



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

IDALLINY ISABELLY SANTOS SOUZA

**BIOMARCADORES IMUNOLÓGICOS NA LEISHMANIOSE
VISCERAL HUMANA: UMA REVISÃO INTEGRATIVA**

Recife
2024

IDALLINY ISABELLY SANTOS SOUZA

**BIOMARCADORES IMUNOLÓGICOS NA LEISHMANIOSE
VISCERAL HUMANA: UMA REVISÃO INTEGRATIVA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Biomedicina da Universidade Federal de
Pernambuco, como pré-requisito à
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Orientador: Dr. Walter Lins Barbosa Júnior.

Recife
2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Souza, Idalliny Isabelly Santos.

Biomarcadores Imunológicos na Leshmaniose Visceral Humana: Uma
Revisão Integrativa / Idalliny Isabelly Santos Souza. - Recife, 2024.
43 : il., tab.

Orientador(a): Walter Lins Barbosa Júnior

Coorientador(a): Wheverton Ricardo Correia do Nascimento

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2024.

Inclui referências, apêndices.

1. Leishmaniose visceral humana . 2. Biomarcadores imunológicos. 3.
Resposta imune. 4. Quimiocinas. 5. Interleucinas. I. Barbosa Júnior , Walter
Lins . (Orientação). II. Nascimento, Wheverton Ricardo Correia do.
(Coorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)

IDALLINY ISABELLY SANTOS SOUZA

**BIOMARCADORES IMUNOLÓGICOS NA LEISHMANIOSE VISCERAL
HUMANA: UMA REVISÃO INTEGRATIVA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação
em Biomedicina da Universidade
Federal de Pernambuco, como pré-
requisito à obtenção do título de
Bacharel em Biomedicina.

Aprovada em: ____ / ____ / ____

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Walter Lins Barbosa Júnior
Instituto Aggeu Magalhães/Departamento de Parasitologia

Profa. MSc. Bruna Eduarda Freitas Monteiro
Instituto Aggeu Magalhães/Departamento de Parasitologia

Profa. MSc. Amanda Virginia Batista Vieira
Instituto Aggeu Magalhães/Departamento de Parasitologia

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por me dar forças durante a escrita desse trabalho e por iluminar toda minha trajetória. “Entrega teu caminho ao Senhor, confia nele e ele tudo fará”. Salmos 37:5

Dedico a minha família pelo incentivo e esforço de todos, durante esses anos de graduação.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, em sua infinita bondade me permitiu realizar esse sonho, sem Ele eu não conseguiria chegar até aqui. Obrigada, meu pai por cuidar tão bem de mim, em todos os detalhes.

Maria Santíssima, minha Mãe, não tenho dúvidas do quanto intercedeu por mim. Obrigada por sempre estar ao meu lado.

Agradeço ao meu orientador Dr. Walter Lins Barbosa Júnior, por sua paciência, orientação, correção e incentivo durante a realização desse trabalho de conclusão de curso.

Ao meu coorientador Dr. Wheverton Ricardo Correia do Nascimento, por sua contribuição no desenvolvimento desse processo.

Aos meus amigos que tornaram a rotina da graduação mais leve, por cada instante vivido, por cada lágrima e risos compartilhados!! Vocês foram essenciais! (Suellen, Júlio, Hyslane, Douglas, Daiane, Karol, Francielle, Álvaro).

A minha amiga de ensino médio e pra vida toda, Thaynara. Minha futura nutricionista, sou muito grata por tê-la em minha vida, ela que sempre está na torcida pelo meu sucesso, segurando minha mão nos momentos bons e ruins, que possamos continuar assim, uma apoiando a outra.

As minhas amigas que apesar da distância sempre estão à disposição pra o que for preciso, estaremos sempre juntas celebrando nossas conquistas (Mayara, Beatriz, Milena, Stephanye, Kisia).

A todos que fizeram parte da minha turma de Biomedicina na Univisa, em especial Isabella, Ellen, Samuel, Eduarda, vocês foram essenciais, obrigada por fazerem parte da minha história.

Ao meu amigo Zion, que conheci e com ele compartilhei a rotina de estágio, estarei sempre na torcida pelo seu sucesso.

A todos da Policlínica e Maternidade Barros Lima, lugar que Deus me colocou pra realizar meu estágio obrigatório nessa reta final da graduação, onde tive o privilégio de conhecer profissionais incríveis que me acolheram de braços abertos, cada um terá sempre um lugar em meu coração.

Gostaria de agradecer também a minha família pelo apoio emocional e compreensão durante todos os momentos de desafios. Meu pai, minha mãe e o meu irmão, que são apoio e base eterna, e grandes motivos de força e orgulho! Obrigada

por segurarem minha mão, levantar minha cabeça, me carregar no colo e em suas orações. Minha sogra, que é mais uma mãe! Aos meus tios e primos, por toda torcida.

Aos meus avós, por toda ajuda, a humildade e simplicidade deles, muito me inspira.

Ao meu namorado que é meu ponto de paz, meu suporte, meu maior exemplo de foco e determinação, sou muito grata por ter você em minha vida e tenho muito orgulho de toda nossa história.

“Que todos os nossos esforços estejam
sempre focados no desafio à impossibilidade.
Todas as grandes conquistas humanas vieram
daquilo que parecia impossível”

Charles Chaplin

SOUZA, Idalliny Isabelly Santos. **Biomarcadores imunológicos na leishmaniose visceral humana: uma revisão integrativa**. 2024. 44 folhas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2024.

RESUMO

A leishmaniose visceral humana (LVH) é uma doença grave causada pelo complexo *Leishmania donovani*. Sua transmissão ocorre por meio de um flebotomíneo (mosquito-palha) e afeta homens e animais, sendo cães domésticos os principais reservatórios da enfermidade. A LVH caracteriza-se por uma abrangência de formas clínicas, que podem variar em forma assintomática, oligossintomática, aguda e crônica. O controle da infecção por *Leishmania* spp. ocorre por meio da ativação do sistema imunológico, em que estão incluídas células do sistema imune inato, como os monócitos, neutrófilos, além dos linfócitos TCD4+ da imunidade adaptativa, composta pelos subgrupos Th1, Th2 e Th17. As células Th1 produzem citocinas associadas à defesa contra agentes infecciosos intracelulares, como IL-12, IL-2, TNF, já as Th2 secretam citocinas anti-inflamatórias como a IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13 que atuam no controle da infecção, entretanto, o subgrupo Th17 secreta citocinas como IL-17F, IL-21, IL-22 e IL-23 para induzir inflamação tecidual. Assim, é necessário destacar a relação dos biomarcadores imunológicos às formas clínicas, para uma melhor compreensão dos diferentes aspectos clínicos relacionados à LVH. Portanto, este trabalho descreve os principais biomarcadores imunológicos na leishmaniose visceral humana. A pesquisa foi baseada em uma revisão integrativa da literatura a partir da coleta de dados entre o período de 2014 a 2024, sendo aplicados critérios específicos de exclusão, com a eliminação de artigos em duplicidade em mais de uma base de dados (BVS, PubMed e SciELO), materiais sem acesso gratuito, resumos e artigos de revisão. Após a coleta, os dados foram interpretados, destacando os aspectos que ainda necessitavam de uma investigação mais aprofundada. Inicialmente, foram selecionados 59 artigos, destes, apenas 4 estavam de acordo com os critérios de inclusão. Assim, três artigos correlacionaram a IL-2 com alguma situação clínica do paciente, seja ela, fase aguda, assintomática ou pós-tratamento (cura). Apenas um artigo correlacionou o MCP-1 com os assintomáticos e um artigo destacou a IL-10 como biomarcador da conversão de casos assintomáticos para sintomáticos. Dessa forma, pode-se observar que os principais biomarcadores para assintomáticos são MCP-1 e IL-2, já os de fase aguda são TNF e IL-2 e, para pós-tratamento (cura), níveis elevados de IL-2 continuam presentes. Portanto, é necessária a realização de mais estudos para identificação de novos biomarcadores na LVH para uma melhor compreensão do espectro clínico da doença.

Palavras-chave: Leishmaniose visceral humana. Biomarcadores imunológicos. Resposta Imune. Quimiocinas. Interleucinas

SOUZA, Idalliny Isabelly Santos. **Immunological biomarkers in human visceral leishmaniasis: an integrative review**. 2024. 44 sheets. Completion of course work (Graduate in Biomedicine) – Federal University of Pernambuco, Recife, 2024.

ABSTRACT

Human visceral leishmaniasis (HVL) is a severe disease caused by the *Leishmania donovani* complex. Its transmission occurs through a phlebotomine (sandfly), affecting both humans and animals, with domestic dogs being the main reservoirs of the disease. VL is characterized by a wide range of clinical forms, which can vary from asymptomatic, oligosymptomatic, acute, to chronic. The control of *Leishmania spp.* infection occurs through the activation of the immune system, involving cells of the innate immune system, such as monocytes, neutrophils, as well as CD4+ T lymphocytes from the adaptive immune system, which includes Th1, Th2, and Th17 subgroups. Th1 cells produce cytokines associated with defense against intracellular infectious agents, such as IL-12, IL-2, and TNF, while Th2 cells secrete anti-inflammatory cytokines like IL-4, IL-5, IL-10, and IL-13, which help control the infection. However, the Th17 subgroup secretes cytokines such as IL-17F, IL-21, IL-22, and IL-23, which induce tissue inflammation. Therefore, it is important to highlight the relationship of immunological biomarkers with the clinical forms of VL, to better understand the different clinical aspects associated with the disease. This work describes the main immunological biomarkers in human visceral leishmaniasis. The research was based on an integrative literature review, collecting data from 2014 to 2024, with specific exclusion criteria applied, including the elimination of duplicate articles from multiple databases (BVS, PubMed, and SciELO), materials without free access, abstracts, and review articles. After data collection, the results were interpreted, highlighting aspects that still required further investigation. Initially, 59 articles were selected, of which only 4 met the inclusion criteria. Of these, three articles correlated IL-2 with some clinical situation of the patient, whether acute, asymptomatic, or post-treatment (cured). Only one article correlated MCP-1 with asymptomatic cases, and one article highlighted IL-10 as a biomarker for the conversion of asymptomatic cases to symptomatic ones. Thus, it can be observed that the main biomarkers for asymptomatic cases are MCP-1 and IL-2, while for the acute phase, TNF and IL-2 are key biomarkers, and for post-treatment (cured) cases, elevated levels of IL-2 remain present. Therefore, further studies are needed to identify new biomarkers in VL for a better understanding of the clinical spectrum of the disease.

Keywords: Human visceral leishmaniasis. Immune biomarkers. Immune response. Chemokines. Interleukins.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Situação de endemicidade da Leishmaniose Visceral Humana em todo o mundo	17
Figura 2 – Formas celulares de parasitas <i>Leishmania spp.</i>	18
Figura 3 – Ciclo biológico da leishmaniose visceral humana	19
Figura 4 – Criança com hepatoesplenomegalia decorrente da LVH	21
Figura 5 – Tipos de respostas imunológicas relacionadas a LVH	22
Figura 6 – Fluxograma da busca em banco de dados	33

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1	Trabalhos selecionados para a revisão narrativa	34
Quadro 1	Imunidade Adaptativa	23
Quadro 2	Relação dos biomarcadores imunológicos e diferentes formas clínicas	25

LISTA DE SIGLAS

APR	Reagentes de fase aguda
CID	Coagulação intravascular disseminada
ELISA	Ensaio Imunoenzimático
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
IFN- γ	Interferon Gama
IgG	Imunoglobulina G
IL	Interleucina
kDNA	Cinetoplasto
LVH	Leishmaniose visceral humana
mRNA	RNA mensageiro
NK	Natural Killer
NO	Óxido Nítrico
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	Reação em cadeia polimerase
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
Th1	Células T auxiliares tipo 1
Th17	Células T auxiliares tipo 17
Th2	Células T auxiliares tipo 2
TNF	Fator de necrose tumoral

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 Epidemiologia	16
2.2 Agente etiológico e Ciclo da doença	18
2.3 Características Clínicas	20
2.4 Imunopatogênese	22
2.5 Diagnóstico e Tratamento	27
3 OBJETIVO	30
3.1 Objetivo Geral	30
3.2 Objetivos Específicos	30
4 METODOLOGIA	32
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
6 CONCLUSÃO	39
REFERÊNCIAS	40

1. INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral humana (LVH), causada pelos protozoários do complexo *Leishmania donovani*, é uma doença grave e letal que acomete principalmente as regiões tropicais e subtropicais. No entanto, a LVH é distribuída principalmente em sete países, ou seja, Brasil, Etiópia, Índia, Quênia, Somália, Sudão do Sul e Sudão, onde mais de 90% dos casos de LVH em todo o mundo são relatados. (BURZA *et al.*, 2018).

Leishmania é um parasito intracelular, de ciclo biológico digenético e sua transmissão ocorre, por meio da fêmea do flebotomíneo. Ao alimentar-se do sangue do hospedeiro, o inseto inocula formas promastigotas do protozoário presentes em sua probóscide, quando previamente infectado, em razão da ingestão de macrófagos preenchidos de amastigotas (BRASIL, 2006). Ao alcançar a corrente sanguínea, o agente etiológico atinge órgãos ricos em células do sistema fagocitário mononuclear, como baço, fígado, medula óssea e linfonodos (BASTOS *et al.*, 2015).

A maioria dos casos é de infecção assintomática ou com o desenvolvimento do quadro clássico, o qual consiste em febre, hepatoesplenomegalia, pancitopenia, perda de peso, fraqueza muscular, dor e distensão abdominal. Na fase crônica, são comumente observados o comprometimento hepático, além da presença de esplenomegalias e complicações renais (ALMEIDA *et al.*, 2017).

No diagnóstico da LVH, o padrão ouro é o exame parasitológico direto, podendo ser realizada a pesquisa do parasito por meio de punção de medula óssea, baço, fígado. Esse método pode ser realizado a partir da visualização direta do parasito ou pela cultura, contendo elevada sensibilidade e especificidade (ERBER *et al.*, 2022). Em relação aos métodos imunológicos, o teste rápido é uma opção de escolha, pois é realizado de modo simples. No entanto, apresenta sensibilidade e especificidade limitadas, resultantes de reações inespecíficas (FREIRE, 2018).

Entretanto, para o imunodiagnóstico de LVH, no Brasil, os testes mais empregados no diagnóstico são a RIFI e o ELISA, sendo o último o mais sensível (FARIAS, 2020).

Na LVH, a principal disfunção no sistema imunológico está associada à multiplicação e disseminação do parasita, que acomete do sistema fagocítico mononuclear e múltiplos órgãos, como medula óssea, linfonodos, baço e fígado.

Os indivíduos assintomáticos têm sua resposta imune caracterizada pela participação de células Th1. Já os pacientes acometidos pela LVH, com sintomas clínicos, apresentam comprometimento da produção de IL-2, IFN- γ e IL-12, devido à presença de citocinas do perfil Th2, específicas do perfil anti-inflamatório, principalmente da citocina IL-10, que favorece a multiplicação do parasito intracelular e pode interferir no controle da infecção (RODRIGUES *et al.*, 2016). A IL-17, uma citocina produzida principalmente pelas células Th17, apresenta como papel a indução da produção de quimiocinas que recrutam neutrófilos para locais inflamatórios (RODRIGUES *et al.*, 2016).

Assim, o controle da infecção por *Leishmania* spp. ocorre por meio da ativação do sistema imunológico, em que estão incluídas células do sistema imune inato, como os monócitos, neutrófilos, além dos linfócitos TCD4+ da imunidade adaptativa, em seus subgrupos Th1, Th2 e Th17. Ademais, estudos com LVH demonstraram que as citocinas IFN- γ , IL-27, IL-10, IL-6 estavam associadas à hepatoesplenomegalia, neutropenia e trombocitopenia e, mais especificamente, que os níveis elevados de IL-6 estão relacionados fortemente à morte (VASCONCELOS *et al.*, 2019). Diante do exposto, o objetivo deste trabalho compreende realizar uma revisão narrativa relacionada à leishmaniose visceral humana, com enfoque na imunopatogênese, abrangendo os biomarcadores imunológicos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 EPIDEMIOLOGIA

No mundo, estima-se que existam aproximadamente 350 milhões de pessoas em áreas de risco para as leishmanioses, cujos casos são confirmados e 88 países, dos quais 72 destes são subdesenvolvidos. A LVH, inicialmente, era limitada às áreas rurais e pequenas cidades, de acordo com o Ministério da Saúde (2019), mas agora está se expandindo para grandes centros urbanos. (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2019)

Observa-se alta prevalência em 76 países, sendo a maioria dos casos concentrados no leste da África, Brasil e Índia (**Figura 1**). Em 2020, foram notificados 12.707 novos casos, dos quais 10.666 (83,94%) se concentraram em apenas sete países: Sudão (20,1%), Índia (15,9%), Brasil (15,3%), Quênia (9,2%), Etiópia (8,4%), Eritreia (8,1%) e Sudão do Sul (6,5%) (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2021).

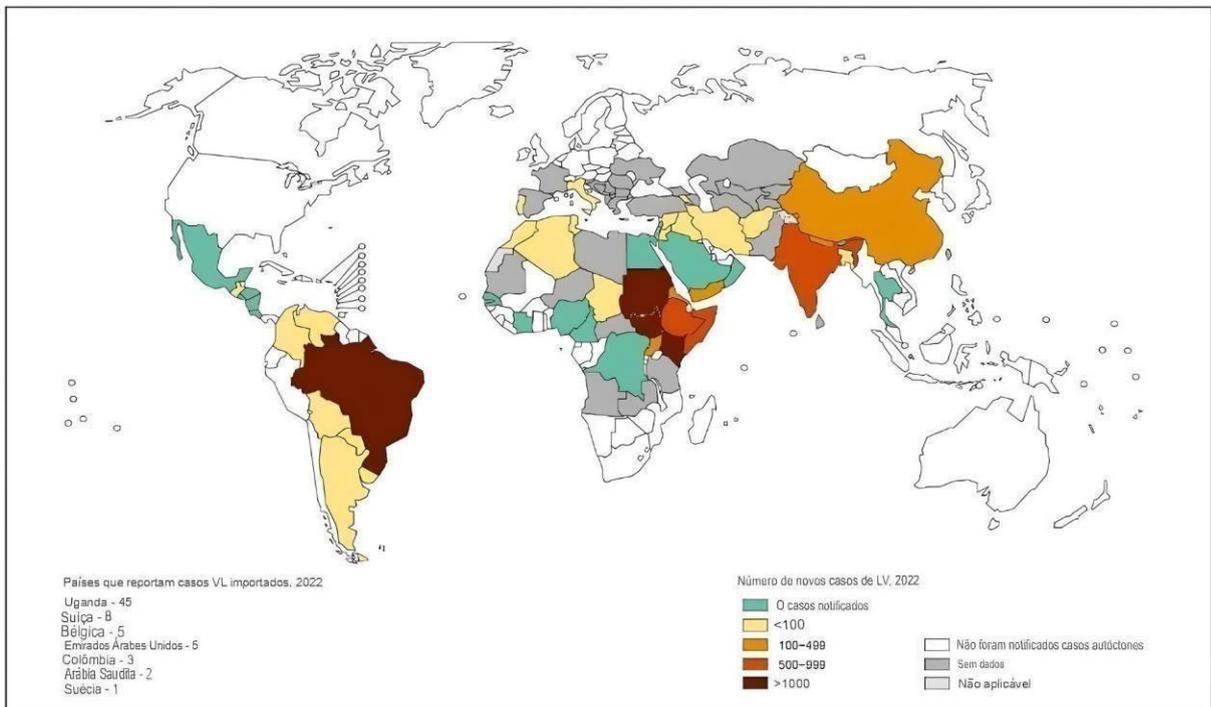
A LVH na Índia e na África demonstrou a gravidade fisiopatológica da infecção, portanto, o número de casos diminuiu devido às ações internacionais instituídas, como Plano de Eliminação, que propõe os seguintes pontos: (1) diagnóstico precoce e tratamento completo, (2) manejo de vetores como pulverização residual intradomiciliar, (3) comunicação para impacto comportamental, (4) monitoramento, (5) avaliação com orientação e (6) gerenciamento de programas (OMS, 2021; BRASIL, 2022).

Na América Latina, 12 países são endêmicos, entre eles, Brasil, Argentina, Colômbia, Venezuela e Paraguai. A média de casos entre 2001 e 2017 chegou a 3.516 por ano, com 96% diagnosticados no Brasil. A maioria desses casos está relacionada ao aumento da pobreza, bem como ao baixo índice de recursos destinados à saúde, bem como à subnotificação (OPAS, 2019; OMS, 2019).

A taxa de letalidade de LVH no Brasil é de 95%, cujos fatores socioeconômicos que contribuem para o risco envolvem condições de moradia e higiene, acesso à educação e convivência com animais peridomésticos. Além disso, este número está associado a fatores paisagísticos, ambientais e climáticos (VALERO *et al.*, 2020; BRASIL, 2022).

A doença é prevalente nas áreas rurais do Brasil e vários surtos foram registrados no Nordeste do país (REIS *et al.*, 2019). Em relação ao estado de Pernambuco, 76 municípios já notificaram casos, sendo a maioria deles localizada na capital. No período, entre 2009 e 2019, foram registrados 1.340 casos. Deste total, a cidade do Recife registrou 30,82%, enquanto Petrolina e Salgueiro registraram 14,1% e 10,74%, respectivamente (SILVA *et al.*, 2021).

Figura 1-Situação da endemicidade da leishmaniose visceral humana (LVH) em todo o mundo



Os limites e nomes apresentados e as designações utilizadas neste mapa não implicam a expressão de qualquer opinião por parte da Organização Mundial da Saúde que conceda o estatuto jurídico de qualquer país, território, cidade ou zona ou das suas autoridades, ou relativos à delimitação das suas fronteiras ou limites. As linhas pontilhadas nos mapas representam linhas de fronteira aproximadas para as quais não pode haver no entanto, seja pleno acordo. Tennessee 2023. Todos os direitos reservados

Fonte De Dados: Organização Mundial Da Saúde
Produção Map: controle de Neglected
Doenças Tropicais (DTN)
Organização Mundial Da Saúde



Fonte: Organização Mundial de Saúde (2021, tradução nossa)

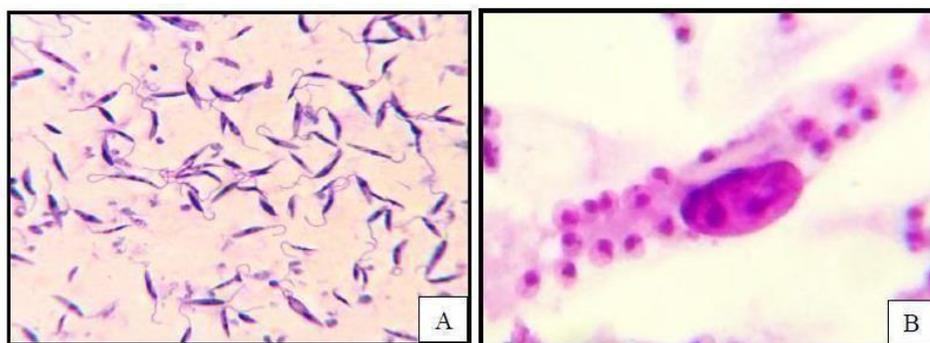
Desse modo, a LVH é uma doença de notificação compulsória e de acordo com dados do Ministério da Saúde 2019, é mais frequente em crianças menores de 10 anos (54,4%), sendo 41% dos casos registrados em menores de 5 anos. O sexo masculino é proporcionalmente o mais afetado (60%). (OCAMPO, 2021; OPAS, 2022).

A razão da maior susceptibilidade das crianças é explicada pelo estado de relativa imaturidade imunológica celular agravada pela desnutrição, que é comum nas áreas endêmicas, além de uma maior exposição ao vetor no peridomicílio. Por outro lado, o envolvimento do adultotem repercussão significativa na epidemiologia da LVH, devido às formas oligossintomáticas e assintomáticas, além das formas clínicas clássicas (GONTIJO; MELO, 2004).

2.2 AGENTE ETIOLÓGICO E CICLO DA DOENÇA

A leishmaniose visceral humana é uma doença grave causada pelo protozoário *Leishmania donovani* no Velho mundo e *Leishmania infantum* no Novo Mundo, que juntos formam o complexo *L. donovani*. O ciclo evolutivo apresenta duas formas (**Figura 2**); amastigota tem formato ovalado, é obrigatoriamente parasitaintracelular e habita células do sistema fagocitário mononuclear. No trato gastrointestinal do inseto, os parasitos se diferenciam para formas mais alongadas e com flagelo, nomeadas promastigotas, estas conferem uma maior mobilidade dos parasitos, sendo a forma infectante envolvida na transmissão pelo vetor (BRASIL, 2019, TORRES- GUERRERO *et al.*, 2017).

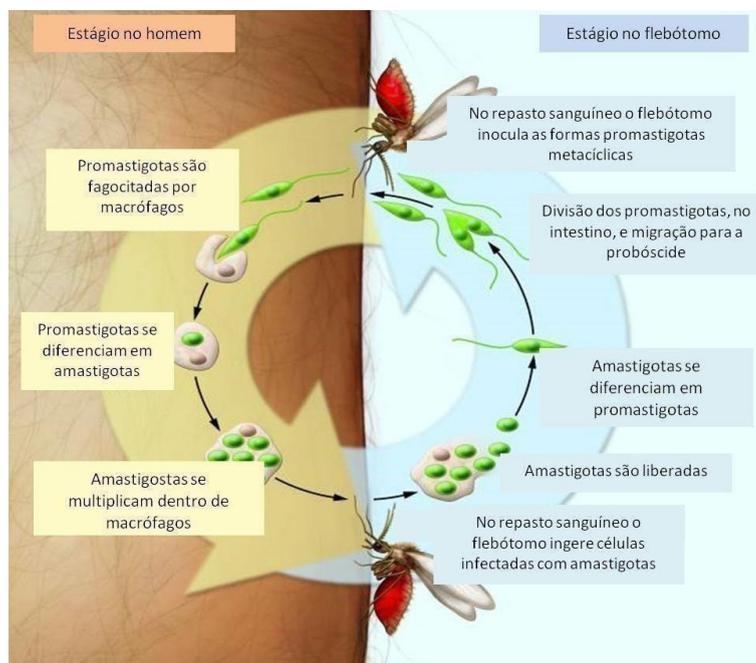
FIGURA 2 – Formas celulares de parasitas *Leishmania spp.*



Fonte: Rodrigues *et al.*, 2013. A: Promastigotas; B: Amastigotas

A transmissão do protozoário ao homem ocorre pela picada da fêmea do flebotomíneo pertencente à ordem Díptera, família *Psychodidae* e subfamília *Phlebotominae* dos gêneros *Phlebotomus* (Velho Mundo) e *Lutzomyia* (Novo Mundo). A *Leishmania* tem um ciclo de vida heteroxênico relativamente simples: um estágio promastigota extracelular, que pode ser procíclico, que se multiplica e se desenvolve no trato digestivo dos flebotomíneos, ou metacíclico infeccioso, que migra para a probóscide do flebotomíneo para ser inoculado durante a refeição de sangue. A partir de picada em humanos, essas formas infectantes (promastigotas metacíclicas) são injetadas e fagocitadas por macrófagos e outras células do sistema fagocítico. No interior dessas células, as formas promastigotas se diferenciam em amastigotas, forma evolutiva capaz de se multiplicar e infectar mais células, proporcionando o estabelecimento da doença (CDC, *et al.*, 2019; SEFARIM *et al.*, 2020) (**Figura 3**).

Figura 3 - Ciclo biológico da Leishmaniose Visceral Humana.



Fonte: Stuart *et al.*, (2008)

2.3 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

A infecção caracteriza-se por diferentes formas clínicas, que podem variar desde assintomática, oligossintomática, aguda e crônica. Com período de incubação variável, os sintomas poderão se manifestar na LVH em 10 dias até um ano após a exposição. Os sintomas comuns, tanto o Novo Mundo (espécie *Leishmania infantum*) como o Velho Mundo (espécie *Leishmania donovani*) incluem febre, anorexia, perda de peso, distensão abdominal e fraqueza, que progridem ao longo de semanas a meses (PACE, 2014).

Indivíduos assintomáticos não apresentam manifestações clínicas aparentes da doença. A forma oligossintomática é a mais frequente da doença, destacando a presença de febre, cujas formas amastigotas podem ser encontradas em macrófagos do baço, dos pulmões, no intestino, linfonodos e, principalmente, em órgãos inespecíficos. A maioria dos casos são assintomáticos ou com a evolução de quadro crônico, o qual consiste em febre, pancitopenia, perda de peso, fraqueza muscular, diarreia, dor e distensão abdominal (ARAÚJO SANTOS, 2017; WHO, 2019).

De acordo com o Ministério da Saúde (2019) e Correia (2015), a suspeita clínica ocorre na fase aguda da doença, cujo paciente, inicialmente, apresenta febre com duração inferior a quatro semanas, palidez cutâneo mucosa e hepatoesplenomegalia (**Figura 4**). Seguindo um período de estado, caracterizado por emagrecimento progressivo, palidez cutâneo mucosa e aumento da hepatoesplenomegalia. A doença pode evoluir para o período final, com febre contínua e comprometimento mais intenso do estado geral. Instala-se, então, a desnutrição, edema dos membros inferiores, hemorragias, icterícia e ascite.

Figura 4- Criança com hepatoesplenomegalia decorrente da LVH



Fonte: Costa, 2014

Nas formas graves de LVH, há uma resposta inflamatória exacerbada, que resulta na coagulação intravascular disseminada e outras manifestações, como hemorragia (COSTA *et al.*, 2013). Nesta fase, são comumente observados o comprometimento hepático, além da presença de esplenomegalias e complicações renais (ALMEIDA *et al.*, 2017).

Cargas parasitárias mais altas ocorrem em pacientes nos extremos das faixas etárias, provavelmente devido a sua baixa resposta imunológica. As cargas parasitárias e as taxas de doenças são maiores em homens em idade reprodutiva do que em outros grupos demográficos. Essa informação propõe uma hipótese que os hormônios sexuais masculinos, como testosterona e diidrotestosterona, podem ter um papel na propagação das infecções (CLOOTS *et al.*, 2020).

A imunidade desenvolvida contra infecções anteriores é um fator importante do hospedeiro que influencia o desenvolvimento da doença. Independentemente de possuir ou não sintomas em uma população imunocompetente, infecções anteriores por *Leishmania* spp. criam imunidade sólida, já que a reativação e a reinfeção são raramente observadas (RODRIGUES *et al.*, 2021).

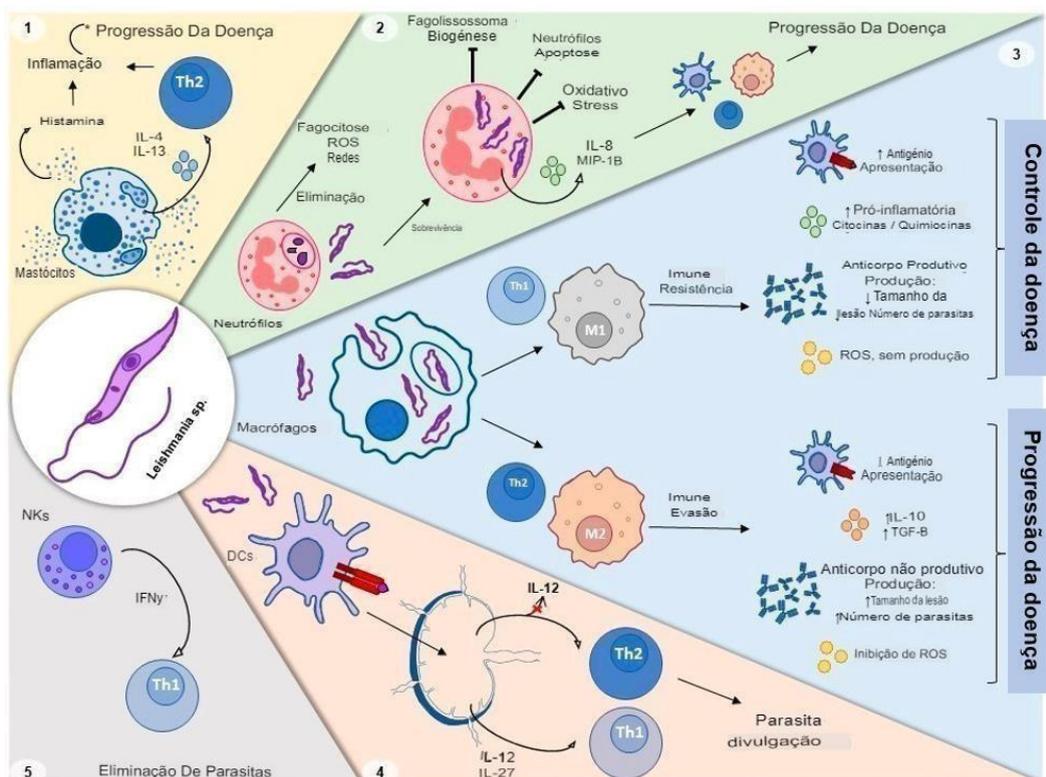
Na mesma linha, a imunossupressão adquirida influencia fortemente a evolução da infecção nesta população assintomática ou sintomática, possibilitando o estabelecimento de características clínicas em decorrência da imunopatogênese da doença (AKUFFO *et al.*, 2018).

2.4 Imunopatogênese

A LVH é um tipo de leishmaniose que acomete órgãos e tecidos e é uma das infecções parasitárias mais mortais do mundo. Devido à ampla distribuição geográfica da doença, é necessário compreender sua imunopatogênese. Dessa forma, a doença é responsável por uma diversidade de sintomas clínicos e imunológicos que podem ser revertidos com o tratamento adequado ou, até mesmo, de forma espontânea em pessoas imunocompetentes. Ao alcançar a corrente sanguínea, o agente etiológico atinge órgãos ricos em células do sistema fagocitário mononuclear, como baço, fígado, medula óssea e linfonodos (BASTOS *et al.*, 2015).

Avanços permitiram uma melhor compreensão das interações entre *Leishmania* spp. E seu hospedeiro, particularmente o papel dos diferentes tipos de células envolvidas na iniciação e desenvolvimento da resposta imunológica (**Figura 5**). As diferentes manifestações clínicas apresentadas na leishmaniose visceral humana são influenciadas não apenas pelo histórico genético, pelo estado nutricional e pela imunocompetência do hospedeiro, mas também, em grande medida, pela espécie do parasita que causa a infecção, pelo vetor envolvido e por fatores ambientais e sociais (BLACKWELL *et al.*, 2020).

Figura 5: Tipos de respostas imunológicas relacionadas a LVH



Leishmanias pp. Se relacionam com várias células imunes inatas, influenciando seu fenótipo e função, além de influenciar as respostas imunes adaptativas. Os mastócitos contribuem para o avanço da doença por meio da secreção de IL-4 e IL-13, estimulando respostas Th2 e a manutenção do parasita (**painel 1**). Neutrófilos, macrófagos e células dendríticas têm a capacidade de destruir ou favorecer a sobrevivência do parasita. Neutrófilos recrutados destroem parasitas de leishmaniose por meio de fagocitose, ROS e liberação de NETs. *Leishmania* spp. Podem permanecer temporariamente nos neutrófilos, inibindo a sua proliferação, estresse oxidativo, e retardando a apoptose dos neutrófilos. Os neutrófilos infectados também produzem IL-8 e MIP1 β , que atraem mais neutrófilos e outras células fagocíticas, favorecendo a sobrevivência e a patologia de *Leishmania* spp. (**painel 2**). Durante a leishmaniose, os macrófagos podem ser classificados em M1 ou M2. Os macrófagos M1 são responsáveis pela produção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, NO e ROS, que estimulam as respostas Th1 e auxiliam no controle da doença. Os macrófagos M2 elevam a produção de IL-10 e TGF β , contribuindo para a resposta Th2 e o avanço da doença (**painel 3**). As DCs têm a capacidade de estimular a diferenciação de Th1 da secreção de IL-12 e IL-27 ou Th2, impedindo a produção de IL-12 (**painel 4**). As células NK têm um papel protetor nas leishmanioses secretando IFN- γ para aumentar a resposta Th1 (**painel 5**). IL; interleucina; IFN; interferon; ROS; espécies oxidativas reativas; NO; óxido nítrico; NETs; armadilhas extracelulares de neutrófilos; MIP; macrófago; proteína inflamatória; TNF; fator de necrose tumoral α ; TGF β ; fator de crescimento transformador- β ; NK; assassino natural.

Fonte: Costa da Silva, 2022 (Tradução nossa)

O controle da infecção por leishmaniose visceral ocorre por meio da ativação do sistema imunológico, em que estão incluídas células do sistema imune inato, como os monócitos, neutrófilos, além dos linfócitos TCD4+ da imunidade adaptativa, incluindo seus subgrupos Th1, Th2 e Th17 (**Quadro 1**). No entanto, as formas promastigotas são fagocitadas por neutrófilos, que são as primeiras células a migrarem para o local da infecção, e podem ser eliminadas pela ação de metabólitos oxidativos, como peróxido de hidrogênio (H₂O₂), atividade enzimática e produção de óxido nítrico produzidos por estas células.

Os neutrófilos, as células dendríticas e os macrófagos são as principais células imunes que hospedam parasitas. Elas são recrutadas para o local da infecção, onde reconhecem os parasitas e, após a internalização, podem se multiplicar nos fagolisossomos. Além disso, essas células produzem citocinas e quimiocinas, que ajudam a recrutar linfócitos, desempenhando um papel fundamental no desfecho da doença (LIU; UZONNA, 2012).

Quadro 1: Principais citocinas da resposta imune adaptativa.

Imunidade Adaptativa	
Subgrupos	Principais citocinas
Th1	IL-12, IL-2, TNF
Th2	IL-4, IL-5, IL-10, IL-13
Th17	IL-17, IL-22, IL-23

Fonte: Autoria própria.

A interleucina-12 (IL-12) é uma citocina produzida na fase inicial da resposta imune inata e desempenha papel fundamental na diferenciação de células Th1. A citocina é produzida, principalmente, por células apresentadoras de antígenos (macrófagos, células dendríticas e células B). Sua principal atividade biológica é direcionada às células T e células “natural killer” (NK), estimulando a produção de citocinas, principalmente IFN- γ , proliferação celular e citotoxicidade. (GAUTAM *et al.*, 2014). O hospedeiro elabora uma resistência à infecção quando os macrófagos que fagocitam *Leishmania* spp. produzem IL-12, estimulando, assim, a expansão de clones de células T pró-inflamatórias Th1 para liberação de IFN- γ , ganhando a capacidade de eliminar os parasitas. Após este ponto, espera-se que a imunidade mediada por células esteja firmemente estabelecida para controlar a proliferação do parasita (SILVA *et al.*, 2016).

O IFN- γ apresenta um papel essencial no controle da carga parasitária e no desenvolvimento de uma imunidade duradoura. Pacientes assintomáticos também apresentam resposta Th1, sugerindo que o IFN- γ ativa macrófagos, aumentando sua capacidade leishmanicida e mantendo a infecção sob controle (KAYE; SCOTT, 2011).

A IL-10 estimula a proliferação de parasitas e interferem no controle da infecção (GAUTAM *et al.*, 2011). Portanto, IFN- γ e IL-10 são os principais marcadores da infecção por *L. infantum*, cujo equilíbrio entre essas citocinas é essencial para o controle da infecção. A IL-10 tem caráter regulador, com atividade imunossupressora e anti-inflamatória, durante a fase ativa da infecção, perpetuando a doença ao desativar células efetoras importantes como os macrófagos (SCHAUT *et al.*, 2016). É provável, portanto, que a presença desta citocina elevada impossibilite o organismo de gerar uma resposta ideal contra o parasito, sendo uma peça fundamental na suscetibilidade ao microrganismo e desencadeamento da infecção (DOS SANTOS *et al.*, 2016).

A IL-17 é uma citocina produzida principalmente pelas células Th17, a qual é responsável pela produção de quimiocinas que recrutam neutrófilos para locais inflamatórios. No entanto, em pacientes com LV causada por *L. infantum*, níveis elevados desta citocina não induziram IFN- γ /NO em concentrações suficientes para proporcionar recuperação da doença (NASCIMENTO *et al.*, 2015).

A literatura destaca que níveis mais elevados de IL-6 (>200 pg/ml) estão associados à morte, uma vez que a indução de uma citocina como o IFN- γ pode estar associada à proteção ou à doença grave, dependendo de seus níveis e do ambiente inflamatório geral (DOS SANTOS *et al.*, 2016).

Assim, nos indivíduos infectados que não desenvolvem a doença, ou seja, são assintomáticos, há uma resposta imunológica protetora mediada por citocinas pró-inflamatórias, como IFN- γ , TNF, IL-12 e IL-2, levando a um padrão de resposta T helper (Th1). Ademais, IL-17 e IL-22, produzidas por células Th17, desempenham um papel complementar na proteção contra a LVH (RODRIGUES *et al.*, 2016; DAYAKAR *et al.*, 2019; JAWED; DUTTA; MAJUMDAR, 2019). Portanto, sua patogênese envolve a estimulação de diferentes tipos de respostas imunes do hospedeiro que resultam em apresentações clínicas distintas (SCORZA *et al.*, 2017) (**Quadro 2**).

Quadro 2: Relação entre os biomarcadores imunológicos e as diferentes formas Clínicas

Aspectos Clínicos	Citocinas	Referências
Febre	IL-1 β , IL-6, TNF	CHAUHAN <i>et al.</i> , 2017; DUAN <i>et al.</i> , 2022
Perda de Peso	IL-1 β , IL-6, TNF	MONTEIRO <i>et al.</i> , 2021
Anemia	IL-6, IL-1 β	SINGH <i>et al.</i> , 2019
Tosse e dispneia	IL-6, IL-13, IL-4	MONTEIRO <i>et al.</i> , 2021; HUO <i>et al.</i> , 2022
Hemorragia	IL-6, IL-1 β ,	COSTA <i>et al.</i> , 2013
Hiperglobulinemia	IL-6	ZHAO <i>et al.</i> , 2021
Doença ativa	 IFN- γ , IL-12 e IL-10 TNF, IL-17	GAUTAM <i>et al.</i> , 2011
Pós tratamento	 IFN- γ , IL-12 e IL-10 TNF, IL-17	DUTHIE <i>et al.</i> , 2014;

Fonte: Autoria própria

A forma oligossintomática é a mais comum da doença e destaca a presença de febre, que é um dos sintomas mais notáveis da LVH. É mediada pelas citocinas pró-inflamatórias, chamadas pirogênios endógenos, principalmente IL-1 β , TNF e IL-6 (CHAUHAN *et al.*, 2017; DUAN 2022).

Depois de atingir o hipotálamo, a partir de órgãos periventriculares que não possuem barreira hematoencefálica, o pirogênio, desencadeia a liberação de prostaglandina A2 ao se ligar aos receptores de prostaglandina E na área pré-óptica do hipotálamo. Esta é a área do cérebro onde os neurônios do sistema nervoso central desregulam a temperatura e geram febre (ROTH *et al.*, 2014; GALEA *et al.*, 2021).

Ademais, a infecção pode se manifestar na fase aguda, cujos casos sintomáticos são caracterizados pela presença de febre irregular de longa duração, hepatoesplenomegalia, pancitopenia, anemia e perda de peso, que evolui e contribui para o óbito. A hepatoesplenomegalia é um dos indícios mais importantes para o diagnóstico de LVH. Nesse contexto, há um acúmulo de macrófagos contendo parasitas e hiperplasia de células plasmáticas, responsáveis pelo aumento do volume do baço. O número de parasitas no baço e as alterações em sua arquitetura estão associadas às atividades de citocinas pró-inflamatórias e reguladoras produzidas em humanos (DOS SANTOS *et al.*, 2014; HERMIDA, 2018).

Uma característica comum da LVH é a pancitopenia, que é a diminuição dos eritrócitos, glóbulos brancos e plaquetas no sangue. Devido à inflamação sistêmica e esplênica, que agrava a destruição mecânica de células sanguíneas e plaquetas em pacientes com LVH.

A anemia também é uma manifestação clínica comum e um fator de risco. No entanto, a destruição mecânica de hemácias, neutrófilos e plaquetas isoladamente no baço aumentado, por exemplo, hiperesplenismo, contribui significativamente para a anemia, independentemente da inflamação. Na verdade, a anemia está negativamente correlacionada com o nível de IL-6, a citocina que regula a síntese de reagentes de fase aguda (APR), incluindo a hepcidina; e o mRNA da hepcidina, que está negativamente correlacionado com a hemoglobina em pacientes com LVH (SINGH *et al.*, 2019).

Ainda, vale ressaltar que a hipergamaglobulinemia é mediada por citocinas pró-inflamatórias em pacientes com LVH, e o número células plasmáticas que também aumenta na medula óssea, no intestino, nos gânglios linfáticos, no baço e no fígado. A hipergamaglobulinemia é policlonal, resultando da diferenciação mediada por IL-6 e da expansão de células B em células plasmáticas produtoras de anticorpos (ZHAO,

2021).

Na fase crônica da doença, a manifestação clínica mais frequente é a hemorragia, muitas vezes como a consequência grave de morte da LVH. A coagulação intravascular disseminada (CID), bem como uma variedade de outras alterações anticoagulantes, estão relacionadas aos mecanismos subjacentes ao sangramento. A CID é caracterizada pela ativação sistêmica da coagulação sanguínea com produção e deposição de fibrina, que é seguida por eventos que levam a trombos microvasculares em vários órgãos, hemorragia ou ambos, dependendo do equilíbrio da cascata de coagulação (IBA, 2021; LEVI 2022). Ela é ativada e mantida pela existência de citocinas pró-inflamatórias, como a IL-6 e IL-1 β , que elevam a produção do fator tecidual pelas células endoteliais e mononucleares, desencadeando assim a via extrínseca da coagulação (WITKOWSKI *et al.*, 2016).

Pelo fato dos indivíduos apresentarem sintomas gerais, o diagnóstico pode ser confundido com outras doenças de semelhantes manifestações, além da possibilidade da coexistência de casos de coinfeção pelo vírus da Covid-19 (COLOMBA, 2022). Além disso, há casos de coinfeção com HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana), visto que a imunossupressão torna o paciente ainda mais suscetível. Portanto, nesses casos, recomenda-se o rastreamento do HIV em paralelo ao diagnóstico da LVH. Há, ainda, quadros de pacientes assintomáticos que, aliados à subnotificação da doença, preocupam autoridades que buscam erradicar-la (BURZA, 2018; OMS, 2021).

A análise das variações nos níveis de imunoglobulinas, especialmente a IgG e suas subclasses, durante a infecção e após o tratamento imediato e tardio, é crucial para entender a resposta humoral à LV. Esses níveis parecem ser marcadores de recidiva (BHATTACHARYYA *et al.*, 2014).

2.5 Diagnóstico e Tratamento

A leishmaniose visceral é uma doença de notificação compulsória com sintomas graves. Portanto, seu diagnóstico clínico e laboratorial, o qual deve apresentar boa sensibilidade e especificidade, deve ser realizado o mais precoce possível, devido ao alto risco de mortalidade em pacientes sem tratamento e crianças desnutridas. Em relação ao diagnóstico laboratorial, pode ser realizado o parasitológico, imunológico e molecular (BRASIL, 2017).

No diagnóstico clínico, são analisadas as características clínicas da LV, como a febre persistente (mais de duas semanas), que não responde à

antibioticoterapia (utilizada, muitas vezes, quando há suspeita de tuberculose, malária ou outras infecções); perda de peso; esplenomegalia; associação ou não à leucopenia, anemia ou trombocitopenia (CUSTODIO *et al.*, 2018).

No diagnóstico parasitológico, são utilizadas amostras de aspirados da medula óssea, do baço ou dos linfonodos para análise microscópica, revelando a presença ou não dos parasitas. Esse método pode ser realizado a partir da visualização direta do parasito ou pela cultura, contendo elevada sensibilidade e especificidade (ERBER *et al.*, 2022). O aspirado esplênico apresenta a maior sensibilidade (93-97,8%) (FONSECA *et al.*, 2013). No entanto, devido aos riscos e desafios para conseguir a amostra de aspirado esplênico, a punção aspirativa da medula óssea é indicada (SOUZA *et al.*, 2013).

Pode ser utilizada também reação em cadeia da polimerase (PCR), associada ou não à microscopia (BRASIL, 2017; CUSTODIO *et al.*, 2018). A PCR consiste na amplificação de segmentos de DNA, podendo ser direcionado ao cinetoplasto (kDNA) da forma amastigota encontrada no material biológico do paciente. A amplificação pode ser realizada a partir de diversas amostras, incluindo sangue periférico, medula óssea, soro, urina, aspirados de medula óssea, baço, fígado ou linfonodos (BARBOSA JÚNIOR, 2016). Comparativamente, o sangue periférico exibe uma sensibilidade de 92,1%, muito próxima à sensibilidade da medula óssea, 92,9%. Ademais, isso indica que para este exame existe a possibilidade para a obtenção de amostras menos invasivas e mais seguras (DEBORGGRAEVE *et al.*, 2008; RUITER *et al.*, 2014).

O diagnóstico imunológico é realizado a partir da pesquisa antígeno-anticorpo contra *Leishmania* spp. sendo baseados nos testes rápidos imunocromatográficos, que geralmente apresentam sensibilidade de 96% e especificidade de 98%, aglutinação direta que tem sensibilidade de 91 a 100% e especificidade de 72 a 100%, os ensaios de imunofluorescência indireta (RIFI) que apresentam sensibilidade 68 a 100% e especificidade 74 a 100%. Já o ensaio imunoenzimático (ELISA) apresenta sensibilidade de 71 a 100% e especificidade de 85 a 100% (CUSTODIO *et al.*, 2018). Embora existam métodos de diagnóstico e tratamento específicos, grande parte da população não tem acesso a estes procedimentos, elevando os índices de mortalidade.

O tratamento precoce pode reduzir as taxas de mortalidade, sendo uma das recomendações do Ministério da Saúde do Brasil para prevenção e controle da LV. Fatores ambientais e socioeconômicos, como cobertura vegetal, clima e pobreza influenciam a ocorrência de infecção, enquanto a imunidade do hospedeiro e

suscetibilidade genética também influenciam o desenvolvimento da doença. Assim, o tratamento de primeira linha são os antimoniais pentavalentes, e o de segunda linha são os fármacos desoxicolato e pentamidina associados à anfotericina B. Tais combinações medicamentosas são importantes pois visam minimizar o risco de resistência à monoterapia (MOHAMMAD, 2019).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Descrever os principais biomarcadores imunológicos na leishmaniose visceral humana.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar uma revisão integrativa da literatura objetivando destacar os biomarcadores imunológicos associados à LVH;
- Relacionar os biomarcadores imunológicos aos diferentes estados clínicos na LVH (assintomático, fase aguda e cura).

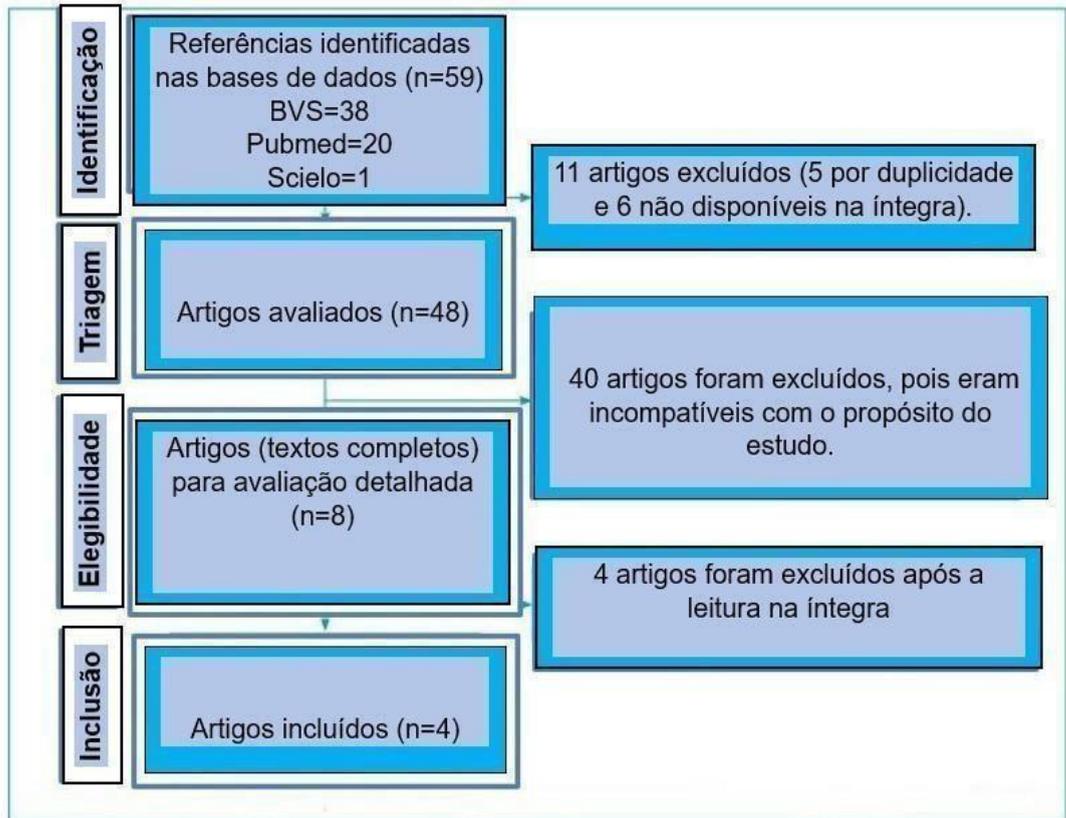
4. METODOLOGIA

O estudo trata-se de uma revisão integrativa com embasamento científico, visando reunir informações encontradas em estudos de diferentes autores, a respeito dos biomarcadores imunológicos na leishmaniose visceral humana (LVH). Para a realização desta, foram consultados os seguintes bancos de dados científicos: Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), SciELO (Scientific Electronic Library Online) e PubMed (*National Library of Medicine*), por meio dos descritores “Visceral Leishmaniasis”, “Cytokines”, “Biomarkers”. Inicialmente, artigos encontrados em duplicidade nas bases foram excluídos. A pesquisa foi realizada em 2024 e foi limitada aos últimos 10 anos (2014-2024). Os critérios de exclusão estabelecidos foram; materiais sem acesso gratuito; resumos, teses, artigos de revisão e artigos que abordassem algum tipo de coinfeção com a LVH e/ou que destacassem animais reservatórios para a doença. Os resultados foram tabulados a partir do Microsoft Office.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da busca nos bancos de dados, foram selecionados 59 artigos na pesquisa inicial, quando considerado o intervalo de tempo estabelecido: 38 na Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), 20 no Pubmed e 1 no Scielo. Dentre esses, 5 artigos foram excluídos por serem duplicidades e 6 por não estarem disponíveis na íntegra. Os artigos restantes passaram por uma triagem com a leitura de título e resumo, totalizando 48 artigos, dos quais e 28 foram removidos pois eram incompatíveis com o propósito do estudo, uma vez que não abordavam biomarcadores imunológicos, ou não estavam disponíveis gratuitamente. Em uma análise detalhada, 8 artigos apresentaram textos completos, desses destes, 4 artigos foram excluídos após a leitura na íntegra por não corresponderem ao objetivo do estudo. Portanto, a pesquisa resultou em 4 artigos que se enquadraram nos critérios de inclusão (**Figura 6**).

Figura 6: Fluxograma da busca em banco de dados.



A investigação da LVH tem sido associada à detecção de vários biomarcadores (**Tabela 1**). Os biomarcadores têm um papel crucial para o monitoramento das informações do paciente, abrangendo o estado imunológico, a resposta ao tratamento, bem como o retorno epidemiológico, a exposição de humanos e animais a vetores e o modelo de hospedeiros reservatórios (IBARRA-MENESES *et al.*, 2020). No entanto, a resposta inflamatória é um estágio importante para a defesa protetora do hospedeiro na LVH, e tem sido frequentemente associada à produção de citocinas. Dentre os fatores que resultam no desenvolvimento da doença ativa, se destacam a inibição da secreção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias (TASEW *et al.*, 2021), juntamente com alterações na resposta imune humoral (anticorpos) e celular adaptativa (PALÁCIOS *et al.*, 2021).

Tabela 1. Trabalhos selecionados para a revisão narrativa.

Autores	Citocinas/Quimiocinas	Estado geral do paciente
Rodrigues et al. (2021)	TNF, IFN- γ , IL-2	Fase aguda
Das et al. (2020)	IL-10, IFN- γ , TNF	Assintomáticos (alguns converteram para sintomáticos)
Ibarra-Meneses et al. (2017a)	MCP-1, IL-2	Assintomáticos
Ibarra-Meneses et al. (2017b)	IFN- γ , IL-2, MIG e IP-10	Pós-tratamento

Fonte: A autora, 2024.

No estudo conduzido por Rodrigues e colaboradores (2021), os pacientes avaliados encontravam-se na fase aguda da leishmaniose visceral, caracterizada por uma resposta imunológica intensa e inflamatória. Durante esta fase, foi possível observar a elevação significativa de citocinas e quimiocinas que desempenham papéis centrais na defesa do organismo contra a infecção causada pela *Leishmania*. Entre as principais citocinas pró-inflamatórias, destacou-se o TNF (Fator de Necrose Tumoral), um dos biomarcadores mais elevados na fase aguda. O TNF é crucial na mediação da inflamação e no controle da infecção, promovendo a destruição das células infectadas e a produção de outras citocinas inflamatórias. No entanto, os altos níveis dessa citocina também podem estar relacionados ao agravamento do quadro clínico, contribuindo para o dano tecidual, especialmente no fígado e no baço, órgãos onde a carga parasitária é geralmente maior.

Além do TNF, a citocina IFN- γ também apresentou níveis elevados, sendo um dos principais mediadores da resposta imune de tipo Th1. O IFN- γ é fundamental para ativação de macrófagos, células responsáveis por fagocitar e eliminar os parasitas intracelulares. No estudo, os altos níveis de IFN- γ observados nos pacientes reforçam a predominância de uma resposta imune celular efetiva, essencial para o controle da infecção. Entretanto, apesar dessa resposta robusta, os pacientes na fase aguda continuam a manifestar sintomas clínicos graves, como febre, hepatoesplenomegalia e anemia, indicando que, embora necessária, a ativação imune exacerbada pode contribuir para a patologia da doença (RODRIGUES *et al.*, 2021).

Além das citocinas inflamatórias observadas, a IL-2 também desempenhou um papel importante na fase aguda, embora de maneira menos expressiva em comparação com outras citocinas, como TNF e IFN- γ . A IL-2 é essencial para a proliferação e ativação de células T, fundamental para a resposta imune adaptativa contra a *Leishmania*. Sua presença na fase aguda indica uma tentativa do sistema imunológico de realizar a expansão clonal de células T efetoras que auxiliam no combate à infecção. No entanto, apesar da ativação inicial, o equilíbrio entre as citocinas pró-inflamatórias e imunossupressoras, como IL-10, parece impedir uma resposta eficiente o suficiente para controlar a infecção de maneira imediata (RODRIGUES *et al.*, 2021).

Comparando os achados de Rodrigues *et al.* (2021) com o estudo de Souza (2023), o TNF foi identificado como essencial no controle da infecção, mas também associado ao agravamento dos sintomas devido aos danos teciduais, especialmente no fígado e no baço. O IFN- γ foi crucial para resposta imune de Th1. Já a IL-2, importante para a proliferação de células T, foi relatada em altos níveis em ambos os estudos, sendo fundamental para a resposta adaptativa, mas insuficiente para um controle imediato da infecção. Em ambos os casos, o equilíbrio entre a resposta inflamatória e a regulação anti-inflamatória foi ressaltado como chave para evitar danos exacerbados.

No estudo conduzido por Das *et al.* (2020), os pacientes estavam predominantemente na fase assintomática da leishmaniose visceral. A pesquisa focou na identificação de possíveis biomarcadores que pudessem prever a conversão de infecções assintomáticas para a doença sintomática. Assim, por meio da análise de citocinas, como IFN- γ , IL-10 e TNF, observou-se um padrão imunológico específico que poderia favorecer a conversão clínica na LVH.

Em pacientes assintomáticos, a IL-10 apresentou níveis elevados, mesmo antes da manifestação do quadro clínico. Essa citocina imunossupressora desempenha um papel crucial no controle da inflamação, entretanto, pode favorecer a sobrevivência do parasita ao inibir uma resposta inflamatória excessiva. Conforme o desenvolvimento de sintomas na leishmaniose visceral, os níveis de IL-10 permaneceram elevados, enquanto a concentração de IFN- γ não apresentou um aumento significativo, sugerindo que a produção dessa citocina não foi suficiente para controlar a progressão da doença (DAS *et al.*, 2020).

Por outro lado, os níveis de TNF não apresentaram variação significativa entre os estágios assintomático e sintomático, indicando que essa citocina pode não ser um marcador ideal para prever a conversão da infecção. Isso contrasta com o comportamento de IL-10, que se revelou como um indicativo da transição para a fase sintomática (DAS *et al.*, 2020).

Esses achados sugerem que o monitoramento dos níveis de IL-10 em pacientes assintomáticos pode ser um indicador precoce de risco de desenvolvimento da leishmaniose visceral sintomática. Além disso, a identificação desse biomarcador pode ser útil para a implementação de intervenções médicas nos pacientes, possibilitando o tratamento antes da progressão para a fase ativa da doença (Das *et al.*, 2020).

Comparando os achados de Das *et al.* (2020) com o estudo Lima (2015), pode-se destacar que ambos os estudos relataram níveis significativamente elevados de IL-10, IFN- γ e TNF em pacientes na fase aguda da leishmaniose visceral. Em ambos os casos, o TNF foi identificado como um mediador central da resposta inflamatória, essencial para o controle da infecção, mas também associado a danos teciduais que podem agravar os sintomas. O IFN- γ foi elevado em ambos os estudos, sugerindo seu papel crucial na resposta imune contra a *Leishmania* spp. Entretanto, apesar de altos níveis de IFN- γ , a presença em níveis elevados dessa citocina não foi suficiente para prevenir os sintomas graves da doença. Por outro lado, a IL-10 apresentou-se elevada em ambos os estudos, como uma tentativa do organismo ou da própria *Leishmania* de regular a resposta inflamatória excessiva. Essa regulação, no entanto, pode permitir a persistência do parasita, já que IL-10 desempenha propriedades imunossupressoras no organismo, inibindo a ativação de macrófagos e a produção de outras citocinas pró-inflamatórias, como o TNF.

No estudo realizado por Ibarra-Meneses e colaboradores (2017a), os pacientes estavam na fase assintomática da leishmaniose visceral, cujo objetivo foi identificar biomarcadores que permitissem diferenciar aqueles que permaneceriam assintomáticos dos que progrediriam para a forma ativa da doença. Durante essa fase, foram analisados níveis de citocinas, como IL-2, e quimiocinas, como MCP-1.

Entre os principais achados, a IL-2 destacou-se como um marcador imunológico importante para a detecção de indivíduos infectados, mas assintomáticos. A IL-2 desempenha um papel crucial na proliferação e ativação de células T, sendo

um indicativo de uma resposta imune ativa, mesmo na ausência de sintomas clínicos evidentes. Isso sugere que os indivíduos assintomáticos, embora não apresentem sinais de doença, possuem uma resposta imune celular funcional, capaz de controlar a infecção sem permitir a manifestação clínica (IBARRA-MENESES *et al.*, 2017a).

Além disso, foi observada uma elevação nos níveis de MCP-1, uma quimiocina responsável por atrair monócitos para o local da infecção. A MCP-1, em conjunto com outras quimiocinas inflamatórias, pode indicar uma atividade inflamatória moderada nesses pacientes, sugerindo que o sistema imunológico continua a responder à presença do parasita, embora de maneira controlada, prevenindo a progressão para uma fase mais grave da doença (IBARRA-MENESES *et al.*, 2017a).

Comparando os achados de Ibarra-Meneses *et al.* (2017a) com os apresentados por Farias (2020), em que ambos os casos, a quimiocina MCP-1 estava elevada nos pacientes, assim, desempenhando um papel crucial no recrutamento de monócitos para o local da infecção, essencial para a resposta imune, mas também associada a um aumento da inflamação local. A IL-2, por sua vez, foi observada em níveis moderadamente elevados nos dois estudos, sendo fundamental para a proliferação e ativação de células T, uma resposta adaptativa importante para o controle da infecção, mesmo em pacientes assintomáticos. Esses achados sugerem que, apesar de uma resposta imune presente, a elevação de MCP-1 e IL-2 pode não ser suficiente para controlar a progressão da doença em todos os casos, especialmente nos assintomáticos, cujo controle da infecção é mais eficiente.

Os pacientes avaliados por Ibarra-Meneses *et al.* (2017b) no período pós-tratamento da leishmaniose visceral apresentaram níveis elevados de IFN- γ , IL-2, IP-10 e MIG, citocinas e quimiocinas fundamentais na resposta imunológica para manter o controle da infecção após a terapia. A IFN- γ é uma citocina fundamental na resposta Th1 que promove a eliminação dos parasitas intracelulares remanescentes após o tratamento. Sua elevação no pós-tratamento sugere que o sistema imunológico dos pacientes continua ativo, buscando evitar a recidiva da infecção.

A IL-2, crucial para a proliferação de células T, foi detectada em níveis elevados, refletindo uma resposta imune adaptativa robusta. O aumento da IL-2 pós-tratamento indica que o sistema imunológico está reforçando suas defesas para evitar uma nova infecção ou recrudescência da leishmaniose. Essa ativação das células T é um

componente chave para manter a vigilância imunológica mesmo após o término da terapia (Ibarra-Meneses *et al.*, 2017b).

Além disso, as quimiocinas IP-10 e MIG foram observadas em níveis elevados, desempenhando papéis cruciais no recrutamento de células T e macrófagos para os locais onde o parasita poderia estar presente. A IP-10, induzida por IFN- γ , está associada à migração de células efetoras para o local da infecção, enquanto a MIG contribui para o direcionamento de células T CD4+ e CD8+, componentes essenciais para uma resposta imunológica eficaz (Ibarra-Meneses *et al.*, 2017b).

Esses achados sugerem que, no período pós-tratamento, os pacientes mantêm uma resposta imune ativa, caracterizada pela elevação de IFN- γ , IL-2, IP-10 e MIG, como parte de um esforço contínuo do organismo para evitar a recidiva ou a persistência do parasita. Esse perfil imunológico pós-tratamento reflete uma ativação prolongada da resposta Th1, que é crucial para o sucesso a longo prazo do tratamento e para garantir que o parasita seja completamente eliminado, prevenindo possíveis recidivas (Ibarra-Meneses *et al.*, 2017b).

Ao comparar os achados de Ibarra-Meneses *et al.* (2017b) com os apresentados por Santos (2017), observam-se elevações semelhantes nas citocinas IFN- γ e IL-2 em pacientes no período pós-tratamento. Ambos os estudos demonstraram que, no pós-tratamento, IFN- γ e IL-2 mantêm níveis elevados, indicando uma resposta imune adaptativa contínua para evitar recaídas, com IFN- γ ativando macrófagos e IL-2 promovendo a proliferação de células T. Essa resposta sustentada sugere que, após o tratamento, o sistema imunológico permanece ativo para garantir a eliminação completa do parasita e minimizar as chances de recidivas da doença.

6. CONCLUSÃO

- Assim como as interleucinas, as quimiocinas também têm um papel fundamental no desenvolvimento da leishmaniose visceral humana;
- A quimiocinas MCP-1, MIG e IP-10 são biomarcadores promissores para detecção de casos assintomáticos na LVH;
- Níveis elevados de IL-10 constituem um importante biomarcador da conversão de casos assintomáticos para sintomáticos;
- Entre as citocinas pró-inflamatórias, o TNF representa um dos biomarcadores que se mantém elevados na fase aguda;
- Deve-se monitorar os níveis de IL-2, pois é um biomarcador importante para indivíduos assintomáticos, para a fase aguda, como também para cura (pós-tratamento) na LVH.

REFERÊNCIAS

- AKUFFO, H. et al. Novos insights sobre leishmaniose em imunossuprimidos. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 12, e0006375, 2018.
- ALMEIDA, J. F. et al. Epidemiologia da leishmaniose visceral humana. *Revista de Saúde Pública*, v. 51, p. 72, 2017.
- BARBOSA JÚNIOR, W. L. Análise das regiões polimórficas do gene HASPB (K26) de *Leishmania infantum* em amostras clínicas positivas para leishmaniose visceral e coinfeção LV/HIV. 2016. Dissertação de Mestrado (Mestre em Biociências) – Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2016.
- BASTOS, T. et al. Aspectos gerais da leishmaniose visceral. *Enciclopédia Biosfera*, Jandaia, v. 11, n. 22, 2015.
- BLACKWELL, J. M. Papel do complemento de macrófagos e receptores semelhantes a lectinas na ligação de *Leishmania* a macrófagos. *Immunology Letters*, v. 11, n. 3–4, p. 227–232, 2020.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. *Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral*. Brasília, 2006. Disponível em: https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmanios_e_visceral.pdf. Acesso em: 17 mar. 2023.
- BURZA, S et al. Leishmaniasis. *The Lancet*, New York, v. 392, n. 10151, p. 951–970, 2018.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION – CDC. Leishmaniasis, 2020. Disponível em: <https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/>. Acesso em: dez. 2020.
- CHAUHAN, P. et al. Papéis redundantes e regulatórios para receptores Toll-like na infecção por *Leishmania*. *Clinical and Experimental Immunology*, v. 190, p. 167–186, 2017.
- CHAUHAN, P.; SAHA, B. Funções redundantes e regulatórias para receptores Toll-like na infecção por *Leishmania*. *Clinical and Experimental Immunology*, v. 190, p. 167–186, 2017.
- CLOOTS, K. et al. Predominância masculina em casos notificados de leishmaniose visceral: natureza ou criação? Uma comparação de dados baseados na população com dados relatados por unidades de saúde. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 14, e0007995, 2020.
- COLOMBA, C. et al. Third case of visceral leishmaniasis in COVID-19: mini review article. *Pathogens*, San Francisco, v. 11, n. 8, p. 913, 2022.

CORREIA, L. O. S.; PADILHA, B. M.; VASCONCELOS, S. M. L. Métodos de avaliação da completude dos dados nos sistemas de informação em saúde no Brasil: uma revisão sistemática. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 19, n. 11, p. 4467–4478, 2014.

COSTA, D. L. et al. Serum cytokines associated with severity and complications of kala-azar. *Pathogens and Global Health*, v. 107, p. 78–87, 2013.

COSTA, D. L.; COSTA, C. H. N. Leishmaniose visceral. In: CONCEIÇÃO-SILVA, F.; ALVES, C. R., comps. *Leishmanioses do continente americano* [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, p. 327-353, 2014.

CUSTÓDIO, E. et al. Nutritional supplements for patients being treated for active visceral leishmaniasis (Review). *Cochrane Database of Systematic Reviews*, n. 3, Art. No.: CD012261, 2018. Disponível em: <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD012261.pub2/full>. Acesso em: [data de acesso].

CUSTÓDIO, E. et al. Nutritional supplements for patients being treated for active visceral leishmaniasis (Review). *Cochrane Database of Systematic Reviews*, n. 3, Art. No.: CD012261, 2018. Disponível em: <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD012261.pub2/full>.

DAS, V. N. R. et al. Conversion of asymptomatic infection to symptomatic visceral leishmaniasis: a study of possible immunological markers. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 14, n. 6, p. e0008272, 2020.

DAYAKAR, A. et al. Cytokines: key determinants of resistance or disease progression in visceral leishmaniasis: opportunities for novel diagnostics and immunotherapy. *Frontiers in Immunology*, v. 10, p. 670, 2019.

DE RUITER, C. M. et al. Molecular tools for diagnosis of visceral leishmaniasis: systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 52, n. 9, p. 3147–3155, 2014.

DEBORGGRAEVE, S. et al. Diagnostic accuracy of a new *Leishmania* PCR for clinical visceral leishmaniasis in Nepal and its role in diagnosis of disease. *Tropical Medicine & International Health*, Oxford, v. 13, n. 11, p. 1378–1383, 2008.

DOS SANTOS, P. L. et al. The severity of visceral leishmaniasis correlates with elevated levels of serum IL-6, IL-27 and sCD14. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 10, n. 1, e0004375, 2016.

DUAN, T. et al. Sinalização do receptor Toll-Like e seu papel na imunidade mediada por células. *Frontiers in Immunology*, v. 13, art. 812774, 2022.

DUAN, T.; WANG, H. Y.; WANG, R. F. Sinalização do receptor Toll-Like e seu papel na imunidade mediada por células. *Frontiers in Immunology*, v. 13, p. 812774, 2022.

DUTHIE, M. S. et al. Alteração dos perfis de biomarcadores séricos da leishmaniose visceral durante o tratamento. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, v. 33, p. 639–649, 2014. DOI: 10.1007/s10096-013-1999-1.

- ERBER, A. et al. Diagnosis of visceral and cutaneous leishmaniasis using loop-mediated isothermal amplification (LAMP) protocols: a systematic review and meta-analysis. *Parasites & Vectors*, Londres, v. 15, n. 1, p. 34, 2022.
- FARIAS, L. T. M. Caracterização dos aspectos imunológicos na leishmaniose recidiva cútis. 2020. 58 f. Dissertação (Mestrado em Patologia) – Universidade Federal da Bahia, Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2020.
- FARIAS, R. C. et al. Estudo comparativo entre metodologias para o diagnóstico da leishmaniose visceral humana: uma revisão integrativa. *Brazilian Journal of Development*, Curitiba, v. 6, n. 9, p. 71398–71409, 2020.
- FREIRE, M.L et al. Evaluation of a new brand of immunochromatographic test for visceral leishmaniasis in Brazil made available from 2018. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, Brasília, v. 60, p. 1-4, 13 set. 2018.
- GALEA, I. A barreira hematoencefálica na infecção e inflamação sistêmica. *Cellular & Molecular Immunology*, v. 18, p. 2489–2501, 2021.
- GAUTAM, S. et al. Exaustão de células T CD8 na leishmaniose visceral humana. *The Journal of Infectious Diseases*, v. 209, n. 2, p. 290–299, 2014. DOI: 10.1093/infdis/jit401.
- GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 7, n. 3, p. 338-349, 2004.
- HERMIDA, M. D. et al. Desorganização histológica dos compartimentos do baço e leishmaniose visceral grave. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 8, p. 394, 2018. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00394.
- HUO, R. et al. Potencial terapêutico dos inibidores da Janus Kinase para o tratamento da doença pulmonar intersticial. *Drug Design, Development and Therapy*, v. 16, p. 991–998, 2022.
- IBA, T.; LEVY, J. H. Papéis das anormalidades da coagulação e microtrombose na sepse: fisiopatologia, diagnóstico e tratamento. *Archives of Medical Research*, v. 52, p. 788–797, 2021.
- IBARRA-MENESES, A. V.; MORENO, J.; CARRILLO, E. New strategies and biomarkers for the control of visceral leishmaniasis. *Tendências em Parasitologia* v. 36, n. 1, p. 29-38, 2020.
- IBARRA-MENESES, A. V. et al. IFN- γ , IL-2, IP-10, and MIG as biomarkers of exposure to *Leishmania* spp., and of cure in human visceral leishmaniasis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 7, p. 200, 2017a.
- IBARRA-MENESES, A. V. et al. Monocyte chemotactic protein 1 in plasma from soluble *Leishmania* antigen-stimulated whole blood as a potential biomarker of the cellular immune response to *Leishmania infantum*. *Frontiers in Immunology*, v. 8, p. 1208, 2017b.

JAWED, J. J.; DUTTA, S.; MAJUMDAR, S. Functional aspects of T cell diversity in visceral leishmaniasis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 117, n. December 2018, p. 109098, 2019.

KAYE, P.; SCOTT, P. Leishmaniasis: complexity at the host-pathogen interface. *Nature Reviews Microbiology*, v. 9, p. 604–615, 2011. DOI: 10.1038/nrmicro2608.

LEVI, M. Coagulação intravascular disseminada (DIC). Medscape, 2022. Disponível em: <https://emedicine.medscape.com/article/199627-overview>.

LIMA, Simone Soares. IFN- γ , IL-6, CXCL8 e IL-10 são marcadores precoces da evolução da leishmaniose visceral. 2015. 149 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Saúde) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2015.

LIU, Dong; UZONNA, Jude E. The early interaction of *Leishmania* with macrophages and dendritic cells and its influence on the host immune response. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, Madri, v. 2, p. 83, 2012.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (MS). Secretaria de Vigilância em Saúde. *Boletim epidemiológico: situação epidemiológica das zoonoses de interesse para a saúde pública*. Brasília: MS, 2010. Citado: 27 ago. 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. *Guia de Vigilância em Saúde*. 3. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2019.

MONTEIRO, M. J. S. D. et al. Estado nutricional e níveis de vitamina A e zinco em pacientes com calazar no Piauí, Brasil. *Revista de Medicina e Tropas*, v. 54, e08002020, 2021.

NASCIMENTO, M. S. L. et al. Interleukin 17 A acts synergistically with interferon- γ to promote protection against *Leishmania infantum* infection. *Journal of Infectious Diseases*, v. 211, n. 6, p. 1015-1026, 2015.

PACE, D. Leishmaniasis. *Journal of Infection*, v. 69, n. S1, p. S10–S18, 2014.

REIS, L. L. et al. Leishmaniose visceral e sua relação com fatores climáticos e ambientais no Estado do Tocantins, Brasil, 2007 a 2014. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 35, e00047018, 2019.

RODRIGUES, Lorranny Santana et al. Multifunctional, TNF- α and IFN- γ -secreting CD4 and CD8 T cells and CD8^{high} T cells are associated with the cure of human visceral leishmaniasis. *Frontiers in Immunology*, v. 12, p. 773983, 2021.

RODRIGUES, V. et al. Regulation of immunity during visceral *Leishmania* infection. *Parasites & Vectors*, v. 9, n. 1, p. 118, 2016.

ROTH, J.; BLATTEIS, C. M. Mecanismos de produção de febre e lise: lições da febre experimental de LPS. *Comprehensive Physiology*, v. 4, p. 1563–1604, 2014.

SANTOS, G. M. et al. Aspectos epidemiológicos e clínicos da leishmaniose visceral no estado do Piauí, Brasil. *Revista Ciência e Desenvolvimento*, v. 10, n. 2, p. 142-153, 2017.

SANTOS, Rosiane Freire dos. Ação terapêutica e moduladora da quercetina na leishmaniose tegumentar experimental por *Leishmania braziliensis* e *Leishmania major*. 2017. 139 f. Tese (Doutorado em Microbiologia) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas, Rio de Janeiro, 2017.

SCHAUT, R. G. et al. Células B IgDhi regulatórias suprimem a função das células T via IL-10 e PD-L1 durante a leishmaniose visceral progressiva. *The Journal of Immunology*, v. 196, n. 10, p. 4100–4109, 2016.

SCORZA, B. M.; CARVALHO, E. M.; WILSON, M. E. Manifestações da leishmaniose humana. *Ciência Molecular*, v. 18, p. 1296, 2017. doi: 10.3390/ijms18061296.

SERAFIM, T. D.; INIGUEZ, E.; OLIVEIRA, F. *Leishmania infantum*. *Trends in Parasitology*, v. 36, n. 1, p. 80–81, 2020. DOI: 10.1016/j.pt.2019.10.006.

SILVA, J. C. J. C. et al. Comparação entre microscopia óptica e reação em cadeia da polimerase quantitativa para estimativa de parasitemia em pacientes com calazar e modelagem de infecciosidade para o vetor *Lutzomyia longipalpis*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 111, p. 517–522, 2016.

SILVA, Maria et al. Optimization of single-tube nested PCR for the diagnosis of visceral leishmaniasis. *Experimental Parasitology*, Nova York, v. 134, n. 2, p. 206–210, 2013.

SINGH, P.; KUO, B. Náusea: uma revisão da fisiopatologia e terapêutica. *Advanced Therapy in Gastroenterology*, v. 9, p. 98–112, 2016.

SOUZA, Beatriz Vasconcelos. Caracterização da resposta imune sistêmica e in situ na leishmaniose cutânea localizada humana. 2023. 62 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Humana e Experimental) – Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Medicina, Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2023.

STUART, K. et al. Kinetoplastids: related protozoan pathogens, different diseases. *J Clin Invest*, v. 1, p. 1301-1310, 2008.

TORRES-GUERRERO, E. et al. Leishmaniasis: a review. *F1000Research*, v. 6, 2017.

VALERO, N. N. H.; URIARTE, M. Environmental and socioeconomic risk factors associated with visceral and cutaneous leishmaniasis: a systematic review. *Parasitology Research*, Berlim, v. 119, n. 2, p. 365–384, 2020.

WITKOWSKI, M.; LANDMESSER, U.; RAUCH, U. Fator tecidual como elo entre inflamação e coagulação. *Trends in Cardiovascular Medicine*, v. 26, p. 297–303, 2016.

ZHAO, E. J. et al. Hipergamaglobulinemia policlonal: avaliação, interpretação clínica e tratamento. *The Lancet Haematology*, v. 8, e365–e375, 2021.