

PAPEL DAS CITOCINAS INFLAMATÓRIAS NA ETIOLOGIA DA DIARRÉIA EM PACIENTES COM LEISHMANIOSE VISCERAL (CALAZAR)

César Martins Cortez Vilar (bolsista do PIBIC/CNPq), Paulo Rocha de Pádua (colaborador, CCS, UFPI), Ítalo Machado Martins (colaborador, CCS, UFPI), Carlos Henrique Nery Costa (Orientador, depto. de Medicina Comunitária, CCS, UFPI)

Introdução: As leishmanioses são doenças causadas por protozoários da família Tripanossomatidae, gênero *Leishmania* e três espécies principais: *L.donovani*, *L.infantum*, *L.chagasi*, sendo esta última a espécie mais freqüente no Brasil. A transmissão pode ocorrer por várias vias, sendo a principal a picada do flebótomo *Lutzomyia longipalpis* (Continento americano), o que explica o aumento da transmissão da doença após o período chuvoso. Deve-se considerar, entretanto, alguns meios de transmissão menos freqüentes, dentre eles tem-se, a transfusão de sangue, o compartilhamento de seringas e transmissão vertical (transplacentária).¹

O Estado do Piauí, onde a doença é conhecida desde 1934, é um dos principais focos da doença no Brasil. A década de 80 ficou marcada por uma epidemia que atingiu uma vasta extensão do território Piauiense, concentrando-se principalmente na área urbana da capital, Teresina.²

É uma síndrome clínica caracterizada, classicamente, por febre regular de longa duração, acentuado emagrecimento, intensa palidez cutâneo-mucosa, associados a uma exuberante hepatoesplenomegalia, anemia, leucopenia e trombocitopenia, evoluindo de forma subaguda ou crônica.¹⁻³

A anemia severa, febre por mais de 60 dias, diarreia e icterícia são fatores que afetam negativamente o prognóstico da leishmaniose visceral, complicando a evolução clínica destes pacientes. Assim, uma estratégia, em potencial, para reduzir as taxas de mortalidade, seria um maior estudo para identificação e solução destes fatores negativos.¹⁰

A relação entre a diarreia e a atividade inflamatória vem sendo demonstrada em diversas publicações recentes. Um marco reconhecido na avaliação da atividade inflamatória é a verificação dos níveis de citocinas plasmáticas.¹¹⁻¹³

As doenças inflamatórias intestinais, notadamente Doença de Crohn e Retocolite Ulcerativa, tem sido alvo de diversos estudos no intuito de determinar sua etiologia e estratégias terapêuticas. Estas doenças são condições inflamatórias crônicas, nas quais a diarreia é um sintoma clássico e quase sempre presente¹¹.

Vários estudos tem sido realizados no intuito de investigar os mecanismos da diarreia em paciente com doença inflamatória intestinal. Boa parte deles teve sua atenção voltada para possíveis alterações no transporte iônico ligadas à inflamação da mucosa.

Foi identificado que as citocinas interferon gama (IFN- γ), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interleucina 1-beta promovem regulação negativa nos transportadoras de íons na mucosa intestinal, como Na/K ATPase, Cl/HCO₃ e Na-H. Dessa forma, eles atuam reduzindo os processos absorptivos. Esses achados são também condizentes com o fato de que anticorpos monoclonais anti-TNF α (infliximab, adalimab) são efetivos no controle da diarreia em pacientes com doença de Crohn.¹¹

Outros estudos identificaram ainda que a resposta Th1, que gera, por exemplo IFN- γ e TNF- α recebido importância na produção de danos no epitélio intestinal na doença de Crohn, enquanto a interleucina 13 (IL-13), uma citocina produzida por células Th2, parece ter papel chave na indução da apoptose das células da mucosa intestinal na retocolite ulcerativa.¹² A complexidade do estudo aumenta à medida em que são descritas células T regulatórias (Treg, ou Th17), que teriam papel no desencadeamento de processos auto-imunes, bem como uma terceira linhagem de células T *helper* (Th17).¹²⁻¹³

A reação imunológica do organismo à *Leishmania chagasi* e *infantum* ainda não é totalmente compreendida. Sabe-se, entretanto, que pacientes que desenvolvem respostas imunes efetivas contra o parasita desenvolvem respostas predominantemente do tipo celular, sendo observado aumento nos níveis plasmáticos de IFN- γ , liberado por Th1. Por outro lado, os pacientes que desenvolvem a sintomatologia mostram respostas mistas, com alguma predominância de polarização Th2 (IL-4, IL13)¹⁴⁻¹⁵.

A diarreia é um sintoma que agrava o quadro e está presente em cerca de 50% dos pacientes com a doença. Um estudo relacionado por nosso grupo, que encontra-se em vias de

publicação, sugere que a etiologia da diarreia nestes pacientes não está relacionada a patógenos como bactérias, protozoários ou helmintos. Estudar as citocinas inflamatórias em pacientes com leishmaniose visceral que apresentem ou não diarreia no curso clínico é de importância fundamental na elucidação desta relação.¹⁰

Metodologia: O presente estudo foi realizado no Instituto de Doenças Tropicais Natan Portela – IDTNP no município de Teresina (PI), Brasil, no período de Agosto de 2009 a Julho de 2010. Estão enquadrados neste estudo todos os pacientes com leishmaniose visceral (calazar) admitidos no IDTNP, separando-se os controles (sem diarreia) dos pacientes diarreicos segundo critério pré-estabelecido. Estão excluídos pacientes portadores de síndrome da imunodeficiência humana adquirida e pacientes em uso de imunossupressores.

Trata-se de estudo de caso-controle prospectivo no qual será realizada Citometria de Fluxo para fazer a dosagem de citocinas inflamatórias a partir do soro dos pacientes, separados em um grupo controle (sem diarreia) e pacientes com diarreia.

Será utilizado o *CBA Human Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit* (BD®) para a dosagem das citocinas: IL-1, IL-4, IL-6, IL-10, TNF, INF- γ , IL-17A. O citômetro de fluxo utilizado será o FACSCalibur™ (BD®).

Resultados e discussão: Até o momento foram selecionados 45 pacientes. Os dados clínicos destes pacientes estão arquivados e o material biológico (soro) de cada um está sendo mantido refrigerado em *freezers* nos laboratórios do IDTNP.

Infelizmente, o equipamento necessário para a dosagem das citocinas inflamatórias, o citômetro de fluxo ainda não está disponível. Entraves burocráticos relacionados à importação atrasaram sua chegada. Assim sendo, não foi possível obter dados quanto à concentração das citocinas no soro dos pacientes do projeto.

Os pesquisadores seguem selecionando e incluindo os pacientes no protocolo de pesquisa. Assim que plenamente disponível, todo o material será processado e os resultados apresentados.

Conclusão: No momento, a pesquisa não apresenta conclusões já que ainda não foi possível realizar a dosagem das citocinas. Os pacientes estão sendo admitidos no protocolo de pesquisa e, tão logo o equipamento esteja disponível para a dosagem, serão obtidos resultados e conclusões da pesquisa.

Apoio: O presente estudo tem suporte financeiro do Instituto de Doenças Tropicais Nathan Portela para a aquisição de materiais de pesquisa necessários, bem como suporte de profissionais agregados, os quais são indispensáveis para sua execução.

Referências bibliográficas:

¹. BADARÓ R, DUARTE, M. Leishmaniose Visceral (Calazar). In: VERONESI R, FOCACCIA R. **Veronesi: Tratado de Infectologia**. 2ª Ed. Atheneu, São Paulo, 2004, pp 1254 - 1279.

². DE ALMEIDA FILHO, N, ROUQUAYROL MZ. Análise de Dados Epidemiológicos. In: DE ALMEIDA FILHO N, ROUQUAYROL MZ. **Epidemiologia & Saúde**. 6ª Ed. Medsi. Rio De Janeiro, 2003, pp 179 – 191.

³. DO NASCIMENTO E.L.T., DE MEDEIROS I.M. Leishmaniose Visceral (Calazar). In: TAVARES W, MARINHO L.A.C. **Rotinas de Diagnóstico e Tratamento de Doenças Infecciosas e Parasitárias**. Atheneu, São Paulo, 2005, pp 706 - 713.

⁴. FAGUNDES NETO U, OLIVA, C.A.G. Infecções Diarreicas Agudas e Persistentes em Pediatria – Abordagem Clínica. In: VERONESI R, FOCACCIA R. **Veronesi: Tratado de Infectologia**. 2ª Ed. Atheneu, São Paulo, 2004, pp 799 – 803.

⁵. GUERRANT R.L., STEINER T,S. Principles and Syndromes of Enteric Infection. In: MANDELL GL, BENNETT JE, DOLIN R. **Principles and Infectious Diseases**. 6th Ed. Churchill Livingstone, Philadelphia, 2005. pp 1215 – 1231.

⁶. GUERRANT RL, BOBAK DA. Nausea, Vomiting and Noninflammatory Diarrhea. In: MANDELL GL, BENNETT JE, DOLIN R. **Principles and Infectious Diseases**. 6th Ed. Churchill Livingstone, Philadelphia, 2005. pp 1236 – 1249.

⁷. JERONIMO S.M.B, DE QUEIROZ-SOUSA A, PEARSON R.D. Leishmania Species: Visceral (Kala Azar), Cutaneous and Mucocutaneous Leishmaniasis. In: MANDELL GL, BENNETT JE,

DOLIN R. **Principles and Infectious Diseases**. 6th Ed. Churchill Livingstone, Philadelphia, 2005. pp 3145 - 3156.

⁸. MORENO-CAMACHO A, LOPEZ-VÉLEZ R, MUÑOZ SANZ A, LABARGA-ECHEVARRÍA P. Intestinal parasitic infections and leishmaniasis in patients with HIV infection. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**. 1998. v.16 pp.52-60.

⁹. SABRÁ A, SABRA S, RODRIGUES G. DIARRÉIAS INFECCIOSAS. In: TAVARES W, MARINHO L.A.C. **Rotinas de Diagnóstico e Tratamento de Doenças Infecciosas e Parasitárias**. Atheneu, São Paulo, 2005, pp 250 – 258.

¹⁰. WERNECK GL; BATISTA MS; GOMES JR, COSTA DL, COSTA CH. Prognostic factors for death from visceral leishmaniasis in Teresina, Brazil. **Infection**. 2003 v.3, pp. 174-181. 2003

¹¹. CALDAS A, FAVALI C, AQUINO D, VINHAS V, VAN WEYENBERGH J, BRODSKYN C, COSTA J, BARRAL-NETTO M, BARRAL A. Balance of IL-10 and interferon-gamma plasma levels in human visceral leishmaniasis: implications in the pathogenesis. **BMC Infectious diseases**. 2005 Acesso disponível: <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/5/113>.

¹². MANNA L, REALE S, VIOLA E, VITALE F, MANZILLO VF, MICHELE P.L., CARACAPPA S, GRAVINO A.E.. Leishmania DNA load and cytokine expression levels in asymptomatic naturally infected dogs. **Veterinary Parasitology**. 2006 v.20 pp.271-280.

¹³. BINDER, H.J. Mechanisms of Diarrhea in Inflammatory Bowel Diseases. **Annals of the New York academy of sciences**. 2009

¹⁴. TORRES, M.I., RÍOS, I., Current view of the immunopathogenesis in inflammatory bowel disease and its implications for therapy. **World Journal of Gastroenterology**. 2008. v.13 pp.1972-1980.

¹⁵. PELUSO I., PALLONE P., MONTELEONE G. Interleukin-12 and Th1 immune response in Crohn's disease: Pathogenetic relevance and therapeutic implication. **World Journal of Gastroenterology**. 2006 v. 21 pp. 5606-5610.

Palavras-chave: diarreia, leishmaniose, citocinas.