

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS E
PARASITÁRIAS
LUCIMARE DOS SANTOS MACIEL**

**ALTERAÇÕES DO METABOLISMO LIPÍDICO EM PACIENTES COM
LEISHMANIOSE VISCERAL**

**CAMPO GRANDE
2016**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS E
PARASITÁRIAS
LUCIMARE DOS SANTOS MACIEL**

**ALTERAÇÕES DO METABOLISMO LIPÍDICO EM PACIENTES COM
LEISHMANIOSE VISCERAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul para obtenção do título de Mestre em Doenças Infecciosas e Parasitárias

Orientadora: Prof^a Dr^a Maria Elizabeth Cavalheiros Dorval

**CAMPO GRANDE
2016**

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela vida, família e amigos maravilhosos que estão sempre me ajudando e dando força.

Aos meus queridos pais, Catarina Lopes e Djalme Medeiros pelo incentivo e por sempre acreditarem e apoiarem minhas escolhas.

À minha irmã Nari Maciel, meu padrinho Paulo Cesar, avós queridos, tios e primos, pela ajuda constante em todos os momentos, em especial agradeço ao meu tio Adoel Medeiros e aos meus avós Diná Medeiros e Adjalma Maciel pela ajuda nos momentos mais difíceis.

Ao meu namorado amado Igor Luiz da Silva pelo companheirismo e lealdade.

À minha querida orientadora Beth, por me aceitar como sua aluna e me ajudar muito durante esses dois anos.

Aos queridos amigos Bia Zidioti, Maria Cláudia, Patrícia Akemi, Bárbara Dantas, Bárbara Ferragini, Patrícia Vieira, Helder Alcântara, Meyliane Fabiana, Camilla Nantes, Denis Okoba e Débora Kunitaki, que são os melhores amigos que eu poderia ter.

Aos funcionários do laboratório de Parasitologia clínica da UFMS, Dona Zélia e Patrícia Matos, pela ajuda e amizade verdadeira.

À doutoranda Adriana França, pela amizade, conselhos e também pelas amostras utilizadas no estudo.

À Doutora Angelita Druzian pela cedência de soros dos pacientes e dados clínicos utilizados neste estudo.

Meus agradecimentos aos funcionários do laboratório de Análises Clínicas da UFMS, em especial aos farmacêuticos Paulo Cesar de Lorenzo, Luciana Iglecias e Viviane Landgraf pela ajuda no processamento das amostras.

A Universidade Federal de Mato Grosso do Sul por disponibilizar as instalações físicas e materiais necessárias ao andamento da pesquisa.

A Fundação de Desenvolvimento e Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT) pelo apoio ao Programa de Pós-graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias.

A CAPES pela concessão de bolsa de estudos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias (DIP/UFMS), do qual tive orgulho de fazer parte, e a todos os professores do programa.

À Dra Elenir Rose Jardim Cury Pontes pelas contribuições fundamentais na parte estatística.

Aos membros da banca, Dra. Anamaria Mello Miranda Paniago e Dra. Vânia Lúcia Brandão Nunes pelas considerações e pela disponibilidade de participarem da minha banca.

Aos amigos do mestrado, pela amizade e ajuda sempre presente.

RESUMO

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença sistêmica, causada pela disseminação do protozoário *Leishmania infantum*, de alta letalidade se não tratada, com desenvolvimento abrupto ou gradual das manifestações que incluem febre, esplenomegalia, linfadenopatia, diarreia, emagrecimento, pancitopenia e hipergamaglobulinemia. Do ponto de vista clínico, a infecção pela *L. infantum* é classificada como assintomática, subclínica, forma aguda e a forma clássica, sendo que a idade, estado nutricional e características imunogenéticas determinarão a gravidade das manifestações clínicas. Desordens do metabolismo lipídico têm sido descritas em crianças com LV ativa, e supõe-se estarem relacionadas às alterações imunológicas ligadas a sobrevivência do parasito no hospedeiro. O objetivo desse estudo foi comparar os valores de lipídios (colesterol, triglicerídios), lipoproteínas (HDL, LDL, VLDL), apolipoproteínas (Apo A1, Apo B) e interleucina-6 de adultos com LV e indivíduos com infecção assintomática. Foram analisadas amostras de soro de pacientes com leishmaniose visceral e de indivíduos sorologicamente positivos para *Leishmania* sp. (Imunofluorescência Indireta/IFI $\geq 1:80$), com infecção assintomática e clinicamente saudáveis. A população do estudo foi composta de 122 indivíduos, separados em dois grupos: pacientes com LV sintomáticos (64) e pacientes com infecção assintomática (58). Posteriormente, empregou-se a técnica de eletroforese de lipoproteínas nos pacientes com triglicerídios maior que 200 mg/dL. Os pacientes sintomáticos, quando comparados aos indivíduos com infecção assintomática apresentaram níveis medianos mais baixos de colesterol total (94 mg/dL vs 177 mg/dL, $p < 0,001$), HDL (3 mg/dL vs 20,35 mg/dL, $p < 0,001$), LDL (53 mg/dL vs 123,5 mg/dL, $p < 0,001$), apolipoproteína A-I (51 mg/dL vs 145,5 mg/dL, $p < 0,001$) e apolipoproteína B (82,5 mg/dL vs 113,5 mg/dL, $p < 0,001$). Os pacientes com LV apresentaram níveis mais elevados de VLDL (35,2 mg/dL vs 28,4 mg/dL, $p = 0,043$), triglicerídios (176 mg/dL vs 142 mg/dL, $p = 0,043$) e interleucina-6 (47,85 pg/mL vs 1,5 pg/mL, $p < 0,001$), do que os pacientes com infecção assintomática. Pela eletroforese verificou-se a ausência de quilomicrons em todos os pacientes, e foram constatadas alterações nas pré-beta lipoproteínas (VLDL), com valores acima do indicado e nas beta lipoproteínas (LDL), com valores abaixo do intervalo de referência, em ambos os grupos. Outros estudos são necessários, de modo a investigar os mecanismos exatos pelos quais essas alterações acontecem. O conhecimento das alterações metabólicas provocadas na LV, em associação com os dados clínicos e laboratoriais, pode ajudar no monitoramento da resposta terapêutica e futuramente serem utilizados como indicadores de gravidade para a doença.

Palavras-chave: leishmaniose visceral, lipídios, lipoproteínas, apolipoproteínas.

ABSTRACT

Visceral leishmaniasis (VL) is a systemic disease caused by the spread of the protozoan *Leishmania infantum*, highly lethal if not treated with abrupt or gradual development of manifestations that include fever, splenomegaly, lymphadenopathy, diarrhea, weight loss, pancytopenia, and hypergammaglobulinemia. From a clinical point of view, infection by *L. infantum* is classified as asymptomatic subclinical acute and classical forms, and the age, nutritional status and immunogenetic characteristics determine the severity of clinical manifestations. Disorders of lipid metabolism have been reported in children active VL, and are believed to be related to immunological alterations associated survival of the parasite in the host. The aim of this study was to compare the lipid values (cholesterol, triglycerides), lipoproteins (HDL, LDL, VLDL), apolipoproteins (Apo AI, Apo B) and interleukin-6 adults with LV individuals with asymptomatic infection. Serum samples were analyzed in patients with visceral leishmaniasis and seropositive individuals for *Leishmania* sp. (Indirect Immunofluorescence / IFI $\geq$ 1:80) with asymptomatic and clinically healthy infection. The study population consisted of 122 individuals, separated into two groups: patients with symptomatic LV (64), patients with asymptomatic infection (58). Subsequently, we used the lipoprotein electrophoresis in patients with triglyceride levels greater than 200 mg/dL. Symptomatic patients when compared to individuals with asymptomatic infection had lower median levels of total cholesterol (94 mg/dL vs. 177 mg/dL, $p < 0.001$) and HDL (3 mg/dL vs 20.35 mg/dL, $p < 0.001$), LDL (53mg/dL vs 123.5 mg/dL, $p < 0.001$), apolipoprotein AI (51 mg / dL vs 145.5 mg / dL, $p < 0.001$) and apolipoprotein B (82.5 mg/dL vs 113.5 mg/dL, $p < 0.001$). The VL patients had higher levels of VLDL (35.2 mg/dL vs. 28.4 mg/dL, $p = 0.043$), triglycerides (176 mg/dL vs. 142 mg/dL, $p = 0.043$) and interleukin-6 (47.85 pg/ml vs 1.5 pg/ml, $p < 0.001$) than patients with asymptomatic infection. For the electrophoresis it was verified the absence of chylomicrons in all patients and changes were noted in the pre-beta lipoproteins (VLDL), with values above mentioned and in the beta lipoproteins (LDL), with values below the reference range in both groups. Further studies are needed to investigate the exact mechanisms by which these changes occur. Knowledge of the metabolic changes induced in LV in combination with clinical and laboratory data can help in monitoring therapeutic response and future be used as indicators of severity of the disease.

Keywords: visceral leishmaniasis, lipids, lipoproteins, apolipoproteins.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição dos casos de leishmaniose visceral no mundo, 2013.....	14
Figura 2 - Estrutura do colesterol.....	17
Figura 3 - Papel das <i>lipid rafts</i> na infecção pela <i>Leishmania</i>	23
Figura 4 - Valores medianos de colesterol total (mg/dL) em pacientes com LV (n= 64) e indivíduos com infecção assintomática (n= 58).....	31
Figura 5 - Valores medianos de HDL (mg/dL) em pacientes com LV (n= 64) e indivíduos com infecção assintomática (n= 58).....	32
Figura 6 - Valores medianos de LDL (mg/dL) em pacientes com LV (n= 64) e indivíduos com infecção assintomática (n= 58).....	33
Figura 7 - Valores medianos de VLDL e triglicerídios (mg/dL) em pacientes com LV (n= 64) e indivíduos com infecção assintomática (n= 58).....	34
Figura 8 - Valores medianos de Apolipoproteínas A-1 e B (mg/dL) em pacientes com LV (n= 64) e indivíduos com infecção assintomática (n= 58).....	35
Figura 9 – Valores medianos de Interleucina -6 (pg/mL) em pacientes com LV (n= 64) e indivíduos com infecção assintomática (n= 58).....	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características das principais lipoproteínas plasmáticas.....	19
Tabela 2 - Classificação fenotípica das hiperlipidemias.....	22
Tabela 3 - Valores de referência de lipídios, lipoproteínas, apolipoproteínas, interleucina-6 e eletroforese de lipoproteínas.....	28
Tabela 4 - Parâmetros lipídicos dos pacientes com leishmaniose visceral e com infecção assintomática por <i>Leishmania</i> sp.....	30
Tabela 5 - Correlação de Spearman mostrando a relação entre lipídios, lipoproteínas e apolipoproteínas com a interleucina -6 (n= 64).....	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Acetil-CoA	Acetilcoenzima A
APCs	Células apresentadoras de antígenos
Apo	Apolipoproteína
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HMGR	3-hidroxi-3-methyl-glutaril-CoA redutase
IDL	Lipoproteína de densidade intermediária
IFI	Imunofluorescência indireta
IFN- γ	Interferon gama
IL6	Interleucina 6
LCAT	Lecitina colesterol aciltransferase
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
Lp(a)	Lipoproteína a
LV	Leishmaniose visceral
NO	Óxido nítrico
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (Reação em Cadeia da Polimerase)
Tgs	Triglicerídios
Th	Linfócitos T <i>helper</i> (auxiliares)
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral alfa
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 Leishmaniose visceral.....	13
2.2 Imunopatogênese.....	15
2.3 Lipídios, lipoproteínas e apolipoproteínas.....	16
2.3.1 Colesterol.....	16
2.3.2 Triglicerídios.....	18
2.3.3 Lipoproteínas.....	18
2.3.4 Apolipoproteínas.....	21
2.4 Eletroforese de lipoproteínas.....	21
2.5 Papel do colesterol na leishmaniose visceral.....	22
3 OBJETIVOS.....	24
3.1 Objetivo geral.....	24
3.2 Objetivos específicos.....	24
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	25
4.1 Tipo de pesquisa.....	25
4.2 Local e período da pesquisa.....	25
4.3 Sujeitos da pesquisa.....	25
4.4 Critérios de inclusão.....	26
4.5 Critérios de exclusão.....	26
4.6 Aspectos éticos.....	26
4.7 Testes diagnósticos.....	27
4.8 Análise estatística.....	29
5 RESULTADOS.....	30
6 DISCUSSÃO.....	38
7 CONCLUSÃO.....	41
REFERÊNCIAS.....	42

1 INTRODUÇÃO

A Organização Mundial de Saúde (OMS) considera as leishmanioses umas das mais importantes zoonoses do Velho e Novo Mundo, com uma estimativa de 1,3 milhões de novos casos e de 20.000 a 30.000 mortes anualmente (WHO, 2015).

O Brasil concentra cerca de 90% dos casos de leishmaniose visceral (LV) da América Latina, com cerca de 1.600 municípios apresentando transmissão autóctone. A doença tem apresentando mudanças no padrão de transmissão, antes predominante nas áreas rurais e periurbanas, e nos últimos anos, presente em centros urbanos como Rio de Janeiro (RJ), Belo Horizonte (MG), Corumbá (MS), Três Lagoas (MS), Campo Grande (MS), entre outros (BRASIL, 2014).

Do ponto de vista clínico, a infecção pela *Leishmania infantum* pode ser classificada como assintomática, subclínica ou oligossintomática, forma aguda e a forma clássica que pode evoluir se não tratada, ao óbito. A maior parcela dos indivíduos que se infectam pela *Leishmania* não evolui com manifestações clínicas, não necessitam de tratamento, caracterizando a infecção assintomática (D'OLIVEIRA *et al.*, 1997; GAMA *et al.*, 2004). O diagnóstico é feito com base em exames sorológicos (imunofluorescência indireta/IFI e/ou *enzyme linked immunosorbent assay*/ ELISA) (BRASIL, 2014). Aqueles que evoluem para o adoecimento apresentam sintomas que incluem febre, aumento de fígado e baço, palidez, hiporexia, tosse, dor abdominal, vômitos, diarreia, emagrecimento, alterações hematológicas e renais, que caracterizam a leishmaniose visceral (BADARÓ *et al.*, 1986; OLIVEIRA *et al.*, 2010).

O fígado é o principal local de síntese de lipídios, lipoproteínas e apolipoproteínas, e a disfunção hepática, observada na maioria dos casos de LV, pode levar a alterações destes importantes componentes, podendo significar maior morbidade, devido a alterações da resposta imune ligadas à sobrevivência do parasito no hospedeiro (MULDOON *et al.*, 1997). Desordens do metabolismo lipídico têm sido descritas em crianças com LV ativa. Na maioria dos casos, foi caracterizado hipertrigliceridemia, com níveis reduzidos de colesterol, HDL (*High Density Lipoproteins*) e LDL (*Low Density Lipoproteins*) (PONTE *et al.*, 2010).

Por ser considerada uma doença endêmica no estado de Mato Grosso do Sul (MS), com maior número de casos no município de Campo Grande (SINAN, 2015), é importante que se façam estudos em relação às alterações metabólicas provocadas

pela leishmaniose visceral, em especial, alterações do metabolismo de lipídios, cujos componentes podem estar associados a maior infectividade das espécies de *Leishmania* e com a evolução da doença.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Leishmaniose visceral

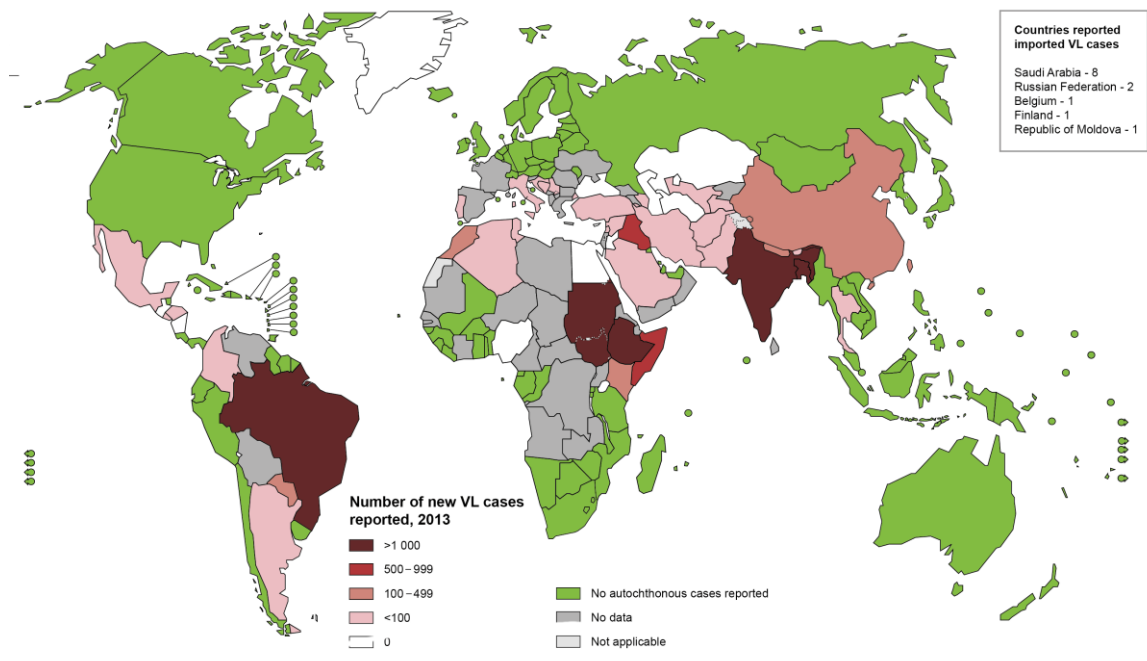
As leishmanioses são causadas por protozoários do gênero *Leishmania* spp. pertencentes à ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae que compreendem espécies digenéticas, heteroxenicas, encontradas nas formas promastigota, flagelada, e amastigota, sem flagelo livre, que se reproduzem por divisão binária simples (MICHALICK; GENARO, 2005). Mais de 20 espécies de *Leishmania* já foram identificadas (PEARSON; SOUSA, 1996).

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença infecciosa, não contagiosa, que pode causar um amplo espectro de manifestações clínicas, dependentes de interações complexas entre os componentes de virulência das espécies de *Leishmania* e a resposta imune do hospedeiro. É transmitida ao homem e outros mamíferos pela picada de fêmeas de dípteros da família Psychodidae, subfamília Phlebotominae, conhecidos genericamente por flebotomíneos e popularmente como mosquito-palha, tatuquira, birigui, entre outros. A espécie *Lutzomyia* (*Lutzomyia*) *longipalpis* é a principal transmissora de *Leishmania infantum* no Brasil (BRASIL, 2014). Incriminou-se também *Lutzomyia cruzi* como vetor em foco no estado de Mato Grosso do Sul (BRASIL, 2014). Estes insetos infectam-se durante o repasto sanguíneo ao ingerir a forma amastigota no hospedeiro vertebrado, que no trato digestivo do vetor se transforma em promastigota e multiplica-se por divisão binária. Forma-se uma população diferenciada de promastigotas, conhecidas como promastigotas metacíclicas, que constituem as formas infectantes (MURRAY *et al.*, 2005). As fêmeas infectadas, ao realizarem um novo repasto sanguíneo, liberam as formas metacíclicas no hospedeiro vertebrado junto com sua saliva e as células do sistema fagocítico mononuclear englobam essas formas, que se diferenciam em amastigotas no interior dos macrófagos. Ocorre, posteriormente, disseminação hematogênica ou linfática dos parasitos para linfonodos, baço, fígado e medula óssea (BRASIL, 2014).

Estima-se que cerca de 500.000 casos e 59.000 mortes ocorram a cada ano, representando um sério problema de saúde pública no Velho e Novo Mundo (WHO, 2015). A LV é endêmica nas regiões tropicais da Ásia, África e América do Sul (Figura 1). No estado de Mato Grosso do Sul (MS), até 1995, a doença estava restrita ao município de Corumbá, porém, se expandiu atingindo 58 municípios

(SINAN, 2015). Os casos de LV na capital Campo Grande correspondiam, em 2002, a 11,9% das notificações no estado, e em 2005 a 64,7%, em 2013 a 70,7% e em 2014 a 60,9% (RIGO; RIGO; HONER, 2009; SINAN, 2015). Apesar da queda do número de casos, a capital ainda é considerada uma região de transmissão moderada (SINAN, 2015).

Figura 1 – Distribuição dos casos de leishmaniose visceral no mundo, 2013



Fonte: World Health Organization, 2015.

A maioria dos indivíduos que são infectados permanece assintomática, sendo que a idade, estado nutricional, virulência da *Leishmania* e características imunológicas determinarão a gravidade das manifestações clínicas (GAMA *et al.*, 2004). Sinais e sintomas característicos incluem febre, hepatoesplenomegalia, emagrecimento, diarreia, pancitopenia, hiperglobulinemia e hipoalbuminemia (CHOI; LERNER, 2001). Os principais fatores que levam à morte por LV são as complicações hemorrágicas e infecciosas, ocasionadas, principalmente, por *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, associadas à neutrofilia (OLIVEIRA *et al.*, 2006; OLIVEIRA *et al.*, 2010; PASTORINO *et al.*, 2002). A adoção de medidas profiláticas e terapêuticas oportunas é de fundamental importância para reduzir a letalidade (BRASIL, 2011).

A suspeita diagnóstica leva em consideração os dados epidemiológicos, aspectos clínicos e laboratoriais apresentados pelo paciente (PASTORINO *et al.*, 2002). O diagnóstico clínico é complexo, pois os sinais e sintomas são comuns a outras doenças presentes em regiões endêmicas de LV, como por exemplo, doença de Chagas, malária e esquistossomose (GONTIJO; MELO, 2004). O diagnóstico definitivo requer a demonstração direta do parasito em esfregaços ou em meio de cultivo (ASSIS *et al.*, 2008; BRASIL, 2014; PEARSON; SOUSA, 1996). Os exames sorológicos, como a Imunofluorescência Indireta (IFI), possuem boa sensibilidade, mas podem apresentar reações cruzadas com antígenos de outros organismos, como *Trypanosoma* e *Plasmodium*. A técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) apresenta alta sensibilidade e especificidade (PASTORINO *et al.*, 2002).

O tratamento de escolha para leishmaniose preconiza o uso de drogas antimoniais pentavalentes. Com o desenvolvimento de resistência, a droga de escolha passou a ser a anfotericina, um antibiótico macrolídeo também utilizado como antifúngico. Os dois tipos de drogas (antimoniais e anfotericina) apresentam efeitos colaterais severos que incluem: artralgia, cefaleia, náusea, vômitos, *herpes zoster*, arritmia cardíaca, morte súbita, problemas renais, hipocalemia e hipomagnesemia (MATLASHEWSKI *et al.*, 2011). Estudos utilizando drogas antimoniais pentavalentes encapsuladas em lipossomas tiveram início na década de 70. Foi observado que o fármaco encapsulado era 200 a 700 vezes mais eficaz contra leishmaniose visceral. Esse fato se deve à capacidade de liberação contínua dos fármacos e ao fato de que os lipossomas são depurados do plasma por macrófagos fixos do fígado, baço e medula óssea, os principais sítios de infecção pelo parasito, resultando numa maior eficácia do fármaco encapsulado (MACHADO; GNOATTO; KLUPPEL, 2007).

2.2 Imunopatogênese

O principal defeito da resposta imune observado na LV é a incapacidade de ativar os macrófagos e destruir a *Leishmania*, levando à multiplicação e disseminação do parasito para diversos órgãos. Os pacientes com LV apresentam níveis séricos altos de TNF- α e IL-6, que estão relacionados ao desenvolvimento de febre, astenia e perda de peso. Além disso, ocorre ativação policlonal de linfócitos B,

levando à hiperglobulinemia, formação de autoanticorpos e complexos imunes circulantes (BACELLAR; CARVALHO, 2005).

Estudos realizados em murinos demonstraram que, na modulação da resposta imune, macrófagos parasitados e outras células apresentadoras de antígenos (APCs) apresentam antígenos de *Leishmania* aos linfócitos T CD4+, que são estimulados a produzir interleucinas e dependendo do perfil estimulado, levam ao desenvolvimento de subpopulações de linfócitos Th (T *helper*). Th1 secreta IFN- γ , associado à produção de citocinas pró-inflamatórias, e Th2 produz IL-4 e IL-10 levando à produção de anticorpos. A resposta Th1 está associada à capacidade em controlar a infecção, e a resposta Th2, relacionada ao progresso da doença (MICHALICK; GENARO, 2005). As propriedades protetoras das células Th1 resultam da produção de IFN- γ que induz a síntese de óxido nítrico (NO) pelos macrófagos, levando à formação de radicais tóxicos para a *Leishmania* intracelular (ALEXANDER; BRYSON, 2005). Em humanos foi demonstrado que, após a infecção por *Leishmania*, há predomínio dos linfócitos Th2 e inadequada produção de interleucina-2 (IL-2) e gama-interferon (IFN- γ). Com o tratamento adequado foi observada restauração de seus níveis (PASTORINO *et al.*, 2002).

2.3 Lipídios, lipoproteínas e apolipoproteínas

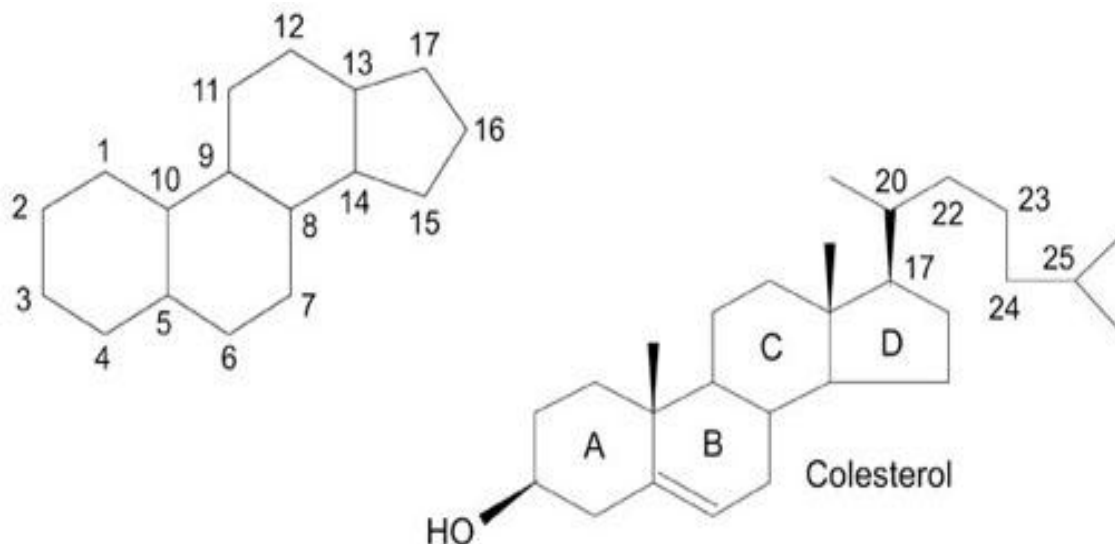
2.3.1 Colesterol

Os lipídios têm papel fundamental no organismo, atuando como reagente para a biossíntese de vários hormônios (cortisol, aldosterona, testosterona, progesterona, estradiol), da vitamina D e dos sais biliares, auxiliando na digestão, servindo de fonte de energia e como componentes estruturais e funcionais das membranas celulares, influenciando na fluidez e ativação de enzimas ligadas a membranas (BURTIS; ASHWOOD, 2008). São substâncias orgânicas quase insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos. Os principais lipídios no plasma humano são o colesterol, ésteres de colesterol, triglicerídios, fosfolipídios e ácidos graxos não esterificados (MOTTA, 2009).

O colesterol é encontrado em praticamente todas as células e líquidos orgânicos. É um álcool formado por 27 átomos de carbono e que possui o esqueleto

tetracíclico do ciclopentanoperidrofenantreno (BURTIS; ASHWOOD, 2008) (Figura 2).

Figura 2 – Estrutura do colesterol



Fonte: www.moreirajr.com.br/revistas.asp. Acesso em 15/09/2015.

O colesterol presente no intestino provém da dieta, secreção biliar e pancreática e da mucosa intestinal. Para que ocorra a absorção no intestino delgado, o colesterol deve ser desesterificado e solubilizado, formando micelas (BURTIS; ASHWOOD, 2008). Ao ser internalizado pelos enterócitos, forma um complexo denominado quilomícron, constituído por colesterol, triglicerídios, fosfolipídios e apolipoproteínas. A ingestão de colesterol é de aproximadamente, 400 a 700 mg/dia, enquanto a absorção fica ao redor de 300 mg/dia. Cerca de 25% do colesterol plasmático é derivado da alimentação, o restante é sintetizado (MOTTA, 2009). A síntese endógena ocorre no citosol e retículo endoplasmático, sendo que todos os carbonos do colesterol são provenientes da acetil-CoA (acetilcoenzima A). A sua síntese envolve várias reações que levam à formação de compostos com 5 carbonos, seguida de polimerização e ciclização destes compostos (Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2001). Os principais órgãos responsáveis pela síntese de colesterol são o fígado e intestino delgado, além disso, o fígado é o principal responsável pela eliminação do colesterol residual, tanto na forma não modificada,

quanto esterificada, como ácidos biliares (Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2001).

2.3.2 Triglicerídios

Os triglicerídios (triacilglicerois) são as formas mais importantes de armazenamento e transporte de ácidos graxos, constituindo 95% do armazenamento lipídico em tecidos. São sintetizados no intestino e fígado, e formam as principais frações dos quilomicrons, VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade) e cerca de 10% das LDL (lipoproteína de baixa densidade) presentes no plasma sanguíneo (MOTTA, 2009; Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2001).

Quase toda a gordura ingerida na dieta é constituída de triglicerídios formados por ácidos graxos saturados e insaturados, que sofrem a ação de lipases pancreáticas e sais biliares, formando 2-monoglicerídeos e ácidos graxos livres, que por difusão entram no retículo endoplasmático das células da mucosa e são reesterificados a triglicerídios. Após reesterificação, os triglicerídios são associados a outros lipídios e proteínas, formando quilomicrons, que deixam as células da mucosa para a circulação sistêmica (BURTIS; ASHWOOD, 2008).

O aumento dos níveis de triglicerídios é uma alteração relativamente frequente na prática clínica, ocasionada por diversos fatores, entre eles, a obesidade, diabetes, pancreatite aguda e ingestão de álcool. A hipertrigliceridemia é um distúrbio de fácil manejo, já que os níveis podem voltar ao normal com mudanças na alimentação, prática de atividades físicas e restrição ao álcool (SCHIAVO; LUNARDELLI; OLIVEIRA, 2003).

2.3.3 Lipoproteínas

Os lipídios circulam no sangue, ligados a proteínas específicas, chamadas apolipoproteínas (“apo”), formando estruturas denominadas de lipoproteínas. O conteúdo de proteínas e lipídios nestes complexos faz com que possuam densidades específicas, que são utilizadas para identificação e classificação das mesmas (MOTTA, 2009).

As lipoproteínas podem ser divididas em cinco principais classes, com base na densidade e mobilidade eletroforética em: quilomicrons, lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL, *very low density lipoprotein*), lipoproteína de densidade intermediária (IDL, *intermediate density lipoprotein*), lipoproteína de baixa densidade (LDL, *low density lipoprotein*) e lipoproteína de alta densidade (HDL, *high density lipoprotein*). Associadas as lipoproteínas, há pelo menos cinco apolipoproteínas, divididas em grupos, de A a E e subgrupos (BURTIS; ASHWOOD, 2008) (Tabela 1).

Tabela 1 – Características das principais lipoproteínas plasmáticas

Lipoproteínas	Densidades (g/dL)	Diâmetro (Å)	Composição (%)					Apolipoproteínas
			CE	CL	TG	FL	PR	
Quilomicrons	<0,95	800 – 5.000	5	2	84	7	2	B-48; E; C A-I; A-II; A-IV
VLDL	<1,006	300 – 800	12	7	55	18	8	B-100; E; C
IDL	1,006 – 1,019	250 – 350	23	8	32	21	16	B-100; E; C
LDL	1,019 – 1,063	180 – 280	38	10	9	22	21	B-100
HDL2	1,063 – 1,125	90 – 120	16	6	4	30	44	A-I; A-II
HDL3	1,125 – 1,210	50 – 90	12	3	4	26	55	A-I; A-II

CE-colesterol esterificado; CL-colesterol livre; TG-triglicérides; FL-fosfolípedes; PR-proteínas.

Fonte: Sociedade Brasileira de Cardiologia. III Diretrizes Brasileiras Sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose. Arq Bras Cardiol v. 77, (supl. III), 2001.

Os quilomicrons são os responsáveis pelo transporte de lipídios da dieta (via exógena), e são sintetizados pelas células da mucosa intestinal, formados por grande quantidade de triglicerídios e pequena quantidade de ésteres de colesterol provenientes da dieta (SALES; PELUZIO; COSTA, 2003). Os quilomicrons são transportados pelo sangue para todos os tecidos do corpo, principalmente para o tecido adiposo que é o principal sítio de captação. A liberação intestinal dos quilomicrons persiste por várias horas após a ingestão de gorduras (MOTTA, 2009). Após os triglicerídios dos quilomicrons serem hidrolisados pela enzima lipase lipoproteica, os ácidos graxos liberados são captados pelos tecidos e metabolizados. Os quilomicrons se transformam em remanescentes que são removidos pelo fígado através de receptores específicos (Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2001).

As VLDL são sintetizadas no fígado e são caracterizadas pelo alto teor de triglicerídios. A principal apolipoproteína associada é a B-100 (SALES; PELUZIO; COSTA, 2003). São responsáveis pelo transporte de triglicerídios de origem

endógena do fígado e intestino para os tecidos (BURTIS; ASHWOOD, 2008). Assim como os quilomicrons, os triglicerídios das VLDL sofrem a ação da lipase lipoproteica, liberando ácidos graxos para os tecidos. Uma parte das VLDL se transforma em LDL após perda de componentes lipídicos e proteicos, e ambas serão posteriormente removidas pelo fígado através da ligação com receptores específicos, como o receptor da LDL (Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2001).

Após hidrólise da VLDL pela enzima lipase, forma-se a IDL, de vida curta, que contém quantidades quase iguais de colesterol e triglicerídios. As principais apolipoproteínas associadas são a apo B e E, sendo que esta última determinará a continuação do processo catabólico de IDL para LDL, para o processo de degradação pelo fígado (BURTIS; ASHWOOD, 2008).

As lipoproteínas LDL são constituídas quase que exclusivamente de ésteres de colesterol e apresentam em sua superfície uma proteína, a apo B-100 (SALES; PELUZIO; COSTA, 2003). São formadas na circulação a partir das VLDL e da degradação dos quilomicrons, sendo considerada a partícula lipídica mais aterogênica no sangue. O catabolismo ocorre no fígado e tecidos periféricos (MOTTA, 2009).

As HDL são formadas por ésteres de colesterol e apolipoproteínas, sendo a apo A-I a principal (SALES; PELUZIO; COSTA, 2003). A função principal da HDL é a remoção do excesso de colesterol livre da periferia e o seu transporte ao fígado para ser metabolizado, este processo é chamado de transporte reverso do colesterol (INEU *et al.*, 2006). A retirada do excesso de colesterol celular das paredes arteriais tem papel fundamental na diminuição da aterogênese (SCHIAVO; LUNARDELLI; OLIVEIRA, 2003). Estudos mostram outras funções exercidas pelas HDL, que incluem propriedades anti-inflamatórias, antioxidativas, antiagregante e anticoagulante (INEU *et al.*, 2006). A HDL apresenta subclasses que diferem na concentração de apolipoproteínas e composição lipídica, variando no tamanho e carga, e que podem exibir diferentes funções no metabolismo lipídico (Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2001).

2.3.4 Apolipoproteínas

As apolipoproteínas (“apo”) são os componentes proteicos das lipoproteínas, responsáveis pela estabilização de sua estrutura e que têm a função de promover e controlar o transporte de lipídios no plasma e sua captação pelos tecidos. Foram diferenciadas as apos A, B, C, D, E, J, (a), cujo tipo e percentual variam nas lipoproteínas (MOTTA, 2009).

As apolipoproteínas A-I e B-100 são as proteínas funcionais e estruturais mais relevantes presentes no HDL-C e LDL-C respectivamente. A apo A-I é sintetizada no fígado e intestino, representa cerca de 45% da massa molecular da lipoproteína HDL, e tem a função de ativar a enzima lecitina colesterol aciltransferase (LCAT), que atua sobre o HDL-C e promove a esterificação do colesterol, processos importantes para o transporte reverso do colesterol para o fígado (LIMA; CARVALHO; SOUSA, 2007). A apo B-100 também é sintetizada no fígado, e é essencial para a ligação de partículas de LDL aos receptores celulares, permitindo sua entrada. A apo B é a principal proteína para o transporte de colesterol para as células periféricas e tem função regulatória tanto na síntese quanto na eliminação do colesterol (BURTIS; ASHWOOD, 2008).

2.4 Eletroforese de lipoproteínas

Na década de 40, pesquisadores demonstraram que boa parte dos lipídios plasmáticos migravam num campo elétrico de maneira idêntica as alfa e beta globulinas (CAMPOS, 2005). A técnica de eletroforese separa as lipoproteínas de acordo com a sua mobilidade eletroforética em relação às proteínas plasmáticas. É possível separar quatro bandas principais de lipoproteínas, que podem permitir a identificação de fenótipos incomuns (CAMPOS, 2005) (Tabela 2). O HDL (lipoproteína de alta densidade) migra com as alfa-globulinas, o LDL (lipoproteína de baixa densidade) com as beta-globulinas e o VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade) migra na região de pré-beta globulinas. O IDL (lipoproteína de densidade intermediária) forma uma banda estreita entre beta e pré-beta globulinas. Os quilomícrons, devido ao seu reduzido conteúdo proteico, permanecem no ponto de aplicação da eletroforese, sem migrar.

A lipoproteína (a) [Lp(a)] é semelhante ao LDL, mas contém uma glicoproteína adicional denominada apolipoproteína (a) ligada a apoB-100. É produzida no fígado e possui atividade pró-trombótica e pró-aterogênica (CONTOIS *et al.*, 1999).

Tabela 2 – Classificação fenotípica das hiperlipidemias

Fenotipo	Lipoproteínas (principais alterações)				Lípides (valores mais comuns)		Aparência do plasma ou soro
	Qm	VLDL	IDL	LDL	CT (mg/dl)	TG (mg/dl)	
I	↑↑↑				160-400	1.500-5.000	sobrenadante cremoso
IIa				↑ a ↑↑↑	> 240	< 200	transparente
IIb		↑ a ↑↑		↑ a ↑↑↑	240-500	200-500	turvo
III			↑↑ a ↑↑↑		300-600	300-600	turvo
IV		↑ a ↑↑↑			< 240	300-1.000	turvo
V	↑ a ↑↑↑	↑ a ↑↑↑			160-400	1.500-5.000	camada superior cremosa, inferior turva

Abreviaturas: ver texto. ↑ aumento leve; ↑↑ aumento moderado; ↑↑↑ aumento acentuado

Fonte: Sociedade Brasileira de Endocrinologia & Metabologia. Consenso Brasileiro sobre dislipidemias: detecção, avaliação e tratamento. v. 43, n. 4, 1999.

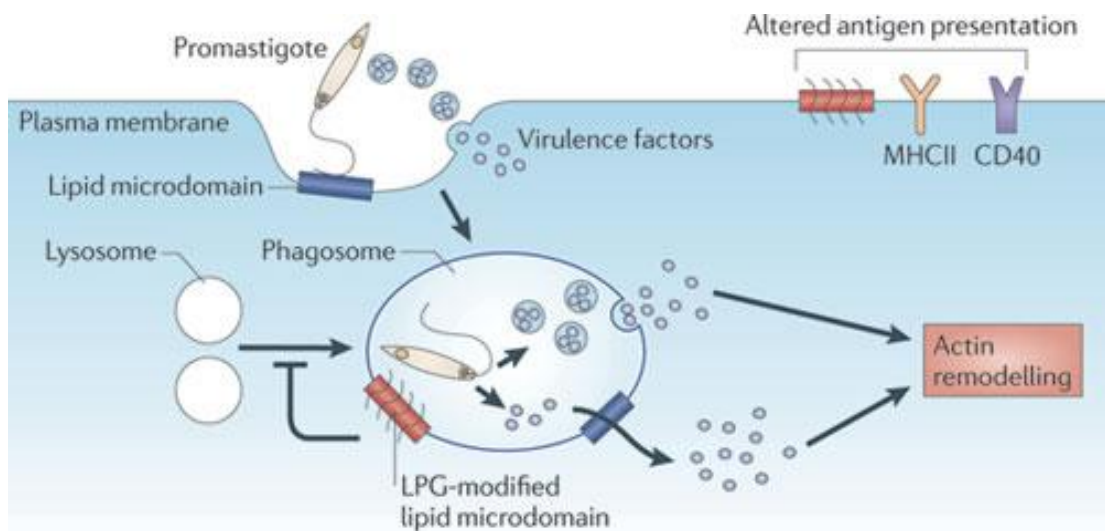
2.5 Papel do colesterol na leishmaniose visceral

O colesterol é um componente essencial presente nas membranas das células eucarióticas, e tem papel fundamental na dinâmica celular, atuando na organização e função de proteínas e receptores de membrana (PUCADYIL; CHATTOPADHYAY, 2012). Além disso, o colesterol de membrana é essencial para a ligação e internalização da *Leishmania* nos macrófagos que, quando infectados, perdem a capacidade de apresentar antígenos aos linfócitos T, levando a um defeito da resposta imune mediada por células (CHAKRABORTY *et al.*, 2013). A incapacidade de apresentar antígenos se deve a um aumento da fluidez da membrana, ocasionado pela infecção, que leva ao rompimento das “*lipid rafts*” (Figura 3), que são microdomínios presentes na membrana plasmática, ricos em colesterol ou esfingolipídios cujas funções estão associadas ao transporte de colesterol, endocitose, transdução de sinal e porta de entrada para alguns patógenos (PUCADYIL *et al.*, 2004). Observa-se que após o fornecimento de colesterol às células hospedeiras, há recuperação da capacidade de apresentação de antígenos pelos macrófagos infectados (SIMONS; IKONEN, 1997).

Sendo o colesterol um importante componente para função celular e tendo papel fundamental no progresso da infecção pela *Leishmania*, tornou-se

fundamental analisar as taxas de colesterol plasmático, assim como de outros lipídios e lipoproteínas nos indivíduos com LV, e compará-las com as obtidas nos indivíduos que se infectaram, mas não adoeceram. Os valores obtidos podem revelar o papel dos lipídios na dinâmica da infecção (LAL *et al.*, 2010).

Figura 3 – Papel das *lipid rafts* na infecção pela *Leishmania*



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

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar alterações do metabolismo lipídico em pacientes com leishmaniose visceral e com infecção assintomática.

3.2 Objetivos específicos

- a) Comparar os níveis séricos de colesterol total, HDL, LDL, VLDL, e triglicerídios de pacientes com leishmaniose visceral e com infecção assintomática.
- b) Comparar os níveis de Apo A-I e Apo B em pacientes com leishmaniose visceral e infecção assintomática.
- c) Correlacionar os níveis séricos de lipídios, lipoproteínas e apolipoproteínas com interleucina-6 em indivíduos com LV e com infecção assintomática.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Tipo de pesquisa

Tratou-se de uma pesquisa transversal analítica. Foram analisadas amostras de soro de pacientes com leishmaniose visceral do Hospital Dia Prof^a Esterina Corsini do Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul e amostras de soro de indivíduos com infecção assintomática, doadores de sangue do Hemosul de Campo Grande/MS.

4.2 Local e período da pesquisa

As amostras biológicas dos indivíduos com leishmaniose visceral, sintomáticos e com infecção assintomática foram analisadas no Laboratório de Análises Clínicas (LAC) da UFMS, no período de dezembro de 2014 a junho de 2015.

4.3 Participantes da pesquisa

Foram incluídos na pesquisa, pacientes atendidos no Hospital Dia Prof^a Esterina Corsini do Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul que tiveram diagnóstico positivo para *Leishmania* sp., pela pesquisa direta do parasito em lâminas de esfregaço medular e/ou pelos testes sorológicos Imunofluorescência Indireta (IFI) e/ou teste rápido e com sintomas clínicos de LV. Dos 135 pacientes, 49 foram retirados do estudo por serem coinfectados com o vírus HIV e outros 22, por apresentarem outras comorbidades, como câncer, alcoolismo, problemas na tireoide e cirrose (DRUZHIN *et al.*, 2015).

Os portadores de infecção assintomática fizeram parte de um estudo prévio (FRANÇA *et al.*, 2013) e foram considerados positivos aqueles com sorologia reagente para *Leishmania* sp. pela IFI e/ou pela reação em cadeia da polimerase (*Polymerase Chain Reaction/PCR*). Dos 126 indivíduos com infecção assintomática, foram selecionados aleatoriamente 58 indivíduos através do pareamento das faixas etárias com os pacientes que apresentavam LV.

A amostra final foi composta de 122 indivíduos sendo: 64 sintomáticos (idade 43 [18-93 anos]; 17 mulheres e 47 homens) e 58 com infecção assintomática (idade 38 [18-57 anos]; 16 mulheres e 42 homens).

4.4 Critérios de inclusão

Ter diagnóstico positivo para LV pela pesquisa direta do parasito em lâminas de esfregaço medular e/ou pelos testes sorológicos de imunofluorescência indireta (IFI) e/ou teste rápido, de qualquer faixa etária e sexo, com sintomas clínicos e sorologia negativa para Doença de Chagas.

Ser portador assintomático, com sorologia positiva para *Leishmania* sp. por IFI e/ou diagnóstico molecular pela reação em cadeia da polimerase (*Polymerase Chain Reaction/ PCR*), sem manifestações clínicas e sem histórico de tratamento prévio para LV.

4.5 Critérios de exclusão

Foram retirados do estudo os pacientes portadores do vírus da Imunodeficiência humana (HIV/AIDS), com câncer, alcoolismo crônico, distúrbios da tireoide e hepatopatia prévia.

4.6 Aspectos éticos

A pesquisa foi submetida à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul e aprovada em 29/08/2014, protocolo de número 891.471.

4.7 Testes laboratoriais

A dosagem das frações lipídicas, apolipoproteínas e da interleucina-6 foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (LAC/UFMS). As amostras foram processadas no aparelho Cobas 6000® (Roche) e para isso empregou-se os seguintes kits reagentes: Colesterol Total

(INTEGRA COLESTEROL II[®]), Triglicerídios (INTEGRA TRIGLICERIDIOS[®]), LDL-C (INTEGRA LDL COLESTEROL[®]), HDL-C (INTEGRA HDL-C[®]), Apolipoproteínas A-I e B (INTEGRA APO A e Apo B), interleucina-6 (INTEGRA IL-6[®]) e o calibrador CFAS LIPIDES.

O princípio do método para as dosagens de colesterol total, HDL, LDL e triglicerídios baseiou-se na clivagem enzimática, com a formação de corante ao final das reações, de modo que a intensidade do corante formado será diretamente proporcional à concentração do lipídio analisado. Os valores de VLDL foram obtidos dividindo-se o valor dos triglicerídios por 5, com o resultado final expresso em mg/dL.

O método para dosar apolipoproteínas baseiou-se no ensaio imunoturbidimétrico, no qual as apolipoproteínas humanas formam precipitado com a presença de antissoro específico que é determinado turbidimetricamente em um certo comprimento de onda. A imunoturbidimetria mede a diminuição da luz ao passar por um complexo antígeno-anticorpo, ou seja, mede o quanto a solução antígeno-anticorpo absorve da luz e quanto ela deixa passar.

Para análise da interleucina-6 empregou-se o ensaio de eletroquimioluminescência, que são reações químicas que geram luminescência a partir de um estímulo elétrico que é medido por um fotomultiplicador, e o resultado é determinado com base numa curva de calibração gerada pelo analisador.

Na técnica de eletroforese de lipoproteínas empregou-se a separação das frações lipoproteicas, com base na densidade das partículas. Realiza-se a separação em gel de agarose, aplicando-se corante específico para lipídios. A análise posterior foi realizada por densitometria.

Os respectivos valores de referência para as dosagens realizadas estão apresentados na tabela 3.

Tabela 3 – Valores de referência de lipídios, lipoproteínas, apolipoproteínas, interleucina-6 e eletroforese de lipoproteínas

Valores de referência		
Lipídios	Valores	Categoria
CT (mg/dL)	< 200	Ótimo
	200-239	Limítrofe
	≥240	Alto
HDL-C (mg/dL)	< 40	Baixo
	>60	Alto
LDL-C (mg/dL)	<100	Ótimo
	100-129	Desejável
	130-159	Limítrofe
	160-189	Alto
	≥190	Muito alto
TGs (mg/dL)	<150	Ótimo
	150-200	Desejável
	200-499	Limítrofe
		Alto
	≥500	Muito alto
apo A-I (mg/dL)	90-190	Normal
apo B (mg/dL)	50-100	Normal
IL-6 (pg/mL)	Até 7	Aceitável
Eletroforese de lipoproteínas		
Quilomicrons	0,0%	
Beta lipoproteína (LDL)	38,6 a 69,4%	
Pré-beta lipoproteína (VLDL)	4,4 a 23,1%	
Alfa lipoproteína (HDL)	22,3 a 53,3%	
Lipoproteína – Lp (a)	Ausente	

Fonte: III Diretrizes sobre dislipidemias, v. 77, 2001; kit integra cobas (Roche).

4.8 Análise estatística

A análise dos resultados foi realizada por meio do teste estatístico *Mann Whitney* para comparação dos valores medianos, no programa *Bio Estat 5.3* (Sociedade Mamirauá, Belém/Pará/Brasil), ao nível de significância de 5%. Para correlação dos valores de lipídios, lipoproteínas e apolipoproteínas com a interleucina-6 foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman, ao nível de significância de 5%, e para interpretação das correlações foi utilizada a seguinte classificação: coeficientes de correlação $< 0,4$ (fraca), $\geq 0,4$ a $< 0,5$ (moderada) e $\geq 0,5$ (forte) (HULLEY, *et al.*, 2003).

5 RESULTADOS

Os respectivos valores encontrados das amostras analisadas estão sumarizados na Tabela 4.

Tabela 4 – Parâmetros lipídicos dos pacientes com leishmaniose visceral e com infecção assintomática por *Leishmania* sp.

Variáveis	Sintomáticos (n= 64)	Assintomáticos (n=58)	p
CT (mg/dL)	94 (35-185)	177 (95,7-314)	< 0,001
HDL-C (mg/dL)	3 (1-16)	20,4 (5,4-39,8)	< 0,001
LDL-C (mg/dL)	53 (9-147)	123,5 (65-197)	< 0,001
VLDL-C (mg/dL)	35,2 (14-74)	28,4 (9-171,8)	0,043
TGs (mg/dL)	176 (70-370)	142 (44-859)	0,043
apo A-I (mg/dL)	51(18-132)	145,5 (93-253)	< 0,001
apo B (mg/dL)	82,5 (28-134)	113,5 (42-729)	< 0,001
IL-6 (pg/mL)	47,9 (1,8-367)	1,5 (1,5-80,92)	< 0,001

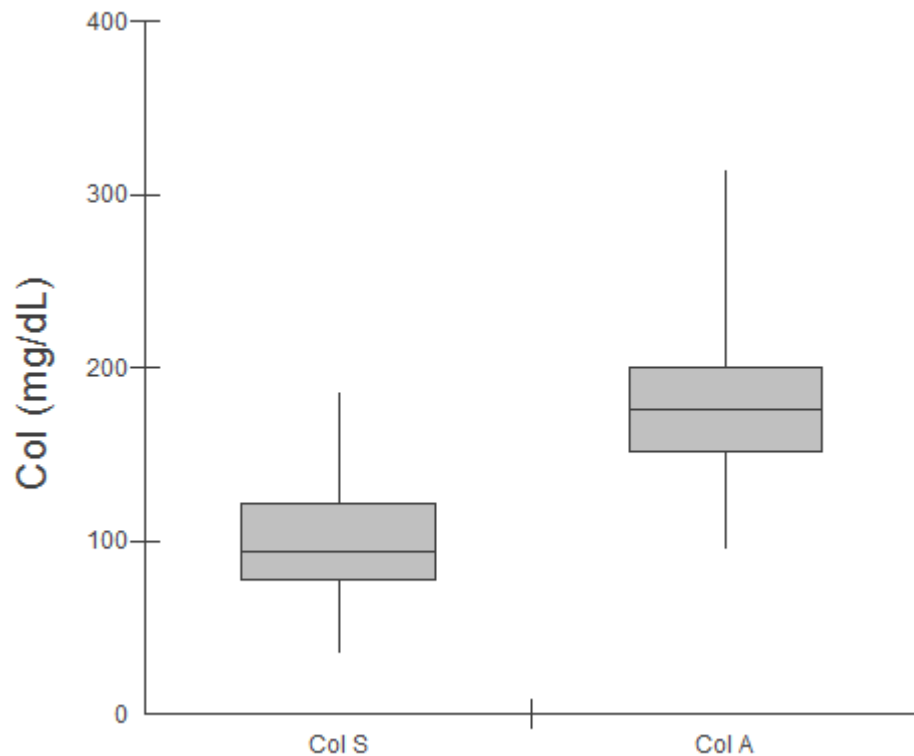
Valores expressos em mediana.

CT, Colesterol Total; HDL-C, Lipoproteína de alta densidade; LDL-C, Lipoproteína de baixa densidade; VLDL-C, Lipoproteína de muito baixa densidade; TGs, Triglicerídios; apo, apolipoproteína; IL-6, interleucina 6.

Para o colesterol total, o valor foi considerado normal quando menor que 200 mg/dL.

Em todos os 64 pacientes sintomáticos, o valor do colesterol esteve abaixo de 200 mg/dL, e nos 58 com infecção assintomática, 42 (72,4%) apresentaram valores menores que 200 mg/dL e 16 (27,6%) estavam com o colesterol acima de 200 mg/dL. Comparando os dois grupos, os pacientes com LV ativa, quando comparados aos indivíduos com infecção assintomática apresentaram valores medianos mais baixos de colesterol total (94 mg/dL vs 177 mg/dL, $p < 0,001$) (Figura 4).

Figura 4 – Valores medianos de colesterol total (mg/dL) em pacientes com LV (n= 64) e indivíduos com infecção assintomática (n= 58)

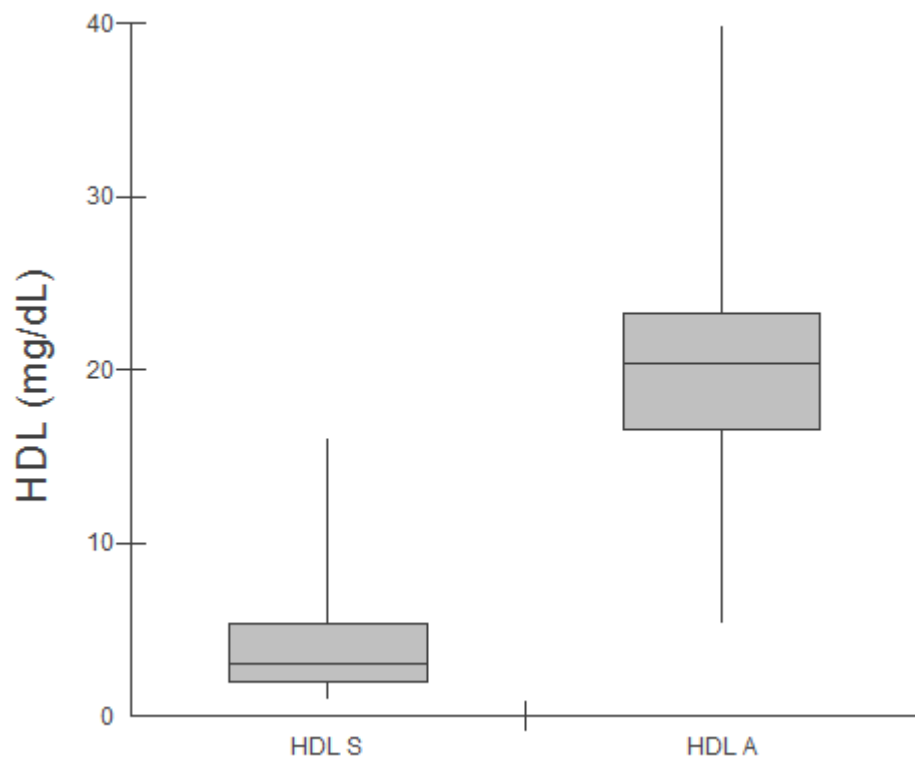


Col S, Colesterol sintomáticos; Col A, Colesterol infecção assintomática.

$p < 0,001$

Em relação aos valores de HDL-C, foram considerados valores normais acima de 60 mg/dL. Todos os indivíduos sintomáticos apresentaram os valores de HDL-C muito abaixo do recomendado, com valor mediano igual a 3mg/dL. Para os indivíduos com infecção assintomática, os valores de HDL-C também estiveram abaixo do ideal para todos os indivíduos, como valor mediano de 20,35 mg/dL. Comparando os valores de HDL dos sintomáticos, com os indivíduos com infecção assintomática (3 mg/dL vs 20,35 mg/dL, $p < 0,001$), observou-se uma diferença significativa entre os dois grupos (Figura 5).

Figura 5 – Valores medianos de HDL (mg/dL) em pacientes com LV (n= 64) e indivíduos com infecção assintomática (n= 58)

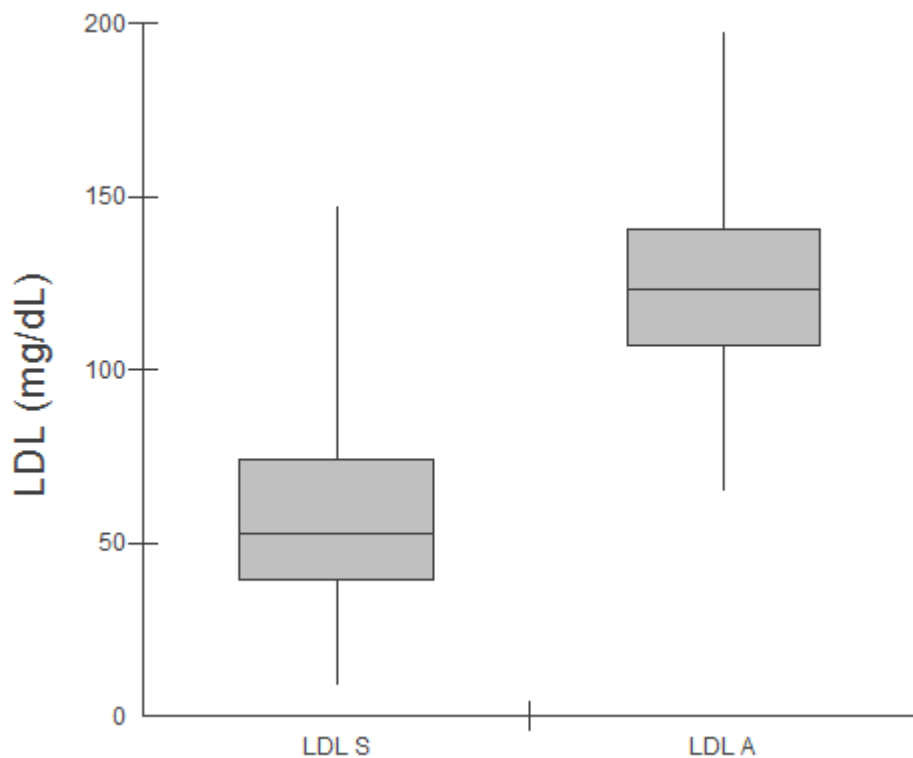


HDL S, HDL sintomáticos; HDL A, HDL infecção assintomática.

$p < 0,001$

Para a lipoproteína LDL, o valor considerado ótimo é menor que 100 mg/dL. Em relação aos pacientes com LV, 56 (87,5%) dos 64 pacientes apresentaram valores de LDL colesterol abaixo de 100 mg/dL, com 8 (12,5%) casos acima de 100 mg/dL. Já entre os indivíduos com infecção assintomática, 11 (19%) entre os 58 indivíduos, apresentaram valores abaixo de 100 mg/dL, com 47 (81%) indivíduos com valores de LDL acima do recomendado. Comparando os dois grupos, observou-se diferença significativa entre os valores medianos dos sintomáticos em relação aos com infecção assintomática para a LDL (53 mg/dL vs 123,5 mg/dL, $p < 0,001$) (Figura 6).

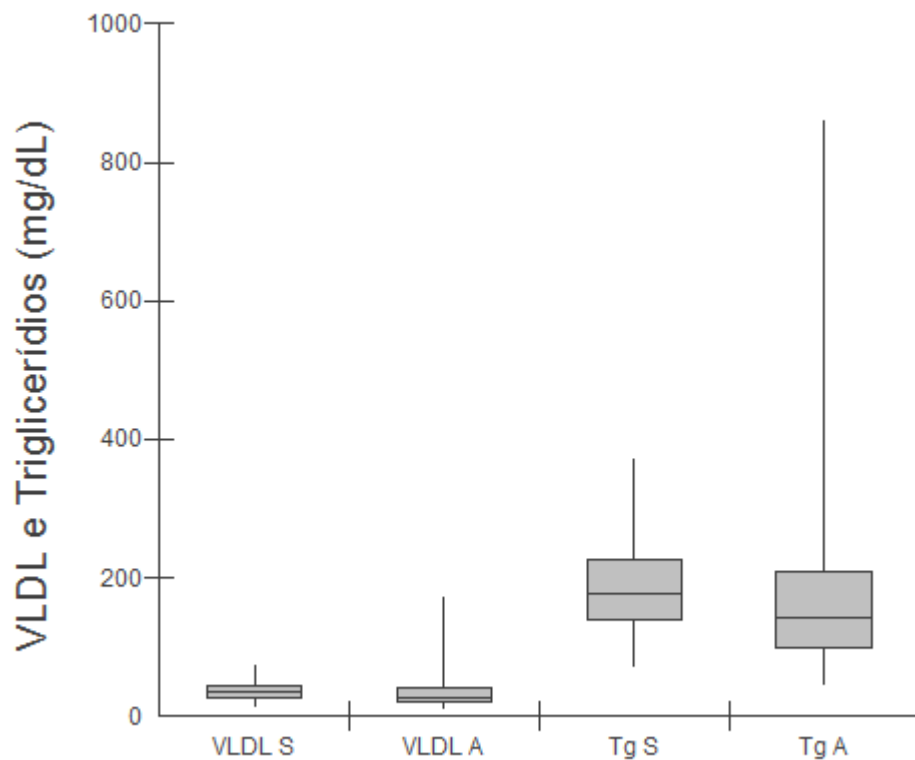
Figura 6 – Valores medianos de LDL (mg/dL) em pacientes com LV (n= 64) e indivíduos com infecção assintomática (n= 58)



LDL S, LDL sintomáticos; LDL A, LDL infecção assintomática.
 $p < 0,001$

Quando se analisa os valores de VLDL e triglicerídios, verifica-se que ambos são relativamente mais elevados nos pacientes sintomáticos, quando comparados aos portadores de infecção assintomática, com valores medianos para VLDL (35,2 mg/dL vs 28,4 mg/dL, $p = 0,043$) e triglicerídios (176 mg/dL vs 142 mg/dL, $p = 0,043$). O valor aceitável para triglicerídios é menor que 200 mg/dL. Para os sintomáticos, o valor esteve abaixo de 200 mg/dL para 38 (59,4%) pacientes e acima de 200 mg/dL em 26 (40,6%) deles. No grupo dos portadores de infecção assintomática, os triglicerídios estiveram abaixo do valor recomendado em 43 (74,1%) dos indivíduos e 15 (25,9%) deles apresentaram dosagem acima do recomendado (Figura 7).

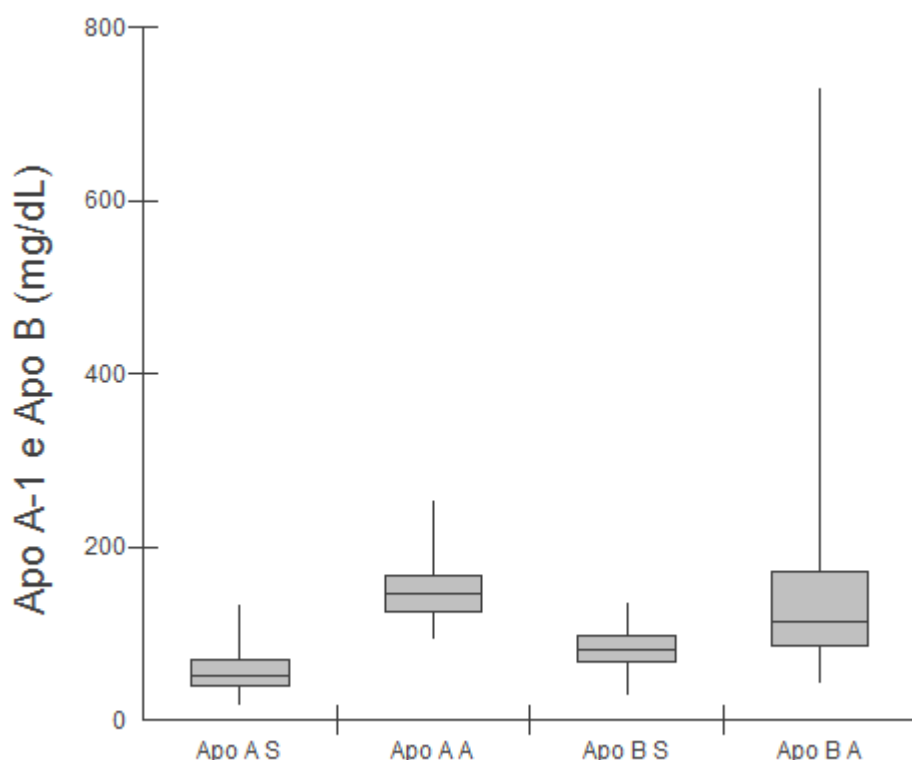
Figura 7 – Valores medianos de VLDL e triglicerídios (mg/dL) em pacientes com LV (n= 64) e indivíduos com infecção assintomática (n= 58)



VLDL S, VLDL sintomáticos; VLDL A, VLDL infecção assintomática.
 Tg S, Trglicerídios sintomáticos; Tg A, Trglicerídios infecção assintomática.
 $p = 0,043$

Para as apolipoproteínas A-1 e B, os valores medianos estiveram mais elevados nos assintomáticos (51 mg/dL vs 145,5 mg/dL, $p < 0,001$) e (82,5 mg/dL vs 113,5 mg/dL, $p < 0,001$) respectivamente, quando comparados aos sintomáticos (Figura 8).

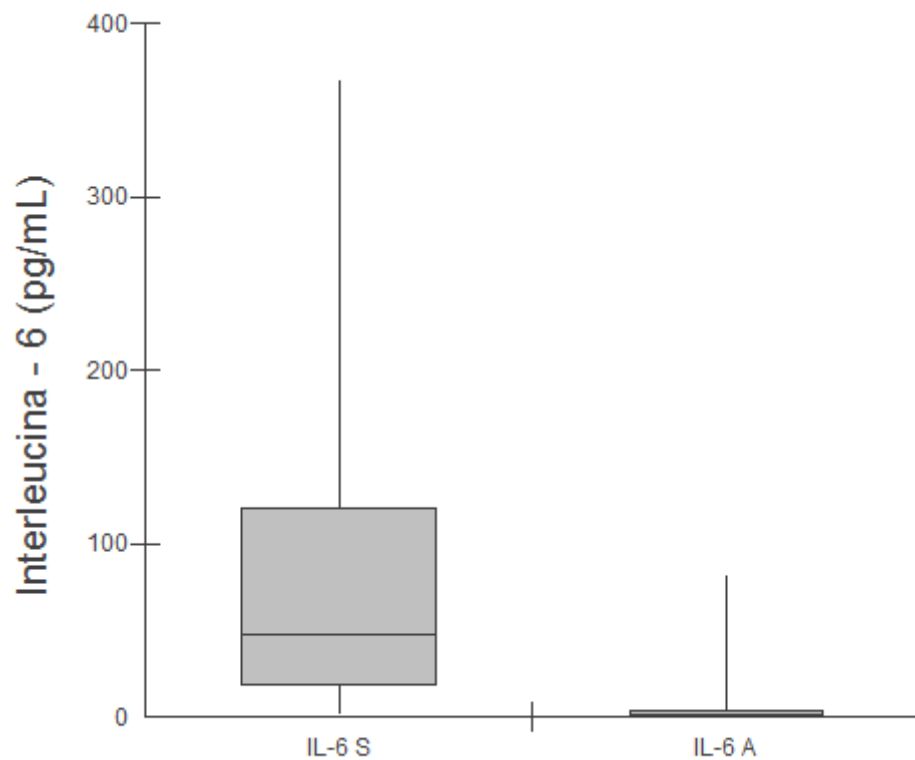
Figura 8 – Valores medianos de Apolipoproteínas A-1 e B (mg/dL) em pacientes com LV (n= 64) e indivíduos com infecção assintomática (n= 58)



Apo A S, apo A-I sintomáticos; Apo A A, apo A-I infecção assintomática.
 Apo B S, apo B sintomáticos; Apo B A, apo B infecção assintomática.
 $p < 0,001$

O valor aceitável de interleucina-6 é até 7 pg/mL. Do total de pacientes com LV ativa, 52 (81,3%) apresentaram valores acima do aceitável, com 12 (18,8%) indivíduos com valores normais de IL-6. Os valores de interleucina-6 apresentaram-se alterados para somente seis (10,3%) indivíduos com infecção assintomática, e 52 (89,7%) estavam com taxa normal dessa citocina. Comparando os dois grupos (47,85 pg/mL vs 1,5 pg/mL, $p < 0,001$), pode-se verificar diferença significativa para os valores dessa citocina (Figura 9).

Figura 9 – Valores medianos de Interleucina -6 (pg/mL) em pacientes com LV (n= 64) e indivíduos com infecção assintomática (n= 58)



IL-6 S, interleucina – 6 sintomáticos; IL-6 A, interleucina – 6 infecção assintomática.
 $p < 0,001$

Utilizando o coeficiente de Spearman para correlacionar os níveis de interleucina-6 nos pacientes sintomáticos com os valores encontrados de lipídios, lipoproteínas e apolipoproteínas, verificou-se que existe uma moderada correlação negativa ou inversa, entre os níveis de LDL e interleucina-6. Isso significa que quanto maior for o nível de IL-6, menor será a concentração de LDL plasmático. Analisando a correlação entre triglicerídios e IL-6, esta se mostrou a menos significativa (Tabela 5).

Tabela 5 – Correlação de Spearman mostrando a relação entre lipídios, lipoproteínas e apolipoproteínas com a interleucina-6 (n= 64)

Variáveis	Correlação	IL-6	<i>p</i>
Colesterol Total	Fraca	-0,31	0,010
HDL colesterol	Fraca	-0,28	0,023
LDL colesterol	Moderada	-0,46	< 0,001
Triglicerídios	Fraca	0,21	0,094
Apolipoproteína A-1	Fraca	-0,38	0,001
Apolipoproteína B	Fraca	-0,11	0,374

As amostras que apresentaram triglicerídios maior que 200 mg/dL (n=14), foram analisadas eletroforeticamente. Tanto no grupo dos sintomáticos como nos infecção assintomática, apenas um indivíduo apresentou níveis de alfa lipoproteínas abaixo do valor de referência. Valor acima da referência estava presente em um dos indivíduos com infecção assintomática. Em relação a pré-beta lipoproteína, em quatro pacientes sintomáticos os valores estiveram acima do intervalo de referência e nos que apresentavam infecção assintomática, o valor esteve acima em cinco indivíduos. Para beta lipoproteínas, quatro pacientes sintomáticos apresentaram valores abaixo do intervalo recomendado e entre os portadores de infecção assintomática, seis exibiram valores abaixo do aceitável. A lipoproteína a – Lp (a) esteve presente em apenas um indivíduo com LV ativa.

6 DISCUSSÃO

No presente estudo, os indivíduos com leishmaniose visceral apresentaram níveis mais baixos de colesterol total, em relação aos indivíduos com infecção assintomática. LAL *et al.* (2010) demonstram que os níveis de colesterol são inversamente proporcionais a carga parasitária, podendo-se evidenciar uma possível relação do colesterol com o grau de patogenicidade na leishmaniose visceral.

O colesterol de membrana é essencial para a ligação e entrada da *Leishmania* nos macrófagos, (LAL *et al.*, 2007) já que é o maior constituinte de membrana, tendo papel crucial na organização, dinâmica e função celular, através de domínios denominados de “*lipid rafts*”, responsáveis por coordenar eventos de transdução e servir de porta de entrada para alguns patógenos (LAL *et al.*, 2010). Estudos experimentais mostram que a entrada das promastigotas nas células hospedeiras, processo essencial para o estabelecimento da infecção, pode ser inibida com a depleção do colesterol dos macrófagos, no qual se observa redução do número de amastigotas intracelularmente. Além disso, o colesterol é fundamental para a entrada do parasito nos macrófagos da medula óssea, através de domínios caveolares enriquecidos de colesterol (PUCADYIL; CHATTOPADHYAY, 2012). As etapas pelas quais essas alterações ocorrem ainda permanecem desconhecidas, porém acredita-se que o parasito interfira na biossíntese do colesterol, promovendo a menor expressão da enzima HMG CoA redutase (3-hidroxi-3-methyl-glutaril-CoA redutase), enzima responsável pelo controle da síntese do colesterol no organismo (RUB *et al.*, 2009).

Experimentos realizados *in vitro*, mostram a importante relação que ocorre entre os lipídios do soro e o sistema imune. As partículas de lipoproteínas transportam o colesterol e fosfolipídios para as células, pois são compostos essenciais para a manutenção da estrutura e bom funcionamento celular. Os linfócitos recebem o colesterol das lipoproteínas circulantes, bem como, sintetizam colesterol, o que está intimamente relacionado à replicação celular (MUDOON *et al.*, 1997). Homens hipocolesterolêmicos tendem a ter menos linfócitos circulantes, células T totais e células T *helper*, do que homens com hipercolesterolemia, e esse estado pode conferir uma vantagem de sobrevivência aos indivíduos com doenças infecciosas. É possível que fatores derivados do parasito sejam carregados pela circulação, afetando o metabolismo lipídico de células não infectadas, aumentando o

catabolismo do colesterol ou diminuindo a sua síntese (GHOSH *et al.*, 2011). Sabe-se também que a sinalização para a resposta imune inata e adaptativa é iniciada nas *lipid rafts*, e alguns patógenos intracelulares, como *Mycobacterium tuberculosis*, *Chlamydia trachomatis*, *Toxoplasma gondii* e *Trypanosoma cruzi*, desenvolveram mecanismos para subverter esta sinalização (VIEIRA *et al.*, 2010).

Assim como em outras doenças infecciosas, tem sido relatado na LV, a queda dos níveis de HDL, devido à diminuição da concentração das apolipoproteínas associadas, principalmente a apo A-I, devido à presença de citocinas como IL-6, que está presente durante a fase aguda da doença, e pode inibir a atividade de enzimas importantes como a LCAT (lecitina colesterol acil transferase), cuja concentração baixa levaria a diminuição do HDL (LIBEROPOULOS *et al.*, 2002). Como já era esperado, os níveis de interleucina-6 foram mais elevados entre os sintomáticos, quando comparados aos indivíduos com infecção assintomática, já que estes eram indivíduos clinicamente saudáveis.

Neste estudo, os níveis de HDL-C foram baixos nos dois grupos (sintomáticos e infecção assintomática). Um mecanismo autoimune poderia ser o responsável pelas alterações lipídicas observadas nos pacientes com LV, como a formação de complexos imunológicos entre HDL e auto anticorpos, que podem acelerar a degradação do HDL. Além disso, infecções parasitárias podem aumentar a atividade do receptor de LDL nas células hepáticas, pelos níveis elevados de IL-6, levando a um aumento da absorção de partículas de LDL e consequentemente a sua redução plasmática e da apolipoproteína B, sua principal apo associada (LIBEROPOULOS *et al.*, 2002; LIBEROPOULOS *et al.*, 2014).

Alterações do metabolismo lipídico também têm sido relatadas em indivíduos portadores do HIV, nos quais se observa hipertrigliceridemia associada ou não à hipercolesterolemia (SILVA *et al.*, 2014). As infecções levam a alterações na composição e funcionamento das lipoproteínas, assim como alterações nas concentrações de esfingolipídios, diminuindo o transporte reverso do colesterol e aumentando a oxidação dos lipídios. Pode ocorrer ainda, sequestro ou degradação das lipoproteínas pelo fígado e baço (NASSAJI; GHORBANI, 2012).

Estudos recentes têm mostrado que os triglicerídios são fundamentais para o crescimento da *Leishmania in vitro*, e que existe uma forte correlação positiva entre a hipertrigliceridemia e a carga parasitária em pacientes com LV (LAL *et al.*, 2015). O aumento dos níveis plasmáticos de triglicerídios pode ocorrer devido ao aumento

da produção de VLDL ou na sua menor taxa de depuração (ERDEVE; DALLAR; SIKLAR, 2004). Estudos realizados na Índia mostram que, mesmo pessoas com baixa ingestão calórica, apresentam níveis elevados de triglicerídios na LV (LAL *et al.*, 2007). Essas alterações foram correlacionadas com a presença de citocinas e proteínas inflamatórias. Os pacientes com LV apresentam ainda, marcada redução de LDL e aumento de citocinas inflamatórias como IL-6. Sabe-se que essa citocina estimula a expressão do receptor de LDL. Experimentalmente as citocinas também suprimem a produção de apolipoproteínas e a síntese de lipoproteínas associadas. As citocinas também podem estimular a síntese de ácidos graxos no fígado, levando a um aumento de VLDL e triglicerídios (LIBEROPOULOS *et al.*, 2014). A hipertrigliceridemia tem sido relacionada como indicador de gravidade em pacientes com malária (ERDEVE; DALLAR; SIKLAR, 2004).

Durante algum tempo, a eletroforese de lipoproteínas foi realizada para avaliação do perfil lipídico, porém ultimamente tem sido empregada para avaliar a ausência de lipoproteínas (CAMPOS *et al.*, 2005). Os padrões de eletroforese de lipoproteínas são úteis na caracterização das dislipidemias secundárias e primárias (fenótipos). Nos pacientes desse estudo não foi evidenciada a presença de quilomicrons, visto que os triglicerídios podem ser transportados pelas VLDL e quilomicrons. As alterações mais encontradas foram nas pré-beta lipoproteínas (VLDL), com valores acima dos indicados em ambos os grupos e nas beta lipoproteínas (LDL), com valores abaixo do intervalo de referência.

As alterações lipídicas, associadas a outras características clínicas e laboratoriais podem ser indícios para o diagnóstico da LV, e servir como um possível marcador na avaliação da resposta ao tratamento (SEÇMEER *et al.*, 2006). Mais estudos são necessários de modo a compreender a importância exata das alterações lipídicas nas diferentes formas clínicas da LV, na evolução da doença e resposta ao tratamento dos pacientes com leishmaniose visceral.

7 CONCLUSÃO

- Os pacientes adultos com leishmaniose visceral apresentam baixos níveis de colesterol total, HDL, LDL, apo A-I e apo B, quando comparados aos indivíduos com infecção assintomática, reforçando a ideia de que o parasito possa utilizar estes componentes para seu crescimento, e que valores baixos indicam progressão da doença.
- Os níveis de VLDL, triglicerídios e IL-6 mostraram-se elevados para os sintomáticos em relação aos indivíduos com infecção assintomática, dados estes, que podem ser utilizados na prática clínica como possível indicador de gravidade na LV.
- O conhecimento das alterações metabólicas provocadas pela leishmaniose visceral, em associação com os dados clínicos e laboratoriais podem ajudar no monitoramento da resposta terapêutica.

REFERÊNCIAS

- ALEXANDER, J.; BRYSON, K. T helper (h)1/Th2 and *Leishmania*: paradox rather than paradigm. **Immunology Letters**, v. 99, p. 17-23, 2005.
- ASSIS, T. S. M.; BRAGA, A. S. C.; PEDRAS, M. J.; BARRAL, A. M. P.; SIQUEIRA, I. C.; COSTA, C. H. N.; COSTA, D. L.; HOLANDA, T. A.; SOARES, V. Y. R.; SOARES, V. Y. R.; BIÁ, M.; CALDAS, A. J. M.; ROMERO, G. A. S.; RABELLO, A. Validação do teste imunocromatográfico rápido IT-LEISH para o diagnóstico da leishmaniose visceral humana. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v. 17, n. 2, p. 107-116, 2008.
- BACELLAR, O; CARVALHO, E. M. Imunopatogênese na leishmaniose visceral. **Gazeta Médica da Bahia**. v. 75, n. 1, p. 24-34, 2005.
- BADARÓ, R.; JONES, T. C.; LORENÇO, R.; CERF, B. J.; SAMPAIO, D.; CARVALHO, E.; ROCHA, H.; TEIXEIRA, R.; JOHNSON JR, W. D. A prospective study os visceral leishmaniasis in an endemic área of Brazil. **The Journal of Infectious Diseases**. v. 154, p. 639-649, 1986.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Leishmaniose visceral: recomendações clínicas para redução da letalidade**. Brasília: Ministério da Saúde, 2011.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.
- BURTS, C. A.; ASHWOOD, E. R. Fundamentals of Clinical, 6º edition, 2008.
- CAMPOS, E. M. Da Classificação dos fenótipos de Fredrickson – perfis das lipoproteínas – ao entendimento dos genótipos. **Acta Médica Portuguesa**. v. 18, p. 189-198, 2005.
- CHAKRABORTY, D; BANERJEE, SUBHA; SEN, A; BANERJEE, K. K; DAS, P; ROY, S. *Leishmania donovani* affects antigen presentation of macrophage by disrupting lipid rafts. **The Journal of Immunology**. v. 175, p. 3214-3224, 2013.

CHOI, C. M.; LERNER, E. A. Leishmaniasis as an Emerging Infection. **The Society for Investigative Dermatology**. v. 6, n. 3, p. 175-182, 2001.

CONTOIS, J. H.; GILLMOR, R. G.; MOORE, R. E.; CONTOIS, L. W.; MACER, J. L.; WU, A. H. B. Quantitative determination of cholesterol in lipoprotein fractions by electrophoresis. **Clinica Chimica Acta**. v. 282, p. 1-14, 1999.

D'OLIVEIRA JR, A.; COSTA, S. R. M.; BARBOSA, A. B.; ORGE, M. G. O.; CARVALHO, E. M. Asymptomatic *Leishmania chagasi* Infection in Relatives and Neighbors of Patients with Visceral Leishmaniasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 92, n. 1, p. 15-20, 1997.

Drugs for Neglected Diseases initiative (DNDi). Disponível em: <http://www.dndi.org/diseases-projects/diseases/vl.html>. Acesso em 10/11/15.

DRUZIAN, A. F.; SOUZA, A. S.; CAMPOS, D. N.; CRODA, J.; HIGA Jr, M. G.; DORVAL, M. E. C.; POMPILIO, M. A.; OLIVEIRA, P. A.; PANIAGO, A. M. M. Risk Factors for Death from Visceral Leishmaniasis in an Urban Area of Brazil. **PLoS Neglected Tropical Diseases**. v. 9, n. 8, 2015.

ERDEVE, O., DALLAR, Y., SIKLAR, Z. Is hypertriglyceridemia a new concept for visceral leishmaniasis? **Annals Tropical Paediatrics**. v. 24, p. 369, 2004.

FRANÇA, A. O.; CASTRO, V. L.; LIMA JR, M. S. C.; PONTES, E. R. J. C.; DORVAL, M. E. C. Anti-Leishmania antibodies in blood donors from the Midwest region of Brazil. **Transfusion and Apheresis Science**. v. 49, n. 3, p. 627-630, 2013.

GAMA, M. E. A.; COSTA, J. M. L.; GOMES, C. M. C.; CORBETT, C. E. P. Subclinical form in the american visceral leishmaniasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 99, n. 8, p. 889-893, 2004.

GHOSH, J.; LAL, C. S.; PANDEY, K.; DAS, V. N. R.; DAS, P. Human visceral leishmaniasis: decrease in serum cholesterol as a function of splenic parasite load. **Annals of Tropical Medicine Parasitology**. v. 105, n. 3, p. 267-271, 2011.

GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, n. 3, p. 338-349, 2004.

HULLEY, S. B.; CUMMINGS, S. R.; BROWNER, W. S.; GRADY D.; HEARST N.; NEWMAN, T. B. **Delineando a pesquisa clínica: uma abordagem epidemiológica**. 2ª Ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2003.

INEU, M. L.; MANENTI, E.; COSTA, J. L. V.; MORUGUCHI, E. Manejo da HDL: avanços recentes e perspectivas além da redução da LDL. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v. 87, n. 6, p. 788-794, 2006.

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

LAL, C. S. ; KUMAR, A. ; KUMAR, S. ; PANDEY, K. ; KUMAR, N. ; SINHA, P. K. ; BIMAL, S. DAS, P. Hypocholesterolemia and increased triglyceride in pediatric visceral leishmaniasis. **Clinica Chimica Acta**. v. 381, p. 151-153, 2007.

LAL, C. S., VERMA, N., RABIDAS, V. N., RANJAN, A., PANDEY, K., VERMA, R. B., SINGH, D., KUMAR, S. DAS, P. Total serum cholesterol determination can provide understanding of parasite burden in patients with visceral leishmaniasis infection. **Clinica Chimica Acta**. v. 411, p. 2112-2113, 2010.

LAL, C. S.; VERMA, R. B.; VERMA, N.; SIDDIQUI, N. A.; RABIDAS, V. N.; PANDEY, K.; SINGH, D.; KUMAR, S.; PASWAN, R. K.; KUMARI, A.; SINHA, P.; DAS, P. Hypertriglyceridemia: a possible diagnostic marker of disease severity in visceral leishmaniasis. **Infection**. v. 44, n. 1, p. 39-45, 2015.

LIBEROPOULOS, E., ALEXANDRIDIS G., BAIRAKTARI E., ELISAF M. Severe hypercholesterolemia with reduced serum lipoprotein(a) in a patient with visceral leishmaniasis. **Annals of Clinical ; Laboratory Science**. v. 32, p 305-8, 2002.

LIBEROPOULOS, E., APOSTOLOU, F., GAZI, I. F., KOSTARA, C., BAIRAKTARI, E. T., TSELEPIS, A. D., ELISAF, M. Visceral leishmaniasis is associated with marked changes in serum lipid profile. **Europa Journal Clinical Investigation**. v. 44, n. 8, p. 719-727, 2014.

LIMA, L. M., CARVALHO, M. G., SOUSA, M. O. Índice Apo B/Apo A e predição de risco cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v. 88, n. 6, p. 187-190, 2007.

MACHADO, L. V.; GNOATTO, S. A.; KLUPPEL, M. L. W. Lipossomas aplicados em farmacologia: uma revisão de literatura. **Estudos de Biologia**, v. 29, n. 67, p. 215-224, 2007.

MATLASHEWSKI, G.; ARANA, B.; KROEGER, A.; BATTACHARYA, S.; SUNDAR, S.; DAS, P.; KUMAR, S.; RJJAL, S.; MONDAL, D., ZIBERSTEIN, D.; ALVA, J. Visceral leishmaniasis: elimination with existing interventions. **Lancet**. v. 11, p. 322-325, 2011.

MICHALICK, M. S. M.; GENARO, O. Leishmaniose visceral americana. In: NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. 11. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. Cap. 10, p. 67-83.

MOTTA, V. T. Bioquímica clínica para o laboratório: princípios de interpretações, 5ª edição, 2009.

MULDOON, M. F., MARSLAND, A., FLORY, J. D., RABIN, B. C., WHITESIDE, T. L., MANUCK, S. B. Immune System Differences in Men with Hypo- or Hypercholesterolemia. **Clinical Immunology and immunopathology**. v. 84, n. 2, p. 145-149, 1997.

MURRAY, H. W.; BERMAN, J. D.; DAVIES, C. R.; SARAIVA, N. G. Advances in leishmaniasis. **Lancet**, v. 336, n. 9496, p. 1561-1577, 2005.

NASSAJI, M.; GHORBANI, R. Plasma lipid levels in patients with acute bacterial infections. **Turkish Journal of Medical Sciences**. v. 42, n. 3, p. 465-469, 2012.

OLIVEIRA, A. L. L.; PANIAGO, A. M. M.; DORVAL, M. E. C.; OSHIRO, E. T.; LEAL, C. R.; SANCHES, M.; CUNHA, R. V.; BÓIA, M. N. Foco emergente de leishmaniose visceral em Mato Grosso do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 5, p. 446-450, 2006.

OLIVEIRA, J. M.; FERNANDES, A. C.; DORVAL, M. E. C.; ALVES, T. P.; FERNANDES, T. D.; OSHIRO, E. T.; OLIVEIRA, A. A. L. Mortalidade por leishmaniose visceral: aspectos clínicos e laboratoriais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 2, p. 188-193, 2010.

PASTORINO, A. C.; JACOB, C. M. A.; OSELKA, G. W.; CARNEIRO-SAMPAIO, M. M. S. Leishmaniose visceral: aspectos clínicos e laboratoriais. **Jornal de Pediatria**. v. 78, n. 2, p. 127-7, 2002.

PEARSON, R. D.; SOUSA, A. Q. Clinical spectrum of leishmaniasis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 22, n. 1, p. 1-13, 1996.

PONTE, C. M. M.; GURGEL, M. H. C.; PONTE, G. A.; RAMOS, A. V. A.; JÚNIOR, R. M. M. Distúrbios metabólicos em doenças infecciosas emergentes e negligenciadas. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia ; Metabologia**. v. 54, n. 9, p. 785-792, 2010.

PUCADYIL, T. J.; TEWARY, P.; MADHUBALA, R.; CHATTOPADHYAY, A. Cholesterol is required for *Leishmania donovani* infection: implications in leishmaniasis. **Molecular ; Biochemical Parasitology**, v. 133, p. 145-152, 2004.

PUCADYIL, T. J.; CHATTOPADHYAY, A. Cholesterol: a potencial therapeutic target in *Leishmania* infection?. **Trends in Parasitology**. v. 23, n. 2, p. 49-53, 2012.

RIGO, R, S.; RIGO, L.; HONER, M, R. Aspectos clínicos e laboratoriais na leishmaniose visceral americana. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**. v. 31, n. 1, p. 48-54, 2009.

RUB, A.; DEY, R.; JADHAV, M.; KAMAT, R.; CHAKKARAMAKKIL, S.; MAJUNDAR, S.; MUKHOPADHYAYA, R.; SAHA, B. Cholesterol depletion associated with *Leishmania major* infection alters macrophage CD40 signalosome composition and effector function. **Nature Immunology**. v. 10, n. 3, p. 272-280, 2009.

SALES, R. L.; PELUZIO, M. C. G.; COSTA, N. M. B. Lipoproteínas: uma revisão do seu metabolismo e envolvimento com o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. **Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**. v. 25, p. 71-86, 2003.

Sociedade Brasileira de Cardiologia. Consenso brasileiro sobre dislipidemias detecção, avaliação e tratamento. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**. v. 43, n. 4, 1999.

Sociedade Brasileira de Cardiologia. III Diretrizes Brasileiras sobre dislipidemias e diretriz de prevenção da aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v. 77, suplemento III, 2001.

SCHIAVO, M.; LUNARDELLI, A.; OLIVEIRA, J. R. Influência da dieta na concentração sérica de triglicerídeos. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. v. 39, n. 4, p. 283-288, 2003.

SEÇMEER, G.; CENGİZ, A. B.; GURGEY, A.; KARA, A.; CULTU, O.; TAVIL, B.; DEVRİM, I. Hypertriglyceridemia and Decreased High-density Lipoprotein Could be a Clue for Visceral Leishmaniasis. **Infectious Diseases in Clinical Practice**. v. 14, n. 6, p. 401-402, 2006.

SILVA, I. R. P.; DIAS, R. M.; DUTRA, C. D. T.; MENDES, A. N. L. Dislipidemia e estado nutricional em pacientes HIV positivo com síndrome lipodistrófica. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**. v. 4, n. 3, p. 200-207, 2014.

SIMONS, K.; IKONEN, E. Functional rafts in cell membranes. **Nature**, v. 387, p. 569-572, 1997.

SISTEMA NACIONAL DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO (SINAN). Governo do Estado de Mato Grosso do Sul. Secretaria de Estado de saúde. Coordenadoria Estadual de vigilância epidemiológica. Gerência Estadual de Zoonoses. Informe epidemiológico das leishmanioses nº1/2015. **Leishmaniose visceral Americana em Mato Grosso do Sul, 1999-2014**. Mato Grosso do Sul: Secretaria de Estado de saúde, 2015.

VIEIRA, F. S.; CORRÊA, G.; EINICKER-LAMAS, M.; COUTINHO-SILVA, ROBSON. Host-cell lipid rafts: a safe door for micro-organisms?. **Biology Cell**. v. 102, p. 391-407, 2010.

World Health Organization (WHO). Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>. Acesso em: 10/08/2015.