TLR signals, and TLR-independent signals. **Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)**, v. 177, n. 11, p. 7551–8, 2006.

BROWNING, M. J. Antigen presenting cell/ tumor cell fusion vaccines for cancer immunotherapy. **Human vaccines & immunotherapeutics**, v. 9, n. 7, p. 1545– 8, 2013.

CARVALHO, L. P. et al. Protective and pathologic immune responses in human tegumentary leishmaniasis. **Frontiers in Immunology**, v. 3, n. OCT, p. 1–9, 2012.

CHARMOY, M. et al. Neutrophil-derived CCL3 is essential for the rapid recruitment of dendritic cells to the site of *Leishmania major* inoculation in resistant mice. **PLoS Pathogens**, v. 6, n. 2, 2010.

COSTA, C. H. N. et al. Vaccines for the leishmaniases: proposals for a research agenda. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 5, n. 3, p. e943, jan. 2011.

COSTA, D. L. et al. Characterization of regulatory T cell (Treg) function in patients infected with *Leishmania braziliensis*. **Human Immunology**, v. 74, n. 12, p. 1491–1500, 2013.

DARRAH, P. A. et al. IL-10 production differentially influences the magnitude, quality, and protective capacity of Th1 responses depending on the vaccine platform. **The Journal of experimental medicine**, v. 207, n. 7, p. 1421–33, 2010.

DAS, A.;ALI, N. Vaccine prospects of killed but metabolically active *Leishmania* against visceral leishmaniasis. **Expert review of vaccines**, v. 11, n. 7, p. 783– 5, 2012.

DAVID; CRAFT. Cutaneous and Mucocutaneous Leishmaniasis. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 26, n. 2, p. 293–307, 2009.

DE LUCA, P. M.; MACEDO, A. B. B. Cutaneous leishmaniasis vaccination: A matter of quality. **Frontiers in Immunology**, v. 7, n. APR, p. 1–8, 2016.

DE MENDONÇA, S. C. F.; CYSNE-FINKELSTEIN, L.; MATOS, D. C. DE S.

Kinetoplastid membrane protein-11 as a vaccine candidate and a virulence factor in *Leishmania*. **Frontiers in Immunology**, v. 6, n. OCT, p. 1–6, 2015.

DE TREZ, C. et al. iNOS-producing inflammatory dendritic cells constitute the major infected cell type during the chronic *Leishmania major* infection phase of C57BL/6 resistant mice. **PLoS Pathogens**, v. 5, n. 6, 2009.

DOSTÁLOVÁ, A.; VOLF, P. *Leishmania* development in sand flies: parasite- vector interactions overview. **Parasites & vectors**, v. 5, p. 276, 2012.

DUTHIE, M. S. et al. The Development and Clinical Evaluation of Second- Generation Leishmaniasis Vaccines. v. 30, n. 2, p. 134–141, 2012.

EVANS, K. J.; KEDZIERSKI, L. Development of vaccines against visceral leishmaniasis. **Journal of Tropical Medicine**, v. 2012, 2012.

FLOWER, D. R. Designing immunogenic peptides. **Nature chemical biology**, v. 9, n. 12, p. 749–53, 2013.

FREITAS-SILVA et al. Combination of in silico methods in the search for potential CD4+ and CD8+ T cell epitopes in the proteome of *Leishmania braziliensis*. **Frontiers in Immunology**, v. 7, n. AUG, 2016.

GARCÍA, F. et al. A Dendritic Cell–Based Vaccine Elicits T Cell Responses Associated with Control of HIV-1 Replication. **Science translational medicine**, v. Vol. 5, n. Issue 166, p. 166ra2, 2013.

GAUTAM, S. et al. IL-10 neutralization promotes parasite clearance in splenic aspirate cells from patients with visceral leishmaniasis. **Journal of Infectious Diseases**, v. 204, n. 7, p. 1134–1137, 2011.

GEISEL, J. et al. Agonist Tolerance and Cross-Tolerance in Dendritic Cells 1.

The Journal of Immunology, v. 179, n. 9, p. 5811–8, 2007.

GHOSH, M. et al. *Leishmania donovani* infection of human myeloid dendritic cells leads to a Th1 response in CD4+ T cells from healthy donors and patients with kala-azar. **The Journal of infectious diseases**, v. 194, n. 3, p. 294–301, 2006.

GHOSH, M.; BANDYOPADHYAY, S. Interaction of *Leishmania* parasites with dendritic cells and its functional consequences. **Immunobiology**, v. 209, n. 1–2, p. 173–177, 2004.

GIULIANI, M. M. et al. A universal vaccine for serogroup B meningococcus. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 29, p. 10834–9, 2006.

GLENNIE, N. D. et al. Skin-resident memory CD4 + T cells enhance protection against *Leishmania major* infection. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 212, n. 9, p. 1405–1414, 2015.

GOMES-SILVA, A. et al. Can interferon- γ and interleukin-10 balance be associated with severity of human *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* infection? **Clinical and Experimental Immunology**, v. 149, n. 3, p. 440–444, 2007.

GONZALEZ-LOMBANA, C. et al. IL-17 Mediates Immunopathology in the Absence of IL-10 Following *Leishmania major* Infection. **PLoS Pathogens**, v. 9, n. 3, 2013.

GROOT, A. S. DE et al. **Epitope-Based Immunome-Derived Vaccines: A Strategy for Improved Design and Safety**. [s.l.: s.n.].

GURSEL, M.; GURSEL, I. Development of CpG ODN Based Vaccine Adjuvant Formulations. v. 6, p. 221–244, 2016.

HANDMAN, E. Leishmaniasis: Current Status of Vaccine Development Leishmaniasis: Current Status of Vaccine Development. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 14, n. 2, p. 229–243, 2001.

HELFT, J. et al. GM-CSF Mouse Bone Marrow Cultures Comprise a Resource GM-CSF Mouse Bone Marrow Cultures Comprise a Heterogeneous Population. p. 1197–1211, 2015.

JAIN, K.; JAIN, N. K. Vaccines for visceral leishmaniasis: A review. **Journal of Immunological Methods**, v. 422, p. 1–12, 2015.

K. J. GOLLOB. Immunoregulatory mechanisms and CD4-CD8- (double negative) T cell subpopulations in human cutaneous leishmaniasis: a balancing act between protection and pathology. v. 76, n. October 2009, p. 211–220, 2008.

KHATAMI, A. et al. Treatment of acute Old World cutaneous leishmaniasis: A systematic review of the randomized controlled trials. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 57, n. 2, 2007.

KILLICK-KENDRICK, R. The biology and control of Phlebotomine sand flies.

Clinics in Dermatology, v. 17, n. 3, p. 279–289, 1999.

KIMURA, A.; KISHIMOTO, T. IL-6: Regulator of Treg/Th17 balance. **European Journal of Immunology**, v. 40, n. 7, p. 1830–1835, jul. 2010.

KLECHEVSKY, E. et al. Functional Specializations of Human Epidermal Langerhans Cells and CD14+ Dermal Dendritic Cells. **Immunity**, v. 29, n. 3, p. 497–510, 2008.

KOBETS, T.; GREKOV, I.; LIPOLDOVA, M. Leishmaniasis: Prevention, Parasite Detection and Treatment. **Current Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 10, p. 1443–1474, 2012.

KOCOURKOVA et al. Vaccine Ingredients: Components That Influence Vaccine Efficacy. **Mini reviews in medicinal chemistry**, 2016.

LASKAY, T.; VAN ZANDBERGEN, G.; SOLBACH, W. Neutrophil granulocytes - Trojan horses for Leishmania major and other intracellular microbes? **Trends in Microbiology**, v. 11, n. 5, p. 210–214, 2003.

LAUER, P. et al. Genome analysis reveals pili in Group B Streptococcus. n. July, p. 95420, 2005.

LIU, D.; UZONNA, J. E. The p110 delta isoform of phosphatidylinositol 3-kinase controls the quality of secondary anti-Leishmania immunity by regulating expansion and effector function of memory T cell subsets. **Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)**, v. 184, n. 6, p. 3098–105, 2010.

LOEUILLET, C. et al. Study of Leishmania pathogenesis in mice: experimental considerations. **Parasites & Vectors**, v. 9, n. 1, p. 144, dez. 2016.

LOPEZ KOSTKA, S. et al. IL-17 promotes progression of cutaneous leishmaniasis in susceptible mice. **Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)**, v. 182, n. 5, p. 3039–46, mar. 2009.

MADICO, G. et al. The Meningococcal Vaccine Candidate GNA1870 Binds the Complement Regulatory Protein Factor H and Enhances Serum Resistance. **J Immunol**, v. 1, n. 177, p. 501–510, 2006.

MARIA, A. et al. In silico prediction of promiscuous Leishmania infantum KMP- 11, H1, LeIF, CPA, CPB peptides and experimental validation of eliciting CD4+ and CD8+ T-cell specific responses. **Frontiers in Immunology**, v. 4, 2013.

MCCALL, L. I. et al. Leishmanization revisited: Immunization with a naturally attenuated cutaneous Leishmania donovani isolate from Sri Lanka protects against visceral leishmaniasis. **Vaccine**, v. 31, n. 10, p. 1420–1425, 2013.

MCGWIRE, B. S.; SATOSKAR, A. R. Leishmaniasis: Clinical syndromes and treatment. **Qjm**, v. 107, n. 1, p. 7–14, 2014.

MEHEUS, F. et al. Cost-effectiveness analysis of combination therapies for visceral leishmaniasis in the Indian subcontinent. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 4, n. 9, 2010.

MODABBER, F. Leishmaniasis vaccines: Past, present and future. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 36, n. SUPPL. 1, p. S58–S61, 2010.

MURRAY, H. W. et al. Advances in leishmaniasis. [Review]. **Lancet**, v. 366, n. 9496, p. 1561–1577, 2005.

MUTISO, J. M. et al. Development of Leishmania vaccines: predicting the future from past and present experience. **Journal of biomedical research**, v. 27, n. 2, p. 85–102, 2013.

NANDA, T. K. AND N. K. Protective Response to *Leishmania major* in BALB/c Mice Requires Antigen Processing in the Absence of DM1. **J Immunol**, v. 76, n. October 2009, p. 211–220, 2009.

NASCIMENTO, M. S. L. ET AL. Interleukin 17A acts synergistically with interferon γ to promote protection against *Leishmania infantum* infection. **The Journal of infectious diseases**, 2015.

NG, L. G. et al. Migratory dermal dendritic cells act as rapid sensors of protozoan parasites. **PLoS pathogens**, v. 4, n. 11, 2008.

NICO, D. et al. Cross-protective immunity to *Leishmania amazonensis* is mediated by CD4+ and CD8+ epitopes of *Leishmania donovani* nucleoside hydrolase terminal domains. **Frontiers in Immunology**, v. 5, n. MAY, p. 1–10, 2014.

NOVAIS, F. O. et al. CD8 + T Cells Lack Local Signals To Produce IFN- γ in the Skin during *Leishmania* Infection. 2018.

OKWOR, I.; UZONNA, J. E. Pathways leading to interleukin-12 production and protective immunity in cutaneous leishmaniasis. **Cellular Immunology**, v. 309, p. 32–36, 2016.

OLEX, A. L. et al. Dynamics of dendritic cell maturation are identified through a novel filtering strategy applied to biological time-course microarray replicates. **BMC Immunology**, v. 11, n. 1, p. 19–41, 2010.

OLIVEIRA, L. F. et al. Systematic review of the adverse effects of cutaneous leishmaniasis treatment in the New World. **Acta Tropica**, v. 118, n. 2, p. 87–96, 2011.

OLIVEIRA, W. N. et al. The role of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of human tegumentary leishmaniasis. v. 76, n. October 2009, p. 211–220, 2014.

OLIVEIRA, A. P. DE et al. Author's personal copy Comparison of flow cytometry and indirect immunofluorescence assay in the diagnosis and cure criterion after therapy of American tegumentary leishmaniasis by anti-live *Leishmania (Viannia) braziliensis* immunoglobulin G. 2013.

PITTA, M. G. R. et al. IL-17 and IL-22 are associated with protection against human kala azar caused by *Leishmania donovani*. **Journal of Clinical Investigation**, v. 119, n. 8, p. 2379–2387, 2009.

POURABBAS, B. et al. Quantification of *Leishmania infantum* kinetoplast DNA for monitoring the response to meglumine antimoniate therapy in visceral leishmaniasis. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 88, n. 5, p. 868–871, 2013.

RIBEIRO-GOMES, F. L. et al. Apoptotic cell clearance of *Leishmania major*-infected neutrophils by dendritic cells inhibits CD8⁺ T-cell priming in vitro by Mer tyrosine kinase-dependent signaling. **Cell death & disease**, v. 6, p. e2018, 2015.

RODRÍGUEZ-CORTÉS, A. et al. Vaccination with plasmid DNA encoding KMP11, TRYP, LACK and GP63 does not protect dogs against *Leishmania*

infantum experimental challenge. **Vaccine**, v. 25, n. 46, p. 7962–7971, 2007.

SCHWARZ, T. et al. T Cell-Derived IL-10 Determines Leishmaniasis Disease Outcome and Is Suppressed by a Dendritic Cell Based Vaccine. **PLoS Pathogens**, v. 9, n. 6, 2013.

SETTE, A. Reverse Vaccinology: Developing Vaccines in the Era of Genomics.

Immunity, v. 33, n. 4, p. 530–541, 2010.

SHIN, H.; IWASAKI, A. Tissue resident T cells. v. 255, n. 1, p. 165–181, 2013.

SILVA, L. A. et al. USE OF THE POLYMERASE CHAIN REACTION FOR THE DIAGNOSIS OF ASYMPTOMATIC Leishmania INFECTION IN A VISCERAL LEISHMANIASIS-ENDEMIC AREA. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 55, n. 2, p. 101–4, 2013.

SINGH-JASUJA, H. et al. Immunobiology The mouse dendritic cell marker CD11c is down-regulated upon cell activation through Toll-like receptor triggering. **Immunobiology**, v. 218, n. 1, p. 28–39, 2013.

SINGH, N.; KUMAR, M.; SINGH, R. K. Leishmaniasis: Current status of available drugs and new potential drug targets. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 5, n. 6, p. 485–497, 2012.

SOONG, L. Modulation of dendritic cell function by Leishmania parasites. **The Journal of Immunology**, v. 180, n. 7, p. 4355–4360, 2008.

SUNDAR, S.; CHAKRAVARTY, J. Antimony toxicity. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 7, n. 12, p. 4267–4277, 2010.

TANG, D. C. .; DEVIT, M. .; JOHNSTON, S. A. Genetic immunization is a simple method for eliciting an immune response. **Nature**, v. 358, n. 30 July, p. 417– 421, 1992.

TETTELIN, H. et al. Complete Genome Sequence of Neisseria meningitidis Serogroup B Strain MC58. **Science**, v. 287, n. 5459, p. 1809–1815, 2000.

THORPE, C. et al. Discovery of a vaccine antigen that protects mice from Chlamydia pneumoniae infection. **Vaccine**, v. 25, n. 12, p. 2252–2260, 2007.

TODOLÍ, F. et al. Head-to-Head Comparison of Three Vaccination Strategies Based on DNA and Raw Insect-Derived Recombinant Proteins against Leishmania. **PLoS ONE**, v. 7, n. 12, 2012.

VARGAS-INCHAUSTEGUI, D. A.; XIN, L.; SOONG, L. Leishmania braziliensis infection induces dendritic cell activation, ISG15 transcription, and the generation of protective immune responses. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 180, n. 11, p. 7537–7545, 2008.

WENHUI WU, LUISE WEIGAND, AND S. M. The IL-6-deficient mouse exhibits impaired lymphocytic responses to a vaccine combining live Leishmania major and CpG oligodeoxynucleotides. v. 76, n. October 2009, p. 211–220, 2009.

WHEELER, R. J.; GLUENZ, E.; GULL, K. The cell cycle of Leishmania: Morphogenetic events and their implications for parasite biology. **Molecular Microbiology**, v. 79, n. 3, p. 647–662, 2011.

WHO. **WHO I Leishmaniasis.**, 2015.

WOELBING, F. et al. Uptake of Leishmania major by dendritic cells is mediated by Fcγ receptors and facilitates acquisition of protective immunity. **The Journal of experimental medicine**, v. 203, n. 1, p. 177–188, 2006.

SOBRE A ORGANIZADORA

Yvanna Carla de Souza Salgado Possui graduação em Farmácia pela Universidade Estadual de Ponta Grossa (2004), Habilitação em Análises Clínicas (2005), Especialização em Farmacologia (UNOPAR/IBRAS - 2011), Mestrado em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Estadual de Ponta Grossa (2013) e Doutorado em Biologia Celular e Molecular pela Universidade Federal do Paraná (2017). Possui experiência técnica como farmacêutica e bioquímica e atualmente trabalha com os temas: farmacologia, biologia celular e molecular e toxicologia.

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-85107-86-4



9 788585 107864