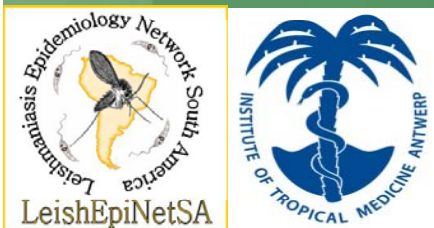


Prêmio de Incentivo em Ciência e Tecnologia para o SUS - 2009

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ISOLADOS CLÍNICOS DE *Leishmania braziliensis* E *Leishmania guyanensis* E SUA ASSOCIAÇÃO COM A RESPOSTA TERAPÊUTICA AO ANTIMONIATO DE MEGLUMINA NO BRASIL

Davi Coe Torres

Orientadores: Dra. Elisa Cupolillo, Dr. Alberto M. R. Dávila



Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos
Ministério da Saúde



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

Prêmio de Incentivo em Ciência e Tecnologia para o SUS - 2009

Leishmaniose

- *Leishmania* – lesões cutâneas e mucocutâneas, visceral
- Leishmaniose → segunda doença mais importante causada por protozoário de acordo com a OMS

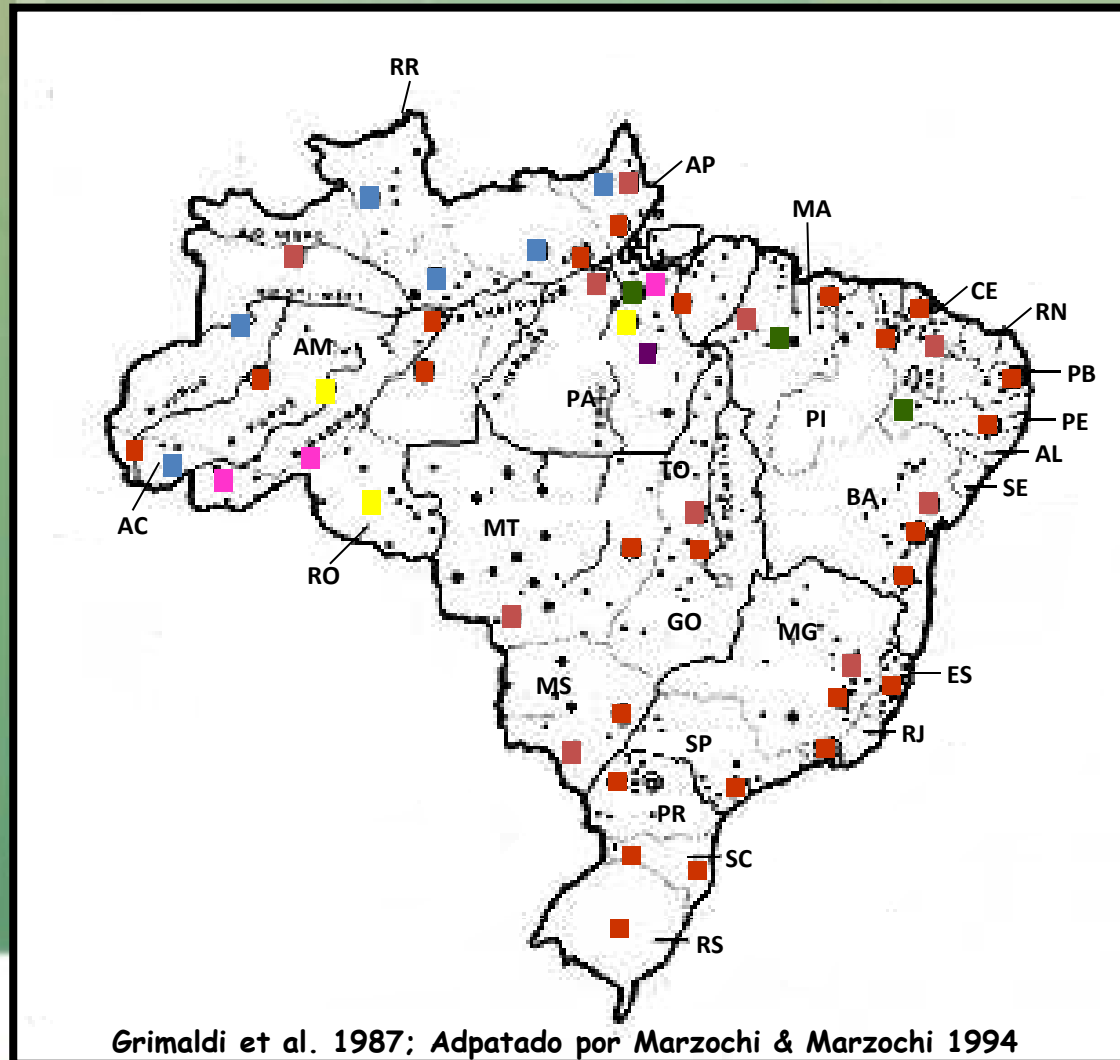


Nature Reviews | Microbiology

Prêmio de Incentivo em Ciência e Tecnologia para o SUS - 2009

Leishmaniose Cutânea

- O Brasil apresenta a maior prevalência de LC nas Américas



- *L. (L.) amazonensis*
- *L. (V.) braziliensis*
- *L. (V.) guyanensis*
- *L. (V.) lainsoni*
- *L. (V.) naiffi*
- *L. (V.) shawi*
- *L. (V.) lindenbergi*

Prêmio de Incentivo em Ciência e Tecnologia para o SUS - 2009

Resposta terapêutica no Brasil

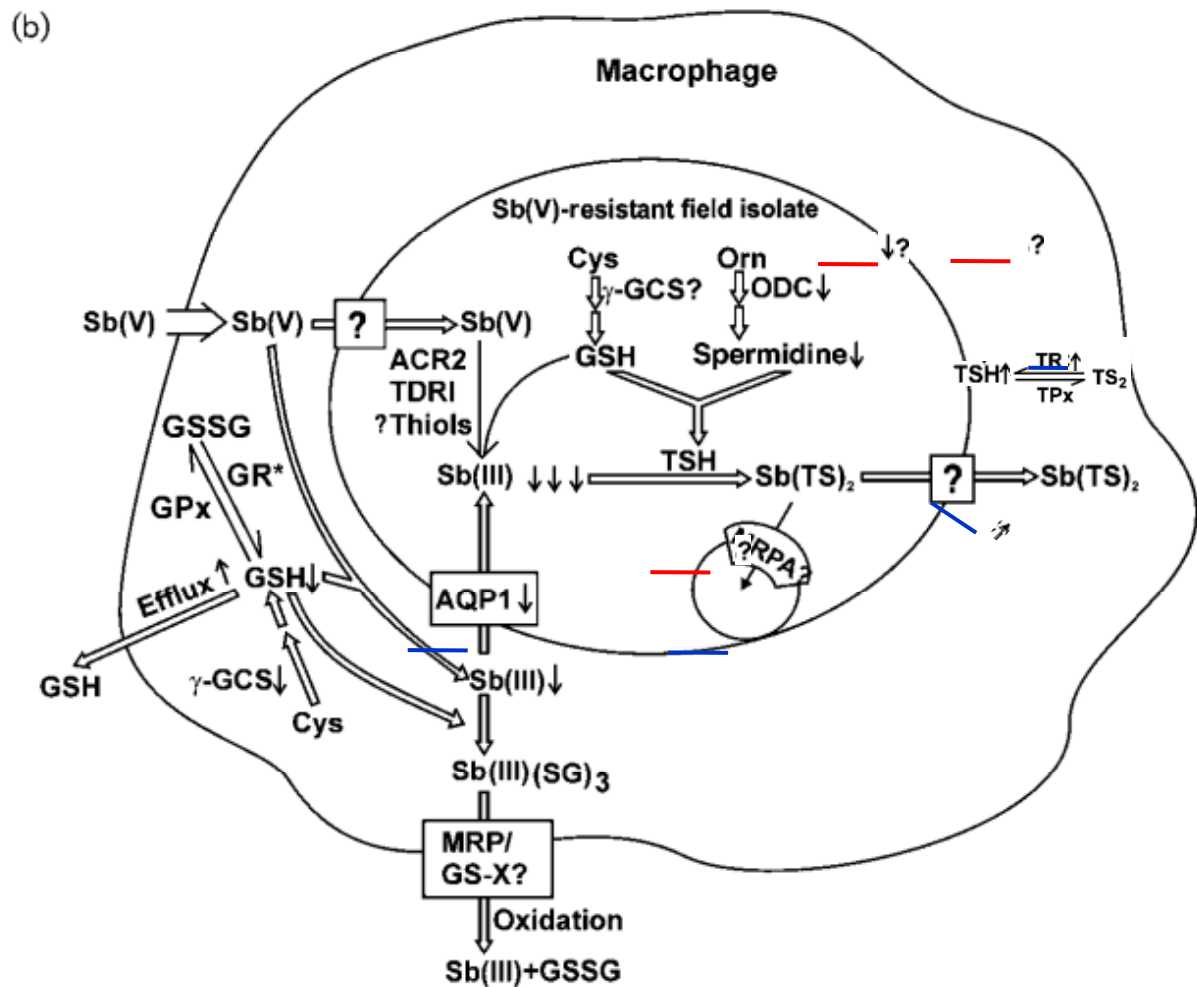
- Diferentes cenários de falha terapêutica
 - Rio de Janeiro (Oliveira-Neto *et al.*, 1997) – 16%
 - Bahia – 49,2% e Amazonas – 73,7% (Romero *et al.*, 2001)
 - Amazonas (Teixeira *et al.*, 2008) – 57,9%
- No município do Rio de Janeiro (Azeredo-Coutinho *et al.*, 2007)
 - Excelente resposta clínica observada em pacientes tratados contra LC está correlacionada com uma alta sensibilidade dos parasitos à droga
 - Ensaios de susceptibilidade a drogas *in vitro* em amastigotas intracelulares são os mais confiáveis → tecnicamente laboriosos

Prêmio de Incentivo em Ciência e Tecnologia para o SUS - 2009

Objetivo

Identificar marcadores moleculares relacionados à resposta terapêutica ao antimoniato de meglumina na leishmaniose cutânea causada por *L. braziliensis* e *L. guyanensis* no Brasil

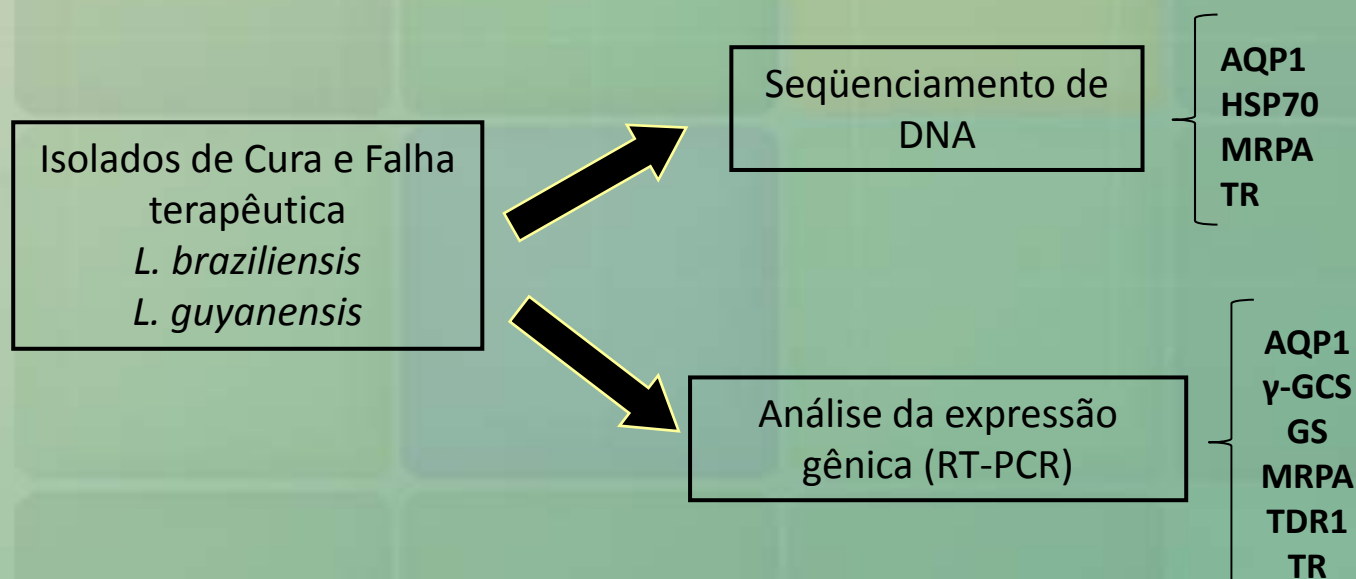
Resistência natural



Fonte: Ashutosh *et al.* (2007)

Prêmio de Incentivo em Ciência e Tecnologia para o SUS - 2009

Desenho experimental



Os pacientes foram considerados curados quando se observou completa recuperação durante os primeiros 3 meses após o tratamento com antimoniato de meglumina (Glucantime®, Rhodia, São Paulo – SP, Brasil) a 20mg de SbV/kg/dia aplicado intra-venosa ou intra-muscular por 20 dias. Caso ocorresse uma persistência ou piora dos sintomas após o mesmo período de tempo, os pacientes eram diagnosticados como falha terapêutica.

Prêmio de Incentivo em Ciência e Tecnologia para o SUS - 2009

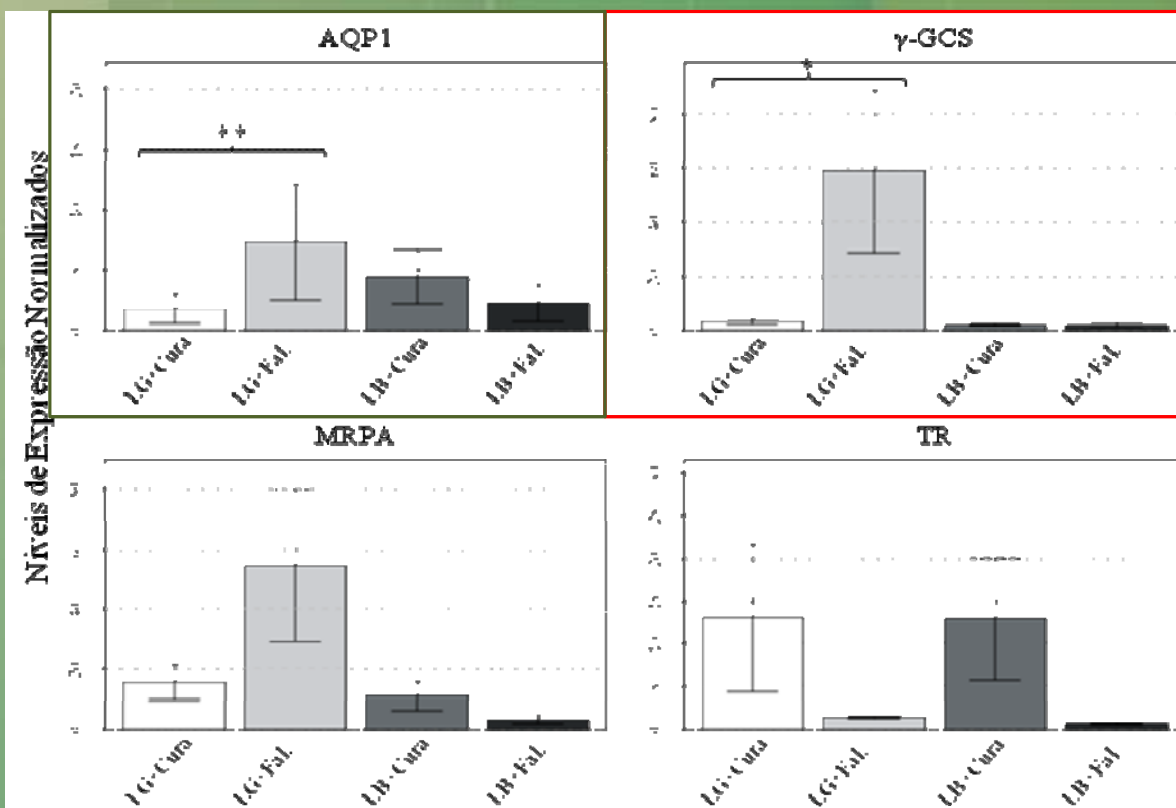
Análise das seqüências de DNA

Características avaliadas	Gene											
	AQP1			HSP70			MRPA			TR		
	LB e LG	LB	LG	LB e LG	LB	LG	LB e LG	LB	LG	LB e LG	LB	LG
sítios alinhados	899	899	899	1183	1183	1183	1789	1789	1789	1471	1471	1471
sítios polimórficos	19	9	3	15	9	1	39	12	4	24	6	5
Taxa de s / v	2,17	8	2	6	-	-	2,54	5	1	2,43	1	-
mutações não-sinônimas	9	4	3	5	1	1	8	5	1	14	4	4
Diversidade nucleotídica Pi	0,00638	0,00248	0,00056	0,00268	0,00084	0	0,00807	0,0019	0,00018	0,00552	0,00127	0,00021

- A presença de várias mutações não sinônimas nos genes em estudo pode estar relacionada ao fenótipo de resistência a drogas em *Leishmania*, uma vez que tais mudanças podem promover alterações na estrutura e atividade da proteína
- Mutações pontuais em genes relacionados à resistência a drogas podem ser utilizadas para discriminar as espécies *L. braziliensis* e *L. guyanensis* do subgênero *L. (Viannia)*
- Um sítio informativo em *L. braziliensis* na posição 1735 do gene HSP70
 - chance 7,3 vezes maior (A→G) de estar relacionado à falha terapêutica
- Diversidade Genética Pi
 - ↑π Cura Terapêutica ↓π Falha Terapêutica



Prêmio de Incentivo em Ciência e Tecnologia para o SUS - 2009



Análise de Expressão Gênica

- Em *L. guyanensis* os genes AQP1 ($P = 0,057$) e γ -GCS ($P < 0,05$) estão superexpressos em isolados de falha
- γ -GCS
 - Aumento da expressão gênica
 - \uparrow tiol
 - \uparrow sobrevivência em ambiente oxidativo

Prêmio de Incentivo em Ciência e Tecnologia para o SUS - 2009

Conclusão

- O perfil de expressão gênica de γ -GCS apresenta potencial para ser utilizado no prognóstico da leishmaniose cutânea causada por *L. guyanensis*, uma vez que se encontra superexpresso em isolados de falha terapêutica
- A análise de agrupamentos para os dados de seqüências de DNA não determinou grupos relacionados à resposta terapêutica nos isolados clínicos estudados. Contudo, um polimorfismo observado no gene HSP70 parece estar relacionado à falha terapêutica em *L. braziliensis* e, portanto, apresenta potencial para ser utilizado no monitoramento da doença no Brasil