ELINÉIA DE OLIVEIRA ARAUJO RODRIGUES

MODULAÇÃO DAS JUNÇÕES COMUNICANTES NO MICROAMBIENTE DA INFECÇÃO POR *Leishmania amazonensis* EM MACRÓFAGOS

Duque de Caxias

2025

ELINÉIA DE OLIVEIRA ARAUJO RODRIGUES

MODULAÇÃO DAS JUNÇÕES COMUNICANTES NO MICROAMBIENTE DA INFECÇÃO POR *Leishmania amazonensis* EM MACRÓFAGOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biomedicina Translacional (BIOTRANS), da UNIGRANRIO / UERJ / INMETRO, como requisito para obtenção do título de mestre em Ciências Biomédicas.

Orientador: Prof. Dr. Fabio da Silva de Azevedo Fortes.

Duque de Caxias

2025

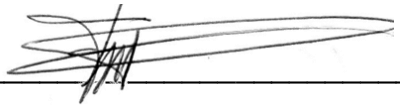
ELINÉIA DE OLIVEIRA ARAUJO RODRIGUES

MODULAÇÃO DAS JUNÇÕES COMUNICANTES NO MICROAMBIENTE DA INFECÇÃO POR *Leishmania amazonensis* EM MACRÓFAGOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biomedicina translacional – UNIGRANRIO, em parceria com a Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) e INMETRO, como requisito para qualificação referente ao título de mestre em Ciências Biomédicas.

Aprovada em: 03 de abril de 2025.

BANCA EXAMINADORA:



Orientador: Prof. Dr. Fabio da Silva de Azevedo Fortes

Universidade do Estado Do Rio de Janeiro – UERJ

Documento assinado digitalmente
gov.br SERGIO HENRIQUE SEABRA
Data: 12/06/2026 10:42:45-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Sergio Henrique Seabra

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF

Documento assinado digitalmente
gov.br GABRIELLA OLIVEIRA ALVES MOREIRA DE CARV
Data: 12/06/2026 13:29:10-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dra. Gabriella Oliveira A. Moreira Carvalho

Pós doutoranda no Grupo do Fígado Centro de Pesquisa em Medicina de Precisão – CPMP – Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho – UFRJ.

Documento assinado digitalmente
gov.br PEDRO SOUTO RODRIGUES
Data: 12/06/2026 20:39:17-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Pedro Rodrigues

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF.

Duque de Caxias

2025

Dedico esse trabalho aos meus filhos Felipe e Ana Carolina e minha irmã Elenice, meus maiores incentivadores que sempre me apoiaram nesta jornada.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, pela oportunidade de poder continuar estudando e pelo cuidado ao colocar muitas pessoas especiais no meu caminho.

À memória de meus pais Irene e Elier, por tudo o que fizeram por mim.

Aos meus filhos Felipe e Ana Carolina e nora Isabella, pela compreensão e incentivo nesta jornada.

À minha irmã Elenice e sobrinha Cynthia, pelo carinho e apoio incondicional.

À Professora Dra. Gabriella, pela confiança depositada, ensinamentos, apoio e por estar sempre pronta a compartilhar seus conhecimentos de maneira muito didática.

À Olga, pelo carinho, amizade e disposição em contribuir com seus conhecimentos.

À Maria Rita, pelo carinho e cumplicidade em compartilhar seus conhecimentos.

Ao Tiago, pela amizade, parceria, apoio e contribuir com seus conhecimentos.

Ao Daniel, pelo carinho, incentivo e apoio em várias atividades.

À Aline, pelo apoio e por compartilhar seus conhecimentos e parasitas.

Ao Professor Dr. Michel, que auxiliou e compartilhou seus conhecimentos.

Ao Professor Dr. Sergio, por compartilhar seu vasto conhecimento em parasitologia.

Ao meu orientador Professor Dr. Fabio Fortes por sua orientação, paciência e apoio incondicional ao longo deste processo.

À toda equipe do laboratório LTFCM da UERJ-ZO, pelo apoio neste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação BIOTRANS/ UNIGRANRIO/ UERJ/ INMETRO, UFRJ, UFRRJ, CAPES e CNPq que possibilitaram a execução do projeto.

“O que sabemos é uma gota, o que ignoramos é um oceano.”

Isaac Newton

RESUMO

A leishmaniose é uma doença tropical negligenciada causada por diferentes espécies de protozoários do gênero *Leishmania* spp., que infecta o homem e outros animais mamíferos e transmitida durante o repasto sanguíneo da fêmea infectada do flebotomíneo. A doença afeta mais de 12 milhões de pessoas e gera um grande problema de saúde pública global. *Leishmania* spp. são parasitas intracelulares obrigatórios nos vertebrados e possuem um tropismo acentuado por macrófagos, onde se replicam e estabelecem uma infecção progressiva no hospedeiro. Alguns aspectos da resposta imunológica dependem da interação macrófago–*Leishmania.* Diversos fatores promovem a sobrevivência da *Leishmania* spp. no interior da célula hospedeira e podem afetar a comunicação intercelular realizada pelas junções comunicantes. As junções comunicantes são compostas por hemicanais hexaméricos de conexinas posicionados na membrana plasmática de células adjacentes que se emparelham e se acoplam para formar os canais intercelulares de junção comunicante que possibilitam o acoplamento elétrico e metabólico das células vizinhas em interação. Conexinas são proteínas transmembranares que formam as subunidades estruturais essenciais dos hemicanais que atuam nos processos fisiológicos e fisiopatológicos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a modulação das junções comunicantes em células de linhagem macrofágica J774-G8 no microambiente da infecção por *Leishmania (L.) amazonensis*. As metodologias utilizadas foram: culturas celulares da linhagem macrofágica J774-G8 e dos protozoários de *Leishmania (L.) amazonensis* na forma promastigota; infecção da cultura celular J774-G8 pela *Leishmania (L.) amazonensis* na proporção de 10 parasitas para cada célula (10:1); avaliação e análise das culturas celulares nos períodos de 24h, 48h e 72h, através da observação por microscopia de contraste de fase e confocal; realização de ensaios de MTT, imunofluorescências e da técnica de Western Blot. Os resultados revelaram: alterações morfológicas e na viabilidade celular das culturas das células J774-G8 infectadas pelo parasita de *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1); redução na expressão da proteína Cx43 nas células J774-G8 infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), verificado pelo método de Western Blot; alterações na expressão e posicionamento da proteína conexina 43 nas células infectadas pelo parasita *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), observado através de análises das imunofluorescências por microscopia confocal, entretanto, não ocorreram variações significativas na distribuição da F-actina no citoesqueleto das células J774-G8 infetadas por *L. (L.) amazonensis* (10:1). De acordo com os resultados obtidos nos experimentos, foi possível inferir que *Leishmania (L.) amazonensis* é um parasita capaz de afetar o comportamento da célula hospedeira e provocar alterações que podem modular a comunicação intercelular mediada por junções comunicantes, o que impacta na resposta imunológica célula-célula. Este fato, inclusive, pode favorecer a persistência do parasita no interior da célula e contribuir para a progressão do processo infeccioso no hospedeiro. Neste cenário, uma das possibilidades associada à diminuição da comunicação por junções comunicantes, culmina por auxiliar o parasita a escapar da resposta imune do hospedeiro. Os contundentes resultados, necessitam de outros estudos para melhor elucidação sobre o papel e função das junções comunicantes em macrófagos no microambiente da infecção por *Leishmania (L.) amazonensis*.

Palavras-chave: Comunicação celular. Células J774-G8. Conexina 43. *Leishmania.*

ABSTRACT

Leishmaniasis is a neglected tropical disease caused by different species of protozoa of the genus *Leishmania* spp., which infect humans and other mammals and are transmitted during the blood meal of infected female sand flies. The disease affects more than 12 million people and poses a major global public health problem. *Leishmania* spp. are obligate intracellular parasites in vertebrates and have a marked tropism for macrophages, where they replicate and establish a progressive infection in the host. Some aspects of the immune response depend on the macrophage-*Leishmania* interaction. Several factors promote the survival of *Leishmania* spp. within the host cell and can affect intercellular communication through gap junctions. Gap junctions are composed of hexameric connexin hemichannels positioned in the plasma membrane of adjacent cells that pair and couple to form the gap junction intercellular channels that enable electrical and metabolic coupling of interacting neighboring cells. Connexins are transmembrane proteins that form the essential structural subunits of hemichannels that function in physiological and pathophysiological processes. The aim of this study was to evaluate the modulation of gap junctions in cells of the macrophage lineage J774-G8 in the microenvironment of infection by *Leishmania (L.) amazonensis*. The methodologies used were: cell cultures of the macrophage lineage J774-G8 and *Leishmania (L.) amazonensis* protozoa in the promastigote form; infection of the J774-G8 cell culture by *Leishmania (L.) amazonensis* in the proportion of 10 parasites for each cell (10:1); evaluation and analysis of cell cultures in the periods of 24h, 48h and 72h, through observation by phase contrast and confocal microscopy; performance of MTT, immunofluorescence and Western Blot assays. The results revealed: morphological changes and cell viability of J774-G8 cell cultures infected by the parasite *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1); reduction in the expression of the Cx43 protein in J774-G8 cells infected with *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), verified by the Western Blot method; changes in the expression and positioning of the connexin 43 protein in cells infected by the parasite *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), observed through immunofluorescence analysis by confocal microscopy; however, there were no significant variations in the distribution of F-actin in the cytoskeleton of J774-G8 cells infected by *L. (L.) amazonensis* (10:1). According to the results obtained in the experiments, it was possible to infer that *Leishmania (L.) amazonensis* is a parasite capable of affecting the behavior of the host cell and causing changes that can modulate intercellular communication mediated by gap junctions, which impacts the cell-to-cell immune response. This fact, in fact, can favor the persistence of the parasite inside the cell and contribute to the progression of the infectious process in the host. In this scenario, one of the possibilities associated with the decrease in communication by gap junctions ends up helping the parasite to escape the host's immune response. The convincing results require further studies to better elucidate the role and function of gap junctions in macrophages in the microenvironment of *Leishmania (L.) amazonensis* infection.

Keywords: Cell communication. J774-G8 cells. Connexin 43. *Leishmania*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Áreas endêmicas da leishmaniose cutânea (LC) no mundo 21
Figura 2 – Áreas endêmicas da leishmaniose visceral (LV) no mundo 22
Figura 3 – Lesões típicas nas diversas formas clínicas da leishmaniose 26
Figura 4 – Diagnóstico da leishmaniose 28
Figura 5 – Classificação das espécies de *Leishmania* spp. 30
Figura 6 – Formas de apresentação da *Leishmania (L.) amazonensis* 33
Figura 7 – *Leishmania (Leishmania) amazonensis* 34
Figura 8 – Ciclo de vida da *Leishmania (Leishmania) amazonensis* 41
Figura 9 – Mecanismos da imunidade inata e adaptativa 42
Figura 10 – Permeabilidade dos canais de junção comunicante 48
Figura 11 – Topologia da proteína Cx43 na membrana celular..... 49
Figura 12 – Estrutura dos canais formados por conexinas 54
Figura 13 – Organização dos hemicanais e canais juncionais de conexinas 55
Figura 14 – Síntese e tráfego intracelular da Cx43 58
Figura 15 – Micrografia eletrônica de um macrófago 63
Figura 16 – Micrografias de contraste de fase das culturas celulares J774-G8 e J774-G8 infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1) no período de 24h 89
Figura 17 – Micrografias de contraste de fase das culturas celulares J774-G8 e J774-G8 infectadas com *Leishmania (L.). amazonensis* (10:1) no período de 48h 90
Figura 18 – Micrografias de contraste de fase das culturas celulares J774-G8 e J774-G8 infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1) no período de 72h..... 91
Figura 19 – Ensaio de viabilidade celular (MTT) das culturas celulares J774-G8 93
Figura 20 – Contagem do número de células por campo das culturas celulares J774-G8 94

Figura 21 – Micrografias das imunofluorescências por microscopia confocal da cultura de células J774-G8 não infectadas no período de 24h 98
Figura 22 – Micrografias das imunofluorescências por microscopia confocal da cultura de células J774-G8 infectadas com *Leishmania amazonensis* (10:1) no período de 24h 99
Figura 23 – Micrografias das imunofluorescências por microscopia confocal da cultura de células J774-G8 não infectadas no período de 48h 100
Figura 24 – Micrografias das imunofluorescências por microscopia confocal da cultura de células J774-G8 infectadas com *Leishmania amazonensis* (10:1) no período de 48h 101
Figura 25 – Micrografias das imunofluorescências por microscopia confocal da cultura de células J774-G8 não infectadas no período de 72h 102
Figura 26 – Micrografias das imunofluorescências por microscopia confocal da cultura de células J774-G8 infectadas com *Leishmania amazonensis* (10:1) no período de 72h 103
Figura 27 – Imunofluorescências por microscopia confocal das culturas celulares J774-G8 com análise gráfica sobre a distribuição da proteína Cx43 104
Figura 28 – Imunofluorescências por microscopia confocal das culturas celulares J774-G8 com análise gráfica sobre a distribuição da proteína F-actina 105
Figura 29 – Expressão da proteína Cx43 por Western Blot nas culturas celulares J774-G8 com análise gráfica dos valores densitométricos 108

LISTA DE QUADROS

Tabela 1 – Classificação da leishmaniose 15
Tabela 2 – Peso Molecular das conexinas em humanos e camundongos 49

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

APC	Célula Apresentadora de Antígeno
CR_1	Receptor de membrana plasmática de macrófagos1 ou receptor do complemento 1
CR_2	Receptor de membrana plasmática de macrófagos 2 ou receptor do complemento 2
Cx 43	Conexina 43
DAMPs	Padrão Molecular Associado a Danos
DNA	Ácido Desoxirribonucleico, do inglês: *Deoxyribonucleic acid*
FAZ	Zona de fixação do flagelo
FcγRs	Receptores Fc gama, do inglês: *Fc gamma receptors*
FnRs	Receptores de fibronectina
Gp63	Glicoproteína 63
GPI	Glicosilfosfatidilinositol
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
IDMR	Intradermoreação de Montenegro
IL	Interleucina
INF-γ	Interferon gama
IS	Sinapse imunológica do inglês: Immunological Synapse
L. (L.)	*Leishmania* (*Leishmania)*
L. (V.)	*Leishmania (Viannia)*
LC	Leishmaniose Cutânea
LCD	Leishmaniose Cutânea Difusa
LCL	Leishmaniose Cutânea Localizada
LCM	Leishmaniose Mucocutânea ou Leishmaniose Cutânea-mucosa
LD	Leishmaniose Disseminada
LPG	Lipofosfoglicano
LRC	Leishmaniose Recidiva Cútis ou Leishmaniose Recidivante
LT	Leishmaniose Tegumentar
LTA	Leishmaniose Tegumentar Americana
LV	Leishmaniose Visceral
MP	Matriz peritrófica
MRs	Receptores de manose

MS	Ministério da Saúde do Brasil
MST	Teste Cutâneo de Montenegro, do inglês: *Montenegro skin test*
NK	*Natural killer*
NM	Novo Mundo
OMS	Organização Mundial de Saúde
ON	Óxido nítrico
OPAS	Organização Panamericana de saúde
PAMPs	Padrão Molecular Associado a Patógenos
PCR	Reação da Cadeia da Polimerase, do inglês: *Polimerase Chairn Reaction*
PKLD	Leishmaniose Dérmica Pós-Kalazar, do inglês: *post-kala-azar dermal leishmaniasis*
PSG	Proteofosfoglicano
ROI	Espécies reativas de oxigênio
RPMI	Meio de cultura: *Roswell Park Memorial Institute*
SFB	Soro fetal bovino inativado
TNF-α	Fator de Necrose Tumoral alfa
TNF-β	Fator de Necrose Tumoral beta
VM	Velho Mundo
VP	Vacúolo parasitóforo

SUMÁRIO

1	**INTRODUÇÃO**	16
2	**REVISÃO DE LITERATURA**	18
2.1	**Leishmaniose**	18
2.1.1	Aspectos gerais da leishmaniose	18
2.1.2	Classificação da leishmaniose	23
2.1.3	Manifestações clínicas da leishmaniose	24
2.1.4	Diagnóstico da leishmaniose	27
2.1.5	Prevenção e tratamento da leishmaniose	28
2.2	***Leishmania* spp**.	29
2.2.1	Aspectos celulares básicos da *Leishmania* spp.	32
2.2.2	*Leishmania (Leishmania) amazonensis*	33
2.2.3	O ciclo de vida da *Leishmania (Leishmania) amazonensis*	35
2.3	**O Sistema Imunológico e a infecção por *Leishmania* spp.**	41
2.4	**Junções comunicantes**	46
2.4.1	As proteínas conexinas	48
2.4.2	A proteína conexina 43	51
2.4.3	A proteína conexina 43 e a formação das junções comunicantes	52
2.4.4	O ciclo de vida útil da conexina 43	56
2.4.5	A função da conexina e a seletividade dos canais formados por conexinas	59
2.5	**Macrófagos**	61
2.5.1	A estrutura celular dos macrófagos	62
2.5.2	A origem dos macrófagos	63
2.5.3	Os fenótipos dos macrófagos	64
2.5.4	Funções dos macrófagos	65
2.5.5	Macrófagos e as junções comunicantes	69
2.5.6	A interação entre o macrófago e a *Leishmania* spp.	71
3	**JUSTIFICATIVA**	78
4	**OBJETIVOS**	79
4.1	**Objetivo geral**	79
4.2	**Objetivos específicos**	79

5 **MATERIAIS E MÉTODOS** 80
5.1 **Obtenção das células de linhagem macrofágica J774-G8** 80
5.2 **Manutenção da cultura celular das células J774-G8** 80
5.3. **Obtenção da cultura celular da *Leishmania (L.) amazonensis*** 80
5.4 **Manutenção da cultura celular da *Leishmania (L.) amazonensis*** .. 81
5.5 **Interação da *Leishmania amazonensis* com as células J774-G8** .. 81
5.6 **Ensaio de viabilidade (MTT) das culturas celulares J774-G8** 82
5.7 **Imunofluorescência das culturas celulares J774-G8** 83
5.8 **Determinação da concentração de proteína Cx43** 84
5.9 **Imunoeletrotransferência da expressão de proteínas Cx43**..... 85
5.10 **Análise estatística** 86
6 **RESULTADOS** 87
6.1 **Imagens de contraste de fase das culturas celulares J774-G8** 87
6.2 **Ensaio de MTT das culturas celulares J774-G8** 91
6.3 **Contagem do número de células das culturas celulares J774-G8** 93
6.4 **Imunofluorescências das culturas celulares J774-G8** 94
6.5 **Expressão dos níveis proteicos da Cx43 nas culturas celulares J774-G8** 106
7 **DISCUSSÃO** 109
7.1 **Alterações na morfologia e crescimento celular na cultura de células J774-G8 no microambiente da infecção por *Leishmania (L.) amazonensis* em macrófagos** 109
7.2 **Impacto da infecção por *Leishmania (L.) amazonensis* na comunicação intercelular em macrófagos** 111
8 **CONCLUSÃO** 116
REFERÊNCIAS 118

1 INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma doença infecto-parasitária que apresenta um espectro de manifestações clínicas, que afeta o homem e uma variedade de animais mamíferos, possuindo ampla distribuição endêmica em regiões tropicais e subtropicais do globo terrestre (Kevric, Cappel, Keeling, 2015; WHO, 2020). Os protozoários patogênicos para os humanos, pertencem ao gênero *Leishmania* spp., subgêneros *Vianna* e *Leishmania*, que possuem várias espécies transmitidas por vetor aos mamíferos, durante o repasto sanguíneo da fêmea infectada do flebotomíneo (Akhoundi *et al*., 2016; Liu, Uzonna, 2012). A Organização Mundial de Saúde (OMS) classifica a leishmaniose como uma doença negligenciada, apesar de afetar indivíduos em mais de 99 países e possuir um elevado número de mortes entre as doenças parasitárias (Alvar *et al*., 2012; Burza, Croft, Boelaert, 2018; WHO, 2020).

Inúmeras espécies de flebotomíneos dos gêneros *Phlebotomus* e *Lutzomyia,* da ordem Diptera, família Psycodidae, transmitem os parasitas de *Leishmania* spp. que causam as diversas manifestações da doença, como a leishmaniose cutânea, mucocutânea e visceral (Akhoundi *et al*., 2016; Ready, 2013). Kevric, Cappel, Keeling (2015) referem que a apresentação clínica da doença envolve fatores como a complexa interação entre o parasita e célula hospedeira, as espécies de protozoários e de vetores envolvidos. *Leishmania (L.) amazonensis* representa uma importante espécie no Brasil, com potencial para causar todas as formas clínicas da leishmaniose tegumentar americana (LTA), e de leishmaniose visceral americana (LVA), que pode ser fatal, se não for tratada (Barral *et al*., 1991; BRASIL, 2017; de Oliveira *et al*., 2007; Lainson, 2010).

Leishmania spp. são microrganismos unicelulares heteroxênicos e alternam o ciclo de vida entre dois hospedeiros: o vertebrado e o invertebrado, que é o flebotomíneo (Dostálová, Volf, 2012; Torres-Guerrero *et al*., 2017). Nos mamíferos, *Leishmania* spp. vivem como parasita intracelular obrigatório e residem principalmente no interior de macrófagos, dentro do vacúolo parasitóforo (VP), local onde sofre diferenciação da forma infecciosa promastigota metacíclica para amastigota, adquire nutrientes e realiza a replicação por fissão binária (Liu, Uzonna, 2012; Mubayi *et al*., 2018). Macrófagos atuam como células hospedeiras indispensáveis para a diferenciação, sobrevivência, replicação do parasita, e possuem um papel essencial na progressão, sucesso ou fracasso da infecção (Liu, Uzonna, 2012).

Os macrófagos são células imunes fagocíticas que atuam na primeira linha de defesa contra patógenos invasores e realizam contatos intercelulares eficientes para desenvolver algumas funções relevantes e desencadear respostas imunes inatas e adaptativas rapidamente (Eugenín *et al*., 2003; Rodjakovic, Salm, Beldi, 2021).

Nesse sentido, a comunicação intercelular proporciona a interação entre células imunes para a transferência de diferentes moléculas contendo informações imunológicas (Neijssen, Pang, Neefjes, 2007). A proteína conexina 43 (Cx43) é uma proteína que forma os canais intercelulares de junção comunicante (GJICs) que compõe a junção comunicante (GJ), uma região especializada da membrana celular que possibilita a troca direta de informações entre células adjacentes (Rodjakovic, Salm, Beldi, 2021). A GJ constitui uma das principais vias de comunicação e interação entre as células vizinhas em contato (Qi *et al*., 2023; Rodríguez-Sinovas *et al*. 2021; Valbenito, Barreto, Eugenin, 2018).

Estudos anteriores indicaram a participação das GJs na comunicação entre as células do sistema imunológico e que diversos fatores podem influenciar a expressão dos canais juncionais, como a infecção por protozoários, os peptidoglicanos, o lipopolissacarídeo (LPS), o Fator de Necrose Tumoral – alfa (TNF-α) e Interferon - gama (IFN-γ) (de Carvalho *et al*., 2021; Eugenín *et al*., 2003; Handel *et al*., 2007; Valdebenito, Barreto, Eugenín, 2018).

Assim, neste trabalho, avaliamos o possível impacto da expressão das GJs na linhagem celular J774G.8, no microambiente da infecção por *Leishmania (Leishmania) amazonensis* nos períodos de 24h, 48h e 72h após o início da interação com o parasita. Compreender a modulação imunológica das GJs, formadas por Cx43, e a influência desses canais juncionais nas respostas imunes diante da infecção causada por *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, poderá lançar novas perspectivas de intervenções terapêuticas e medidas que visem reduzir a carga viral e a imunopatologia da leishmaniose, doença que afeta grande parte da população mundial.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Leishmaniose

2.1.1 Aspectos gerais da leishmaniose

A leishmaniose, uma doença tropical infecto-parasitária, é causada pelo protozoário flagelado do gênero *Leishmania* e transmitida por vetor para o homem e outros animais mamíferos, durante o repasto sanguíneo da fêmea infectada do flebotomíneo (Akhoundi *et al*., 2016; Dostálová, Volf, 2012; Kevric, Cappel, Keeling, 2015; Torres-Guerrero *et al*., 2017). A leishmaniose apresenta distribuição endêmica em regiões tropicais e subtropicais, afeta, principalmente, indivíduos da população menos favorecida com um elevado número de mortes, porém, é classificada como uma doença negligenciada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (Akhoundi *et al*., 2017; Alvar *et al*., 2012; OMS, 2020; Kevric, CappeL, Keeling, 2015). *Leishmania* spp. pertencem a ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae, e são microrganismos unicelulares heteroxênicos que alternam o ciclo de vida entre dois hospedeiros: o vertebrado mamífero e o invertebrado (Akhoundi *et al*., 2017; Gontijo, Carvalho, 2003; Torres-Guerrero *et al*., 2017). No hospedeiro vertebrado, vivem como parasita intracelular obrigatório e no invertebrado, colonizam o trato gastrointestinal do flebotomíneo (Akhoundi *et al*., 2016; Azami-Conesa, Gómez-Muñoz, Martínez-Díaz, 2020; Maxfield, Crane, 2023).

Os flebotomíneos pertencem à ordem Diptera, família Psychodidae, subfamília Phlebotominae e são vetores naturais da *Leishmania* spp. com ampla distribuição global, uma enorme variedade de espécies em todo mundo e com espécies do gênero *Phlebotomus* encontradas no Velho Mundo (VM), e do gênero *Lutzomyia* no Novo Mundo (NM) (Akhoundi *et al*., 2016; Azami-Conesa, Gómez-Muñoz, Martínez-Díaz, 2021; Gontijo, Carvalho, 2003). *Leishmania* spp., que pertencem aos subgêneros *Viannia* e *Leishmania*, são os protozoários responsáveis por causar a leishmaniose no homem e outros animais mamíferos (Gontijo, Carvalho, 2003; McGwire, Satoskar, 2014). Existem mais de vinte espécies patogênicas de *Leishmania* que provocam um amplo espectro de doenças nos humanos e que podem gerar graves problemas de saúde pública no Velho e Novo Mundo (Akhoundi *et al*., 2016; Goto, Lauletta Lindoso, 2012; Kevric, Cappel, Keeling, 2015; Reithinger *et al*., 2007; WHO, 2020). O Brasil

apresenta grande diversidade de espécies de *Leishmania* spp., de animais reservatórios e de vetores transmissores do parasita (BRASIL, 2017).

A existência de muitos vetores e de ambientes favoráveis para o desenvolvimento das várias espécies de *Leishmania* spp., além do amplo número de animais reservatórios e hospedeiros, que inclui o homem, classificam a leishmaniose como uma patologia zoonótica, antropozoonótica e, algumas vezes, antroponótica (Akhoundi *et al*., 2017; Kevric, Cappel, Keeling, 2015; Reithinger *et al*., 2007). A leishmaniose possui grande relevância, com importância e interesse médico e veterinário, por envolver o homem e os animais mamíferos, sejam domésticos ou silvestres e por causar doenças significativas com variado espectro de manifestações clínicas, que podem ser fatais em alguns casos, quando não tratados (Bahrami, Harandi, Rafati, 2018; Maroli *et al*., 2013). Em muitos países, existem diversas dificuldades para se obter dados com números precisos da incidência da doença (Kevric, Cappel, Keeling, 2015; OPAS, 2025).

A leishmaniose no NM recebe a denominação de leishmaniose tegumentar americana (LTA) quando envolve o tecido cutâneo ou o tecido cutâneo e mucoso, e de leishmaniose visceral americana (LVA), quando envolve órgãos como fígado e baço e medula óssea, e essas formas são causadas por numerosas espécies de *Leishmania* spp. (Andrade-Narvaez *et al*., 2016). As espécies de *Leishmania* spp., que pertencem aos subgêneros *Leishmania* e *Viannia* apresentam ampla distribuição em todo Brasil e a LTA possui maior ocorrência de casos (Bahrami, Harandi, Rafati, 2018; Espir *et al*., 2016). As apresentações clínicas da LTA encontradas no Brasil são as formas da: leishmaniose tegumentar ou cutânea (LT ou LC), leishmaniose mucocutânea (LMC), leishmaniose cutânea Difusa (LCD), leishmaniose disseminada (LD); além da LVA, que é uma forma de apresentação menos comum (Bahrami *et al*., 2018; Conceição-Silva, Alves, 2014; BRASIL, 2017).

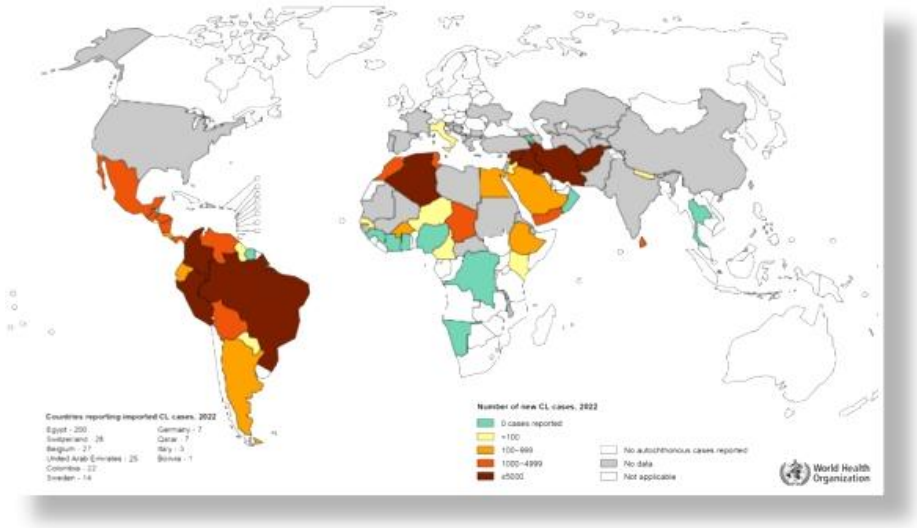
A *Leishmania (Leishmania) amazonensis* é um importante agente etiológico da LTA, entre as espécies encontradas no Brasil, por ter potencial para causar todas as formas clínicas da LTA e mais raramente, a LVA (Barral *et al*., 1991; BRASIL, 2017; de Oliveira *et al*., 2007). O parasita de *L. amazonensis* geralmente é encontrado nas regiões norte, nordeste, sudeste e centro-oeste, do Brasil e mais raramente na parte norte da região sul (BRASIL, 2017). De acordo com o Ministério da Saúde, BRASIL, (2017) vários fatores, como desmatamentos, alterações climáticas, urbanização da doença e construção de moradias próximas de áreas de mata, agravam e aumentam

o número de casos de LC. Nos países endêmicos, pessoas acometidas pela leishmaniose enfrentam diversas dificuldades que estão geralmente relacionadas com a precariedade dos sistemas de saúde, a falta de compromisso e implementação de políticas públicas de saúde mais eficazes por parte dos políticos e governantes para o controle da doença; o precário acesso aos serviços de saúde que dificulta o diagnóstico e tratamento; entre outras (Alvar *et al*., 2012; den Boer *et al*., 2011; Jagadesh *et al*., 2021; WHO, 2020).

Os registros e a existência de casos de leishmaniose parecem ser mencionados há milhares de anos atrás em diferentes regiões do mundo e demonstram a relevância histórica da leishmaniose (Maxifield, Crane, 2023). A abrangência da leishmaniose envolve, aproximadamente, mais de 98 países, com cerca de 600.000 a 1 milhão de novos casos que ocorrem em todo o mundo anualmente, mas apenas cerca de 200.000 são relatados à OMS, com milhões de pessoas em risco de contrair a infecção em todo o mundo (Alvar *et al*., 2012; Akhoundi *et al*., 2017; WHO, 2020). A LTA é uma afecção dermatológica que merece bastante atenção, devido à sua magnitude e risco da ocorrência de cicatrizes, que podem ser desfigurantes, o que causa importante acometimento psicológico ou até a morte do indivíduo afetado, além de gerar consequências socioeconômicas negativas (Bennis *et al*., 2017; BRASIL, 2017; Jaimes, 2022; WHO, 2020). A LTA e a LVA representam um importante problema de saúde pública nas Américas, onde encontram diversos fatores que elevam suas taxas de transmissão, o que coloca em risco um elevado número de pessoas para contraírem a doença (Andrade-Narvaez *et al*., 2016; Bahrami *et al*., 2018; Espir *et al*., 2016).

A leishmaniose ocupa o segundo lugar em mortalidade, entre as doenças parasitárias transmitidas por vetores, ficando atrás somente da malária, e em relação as doenças tropicais, ocupa o quarto lugar em morbidade (Bulstra *et al*., 2018). No entanto, apesar de ser um importante problema de saúde pública, ainda é considerada uma doença negligenciada (Menezes *et al*., 2016; Bulstra *et al*., 2018; Gebremichael, 2018). Crianças, adolescentes, homens de meia idade, indivíduos imunossuprimidos e desnutridos fazem parte do grupo de pessoas mais acometidos pela leishmaniose, além dos moradores de regiões endêmicas dos países em desenvolvimento, das regiões mais pobres e menos favorecidas, como áreas rurais remotas (Bulstra *et al*., 2018; WHO, 2020) (Figuras 1 e 2).

Figura 1 — Áreas endêmicas da leishmaniose cutânea (LC) no mundo



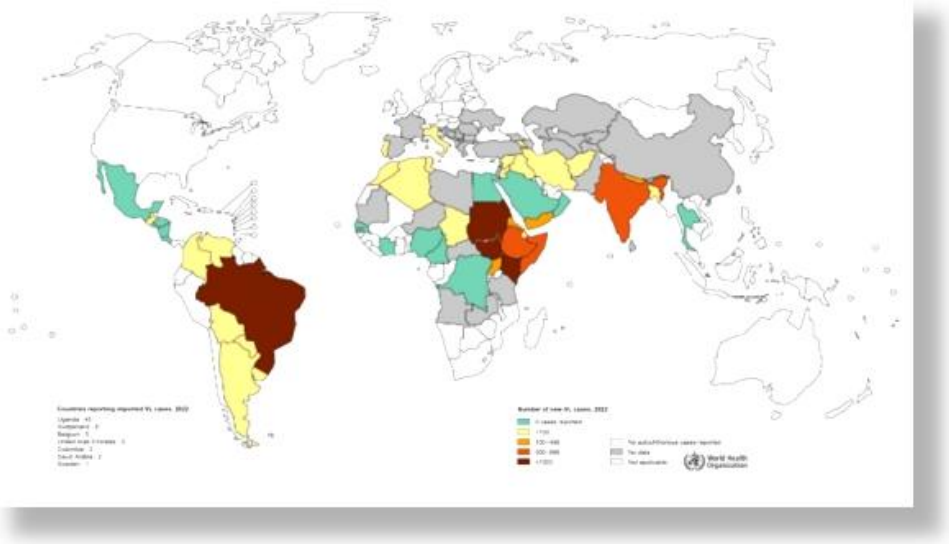
Legenda: **Países que notificaram casos importados de LC, 2022**: Egito – 200; Suíça – 28; Bélgica – 27; Emirados Árabes – 25; Colômbia – 22; Suécia – 14; Alemanha – 7; Catar – 7; Itália 3; Bolívia – 1.

Número de novos casos de LC, 2022:

- 0 casos relatados
- < 100
- 100-999
- 1000-4999
- ≥ 5000
- Nenhum caso autóctone
- Sem dados
- Não aplicado

Fonte: Organização Mundial de Saúde (OMS), controle de doenças tropicais negligenciadas (DTN), OMS, 2023

Figura 2 — Áreas endêmicas da leishmaniose visceral (LV) no mundo



Legenda: **Países que notificaram casos importados de LV, 2022**: Uganda – 45; Suíça – 8; Bélgica – 5; Emirados Árabes Unidos – 5; Colômbia – 3; Arábia Saudita – 2; Suécia – 1. **Número de novos casos de LV, 2022**:

- 0 casos relatados
- < 100
- 100-499
- 500-999
- ≥ 1000
- Nenhum caso autóctone relatado
- Sem dados
- Não aplicado

Fonte: Organização Mundial de Saúde (OMS), controle de doenças tropicais negligenciadas (DTN), OMS, 2023.

Vários fatores se relacionam com o elevado número de casos da leishmaniose como: a grande diversidade e dispersão do vetor nas várias regiões do mundo, que apresentam inúmeras espécies de flebotomíneos do gênero *Phlebotomus,* no VM, e *Lutzomyia* no NM; a proximidade de animais domésticos, por exemplo, cães ou gado, que podem funcionar como um reservatório não tratado e contribuir para a transmissão da doença; a elevada existência de espécies do gênero *Leishmania* nas regiões tropicais e subtropicais; os crescentes desmatamentos; as alterações climáticas; a migração populacional; guerras; crescentes turismos; entre outros (Akhoundi *et al*., 2016; Chagas *et al*., 2018; Jagadesh *et al*., 2021; Maroli *et al*., 2013; Torres-Guerrero *et al*., 2017). A leishmaniose é uma importante doença parasitária emergente e reemergente, ainda não controlada no mundo, que merece atenção em

relação a todos os fatores envolvidos (Alvar *et al*., 2012; Espir *et al*., 2016; Hassan *et al*., 2022; Torres-Guerrero *et al*., 2017).

2.1.2 Classificação da leishmaniose

A classificação da leishmaniose utiliza vários critérios, e o mais aceito considera a região geográfica em que a doença é adquirida, recebendo as denominações de leishmaniose do Velho Mundo e leishmaniose do Novo Mundo (Alvar *et al*., 2012; Kevric, Cappel, Keeling, 2015; Maxfield, Crane, 2023). No NM a LTA e LVA, possuem numerosas espécies de *Leishmania*, como de vetores flebotomíneos que podem respectivamente causar e transmitir a leishmaniose (Andrade-Narvaez *et al*., 2016; Conceição-Silva, Alves, 2014). No VM, a maioria das espécies de *Leishmania* spp. provoca uma doença cutânea benigna e no NM, as espécies do parasita apresentam um espectro de doenças, que vão desde pequenas lesões cutâneas até lesões mucosas graves (Conceição-Silva, Alves, 2014; Jaimes, 2022; Maroli *et al*., 2013; Schuwartz, Blum, 2006). A identificação e o estudo das múltiplas espécies e subespécies de *Leishmania* spp. é complexa, porém, essencial para se compreender os vários aspectos envolvidos na: imunopatogênese, epidemiologia, classificação, terapêutica adequada e na realização do manejo e controle da leishmaniose (Akhoundi *et al*., 2017; Patino *et al*., 2020; Ramírez *et al*., 2016; Santi, Murta, 2022; Usman *et al*., 2023).

Segundo Goto, Lindoso, (2010) as doenças no Velho e Novo Mundo compartilham características semelhantes, entretanto, as manifestações clínicas e severidade finais, são bastante diferentes. A expressão da leishmaniose se mostra bastante heterogênea em suas características básicas, no entanto, variam na apresentação clínica entre as diversas regiões endêmicas, inclusive, dentro da própria região endêmica, devido envolver múltiplos fatores como: o gênero, subgênero, espécie de *Leishmania* infectante, espécie do flebotomíneo, fatores imunológicos, resposta do hospedeiro ao processo infeccioso, quantidade de parasitas inoculada, entre outros (Akhoundi *et al*., 2016; Andrade-Narváez *et al*., 2016; Kevric, Cappel, Keeling, 2015; Machado *et al*., 2019; Murray *et al*., 2005) (Tabela 1).

Tabela 1 — Classificação da leishmaniose

Região	Complexo	Espécies	Formas de apresentações
Velho Mundo	*Leishmania donovani*	*L. donovani*	LC, LV, PKDL, LCM (rara)
		L. infantum	LC, LV, PKDL, LCM (rara)
		L. chagasi	LC, LV, PKDL, LCM (rara)
	Leishmania tropica	*L. tropica*	LC, LCM (rara), LV (rara), LRC
		L. major	LC, LCM (rara)
		L.aethiopica	LC, LCD
Novo Mundo	*Leishmania mexicana*	*L. mexicana*	LC, LCD (rara)
		L. amazonensis	LC, LCD, LCM, LD, LV (rara), PKDL (rara), LRC
		L.venezuelensis	LC, LCD (rara)
	Leishmania (Viannia) braziliensis	*L. brasiliensis*	LC, LCM, LD, LV
		L. guyanensis	LC, LCM
		L. panamensis	LC, LCM, LRC
		L. peruviana	LC

Legenda: Classificação da leishmaniose quanto à região geográfica de ocorrência da doença, ao complexo da espécie e subespécie do parasita e suas possíveis formas de apresentação. Em destaque a classificação da *Leishmania amazonensis,* o parasita de interesse e estudo desta pesquisa. Fonte: Quadro confeccionado conforme informações sobre a classificação da leishmaniose propostas em: Barral *et al*., 1991; Conceição-Silva, Alves, 2014; Goto, Lauletta Lindoso, 2012 e Kevric, Cappel, Keeling, 2015.

Neves (2020) classifica a leishmaniose de acordo com seus aspectos clínicos, patológicos e imunológicos. Desse modo, a leishmaniose pode ser classificada de acordo com o local e tipo de tecido afetado, sendo denominada de: leishmaniose cutânea ou tegumentar (LC ou LT), leishmaniose mucocutânea (LMC) e leishmaniose visceral ou calazar (LV) (Akhoundi *et al*., 2017; Azami-Conesa, Gómez-Muñoz, Martínez-Díaz, 2021; Kevric, Cappel, Keeling, 2015; Machado *et al*., 2019; Murray *et al*., 2005). Alvar *et al*., (2012) mencionam que o número de casos e a numerosa quantidade de espécies de *Leishmania* existentes afetam os tipos da doença encontradas nas regiões geográficas do Novo e do Velho Mundo e a maioria dos casos que encontrados possuem relação com as más condições de vida, pobreza e a desnutrição.

2.1.3 Manifestações clínicas da leishmaniose

A leishmaniose produz variações clínicas muito heterogêneas, vão desde uma forma subclínica ou assintomática até uma doença potencialmente fatal (Alexander, Maroli, 2003; Costa *et al*., 2023; Galluzzi *et al*., 2018; Gálvez *et al*., 2018; WHO, 2020).

Petididier *et al*., (2016) afirmam que o espectro de doenças causadas nos humanos pela *Leishmania* spp., podem ocasionar um caráter crônico, deformante, mutilante ou fatal. A apresentação clínica da leishmaniose depende de vários fatores, incluindo as espécies adquiridas, cepas e fatores de virulência, bem como características do hospedeiro, como idade, sexo, estado imunológico e nutricional do indivíduo e presença de agentes imunossupressores ou doenças autoimunes (Akhoundi *et al*., 2017; Akilov, Khachemoune, Hasan, 2007; Bern, Maguire, Alvar, 2008; Kevric, Cappel, Keeling, 2015; McGwire, Satoskar, 2014).

As principais formas clínicas de apresentação da leishmaniose são: a) Leishmaniose cutânea localizada (LCL), onde a manifestação mais comum é uma lesão cutânea típica e indolor, de tamanho variado, bordas delimitadas e elevadas e fundo granular, com lesões que podem ser únicas ou múltiplas; b) Leishmaniose disseminada (LD), que é uma variação da forma cutânea geralmente associada a indivíduos imunossuprimidos, com HIV, câncer, transplantados, ou com doenças autoimunes e que se caracteriza por múltiplas lesões polimórficas, principalmente, acneiformes e papulares, ou com lesões cutâneas ulceradas e que podem aparecer em duas ou mais áreas contíguas do corpo e até distantes do sítio de inoculação primário; c) Leishmaniose mucocutânea (LMC) possui manifestações com lesões inflamatórias que variam de pequenos nódulos cutâneos à destruição grosseira do tecido mucoso, que afeta a região cutânea e mucosa, e pode causar mutilação e desfiguração no indivíduo ou a morte; d) Leishmaniose cutânea difusa (LCD), a forma anérgica, que apresenta múltiplas lesões cutâneas pápulo-nodulares, não ulcerativas, porém, cheias de parasitas; e) Leishmaniose recidiva cútis (LR), um quadro decorrente de recidiva da LCL, que possui lesões papulares e vesiculares características e que aparecem dentro ou ao redor da ferida cicatrizada da LC, após um período de tempo variável de meses a anos; f) Leishmaniose visceral (LV), onde ocorrem alterações sistêmicas, que envolvem órgãos e sistemas como o baço, fígado e medula óssea, é uma forma grave da doença, que pode ser fatal, caso não for tratada; e a g) Leishmaniose dérmica pós-calazar (PKDL - *post-kalazar dermal leishmaniasis*) caracterizada por lesões cutâneas em todas as partes do corpo de um indivíduo saudável, com lesões de aspecto macular, maculopapular ou nodular hipopigmentada, que abrigam muitos parasitas, que persistiram do episódio anterior de LV, também, considerada uma complicação da LV, onde os indivíduos acometidos podem funcionar como reservatórios da doença (Bitencourt *et al*., 1993; BRASIL,

2017; Conceição-Silva, Alves, 2014; Conceição-Silva, Leite-Silva, Morgado, 2018; Jaimes, 2022; Garcia *et al*., 2025*;* Goto, Lauletta Lindoso, 2012; Kevric, Cappel, Keeling, 2015; Machado *et* al., 2019; Reithinger *et al*., 2007; Scorza, Carvalho, Wilson, 2017) (Figura 3).

Figura 3 — Lesões típicas das diversas formas clínicas da leishmaniose.

Legenda: Diversas apresentações clínicas da leishmaniose: **A -** Forma da leishmaniose cutânea (LCL), (Fonte: BRASIL, 2017). **B -** Forma da leishmaniose cutânea difusa (LCD), (Fonte: Governo de Santa Catarina, 2021 - Foto de J. Costa – CPqGM /FIOCRUZ / Bahia, p. 14). **C** - Forma da leishmaniose disseminada (LD), (Fonte: Conceição-Silva, Alves, 2014). **D** - Forma a leishmaniose mucocutânea (LMC), (Fonte: Goto, Lauletta Lindoso, 2012). **E** - Forma da leishmaniose visceral (LV), (Fonte: Costa, Costa, 2014). **F** - Forma recidiva cútis (LRC), (Fonte: Costa, Costa, 2014). **G** - Forma leishmaniose dérmica pós-calazar (PKDL), (Fonte: OMS, 2020).

Para Reithinger *et al*., (2007) o espectro clínico observado nos humanos indica a complexidade da epizootia da leishmaniose, em que várias cepas de *Leishmania* spp. podem causar doenças de amplo espectro, tendo muitas espécies de flebotomíneos implicadas como vetores e muitos mamíferos, como hospedeiros e reservatórios.

Segundo a OMS, (2020) a coinfecção pelo HIV representa uma das principais ameaças ao controle da leishmaniose, já que a infecção pelo HIV aumenta o risco de desenvolver a LV ativa, em decorrência do aparecimento de uma infecção oportunista associada ao HIV, principalmente, nas áreas em que a LV é endêmica e muitas pessoas apresentam a forma subclínica da leishmaniose. O desfecho mais comum da leishmaniose é a infecção assintomática, um estado subclínico da doença, que depende principalmente da resposta imune de cada indivíduo para combater a

virulência do parasita (Alikov *et al*., 2007; Andrade-Narvaez *et al*., 2016; Garcia *et al*., 2025*;* Schwartz *et al*., 2006).

Andrade-Narvaez *et al*., (2016) usam o termo de infecção assintomática em relação à LTA, apenas para se referir aos indivíduos residentes de áreas endêmicas da doença, que não apresentam sinais e sintomas, entretanto, possuem um teste cutâneo de Montenegro (MST) positivo. Ainda, existe pouco conhecimento em relação aos processos biológicos que possam explicar a ausência de sinais e sintomas na maioria dos casos assintomáticos e de outros casos apresentarem grande variedade de achados clínicos (Andrade-Narvaez *et al*., 2016).

Indivíduos que visitaram recentemente áreas endêmicas e que apresentam manifestações cutâneas ou em mucosas ou quadros clínicos sistêmicos compatíveis com a leishmaniose, devem realizar testes os diagnósticos (Blum, Hatz, 2009; Schwartz *et al*., 2006). Segundo Blum, Hatz, (2009) o uso de um protocolo padronizado, garante a avaliação do padrão da doença a fim de otimizar o tratamento em viajantes.

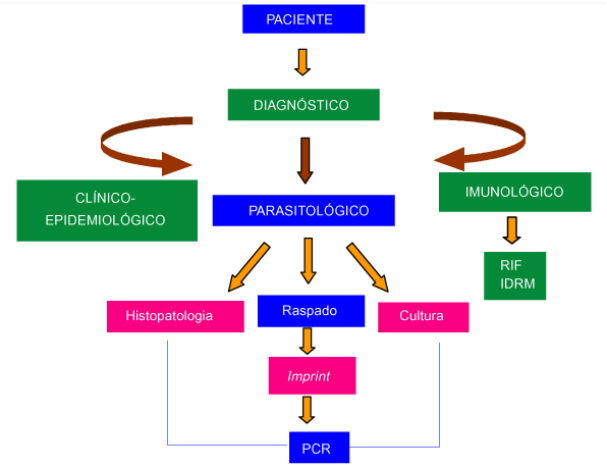
2.1.4 Diagnóstico da leishmaniose

O diagnóstico da leishmaniose é complicado pela própria patologia clínica da doença que é muito diversificada e que pode variar muito em seus quadros clínicos (Bern, Maguire, Alvar, 2008; Goto, Lindoso, 2010; Horrillo *et al*., 2015). Em geral, o diagnóstico de casos suspeitos de leishmaniose se baseia na exclusão de outras patologias que apresentam manifestações cutâneas crônicas semelhantes, onde se deve considerar o histórico de viagens do indivíduo para áreas endêmicas (David, Craft, 2009). Nos casos de diagnóstico inconclusivo, uma investigação deve ser realizada por outros métodos diagnósticos para a exclusão de outros quadros clínicos, já que um grande número patologias faz diagnóstico diferencial com a LTA e LV (Reithinger *et al*., 2007; David, Craft, 2009; BRASIL, 2017).

O diagnóstico da leishmaniose deve se basear em critérios clínicos e epidemiológicos, com a realização de: exames laboratoriais para pesquisar e identificar o parasita, por meio de pesquisa direta ou teste intradérmico chamado de Intradermoreação de Montenegro ou da *Leishmania* (IDRM); testes PCR; exames histopatológicos, entre outros (BRASIL, 2017; Akhoundi *et al*., 2016; Goto, Lindoso, 2010; Lederman *et al*., 2008). A FIOCRUZ (Fundação Oswaldo Cruz) e a OPAS

(Organização Pan-Americana da Saúde), padronizaram o diagnóstico molecular da leishmaniose cutânea nas Américas em novembro de 2023 com colaboração dos centros de pesquisas de seis países da América latina (FIOCRUZ, 2023) (Figura 4).

Figura 4 — Diagnóstico da leishmaniose



Legenda: O diagnóstico da leishmaniose tegumentar (LT) abrange aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais (pesquisa parasitológica e diagnóstico imunológico). Frequentemente a associação de alguns desses elementos é necessária para se chegar ao diagnóstico final. Fonte: Gontijo, Carvalho, 2003.

O diagnóstico precoce da leishmaniose leva ao tratamento adequado dos casos detectados com consequente redução na transmissão e complicações da doença (OPAS, 2019; WHO, 2023).

2.1.5 Prevenção e tratamento da leishmaniose

A prevenção da leishmaniose se baseia em relação aos métodos de controle de vetores, entretanto, algumas das medidas preventivas são pouco práticas e de difícil acesso para a maioria da população que reside nas áreas endêmicas, que são em maioria socioeconomicamente desfavorecida (Corman, McNamara, Bakowski, 2023; Davies *et al*., 2003). O desenvolvimento de vacinas contra a leishmaniose continua a evoluir, apesar dos diversos desafios encontrados para alcançar respostas imunes adequadas e que tenha validação para sua ampla utilização (Abdellahi *et al*., 2022; Davies *et al*., 2003; Kaye *et al*., 2021; Romero, Boelaert, 2010).

O tratamento da leishmaniose com os antimoniais pentavalentes é o fundamento da terapêutica medicamentosa, além da anfotericina B, o isetionato de

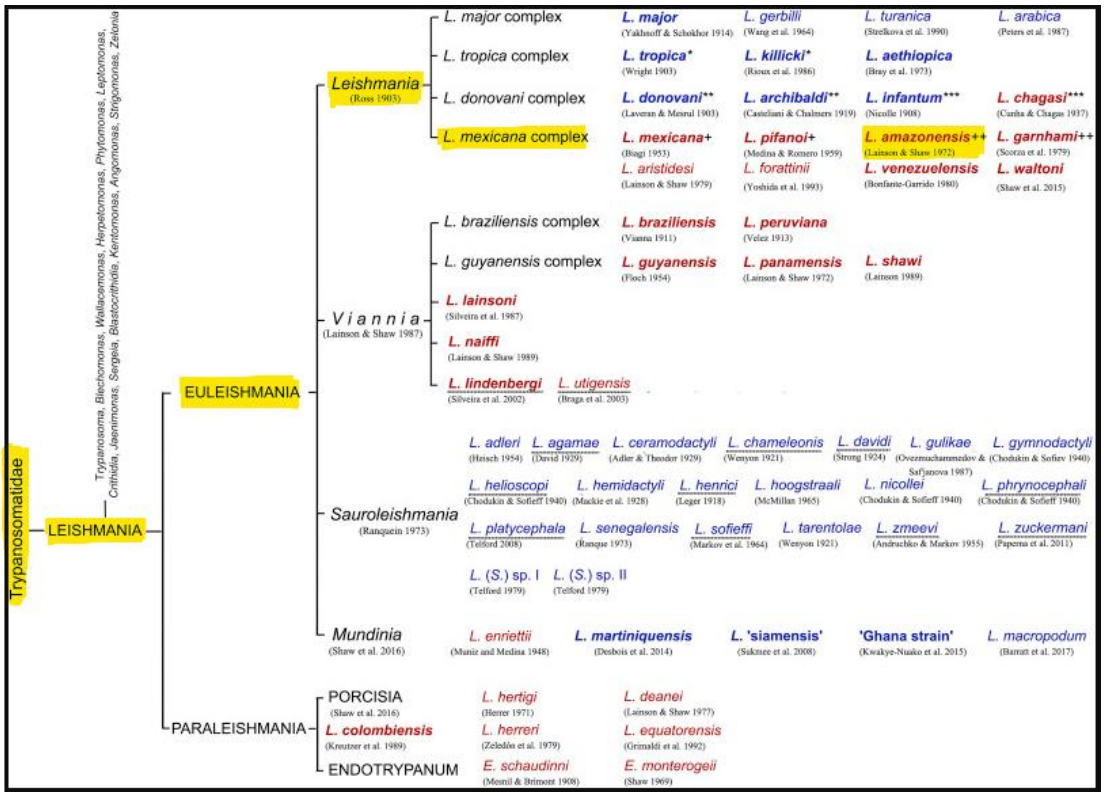
pentamidina e a miltefosina, enquanto novas alternativas de tratamento estão em pesquisas (Brahim *et al*., 2017; Torres-Guerrero *et al*., 2017; OPAS, 2024). Porém, a resistência medicamentosa é um grave problema encontrado, devido a ocorrência de mutações genéticas que fazem diminuir a resposta do parasita a determinada droga (Ponte-Sucre *et al*., 2017). Além disso, existem várias limitações no tratamento da leishmaniose que envolvem as medicações anti-*Leishmania* que são utilizadas há décadas, devido envolver: toxicidade, efeitos colaterais graves, custo elevado, longos regimes de tratamento e resistência emergente a várias drogas (Corman, McNamara, Bakowski, 2023). Para Pinart *et al*., (2020) a escolha do tratamento contra a leishmaniose depende de fatores como a forma clínica, eficácia, esquema terapêutico, toxicidade, custo e aceitabilidade pelo paciente. A OPAS apoia os países endêmicos implementando ações que objetivam eliminar as leishmanioses enquanto problema de saúde pública, através do acesso ao diagnóstico precoce, tratamento adequado dos casos e implementação de medidas que possam diminuir o contato das pessoas com os vetores, visando reduzir a morbimortalidade na transmissão da leishmaniose (OPAS, 2024; WHO, 2020).

2.2 *Leishmania* spp.

Leishmania spp., são protozoários parasitas obrigatórios capazes de infectar os humanos, animais domésticos ou silvestres, além dos flebotomíneos, o vetor responsável pela transmissão do parasita para os hospedeiros vertebrados, durante o repasto sanguíneo (Akhoundi *et al*., 2016; Dostálová, Volf, 2012; Wheeler, Sunter, Gull, 2016). O parasita de *Leishmania* foi descrito pela primeira vez em 1903, por Leishman e por Donovan, quase que simultaneamente na mesma época (Herwaldt, 1999). Lainson e Shaw descreveram *L.* (*L.*) *amazonensis* em 1972 quando em estudos realizados observaram grandes amastigotas em roedores, que são os principais reservatórios selvagens do parasita no Brasil (Garcia *et al*., 2025). Os roedores, gambás e as preguiças, são os reservatórios de *Leishmania (L.) amazonensis* e os humanos são hospedeiros acidentais (Cecílio, Cordeiro-da-Silva, Oliveira, 2022; Garcia et al., 2025).

A estrutura taxonômica do gênero *Leishmania*, inclui os subgêneros *Leishmania* e *Viannia* e os complexos de espécies e subespécies (Akhoundi *et al*., 2017; Bates, 2007) (Figura 5).

Figura 5 — Classificação das espécies de *Leishmania* spp.



Legenda: As espécies patogênicas para os humanos estão escritas em negrito. As espécies do Velho e Novo Mundo são destacadas em azul e vermelho, respectivamente. A classificação taxonômica da *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, espécie de estudo desta pesquisa, encontra-se destacada na cor amarela. Fonte: Akhoundi *et al*., 2017.

Leishmania spp. são um gênero de protozoários flagelados que possuem uma massa característica de DNA extranuclear chamada cinetoplasto, que pertencem a uma família heterogênea de 54 espécies, sendo 21 infecciosas para os humanos (Akhoundi *et al*., 2016; Akhoundi *et al*., 2017; Palatnik-de-Sousa, Dia, 2011; Shapiro, Englund, 1995; Vizcaíno-Castillo *et al*., 2020).

O ciclo de vida dos parasitas de *Leishmania é* heteroxeno, uma vez que envolve dois hospedeiros: o invertebrado, que é a fêmea do flebotomíneo e o mamífero, que pode ser o homem ou outro animal doméstico ou silvestre (Corman, McNamara, Bakowski, 2023; Garcia *et al*., 2025; McConville *et al*., 2007; Nation *et al*., 2023). A alternância entre o hospedeiro invertebrado e o hospedeiro vertebrado compreende mudanças ambientais muito drásticas que submetem o parasita de *Leishmania* a sofrer modificações dinâmicas na sua morfologia, metabolismo, sinalização celular e regulação da expressão gênica para permitir sua adaptação em cada nova condição

enfrentada (Bates, 2007; Findlay *et al*., 2021; Gossage, Rogers, Bates, 2003; Ramalho-Ortigão, Saraiva, Silva *et al*., 2021; Traub-Csekö, 2010).

O estágio extracelular ocorre no trato digestivo da fêmea do flebotomíneo, e o parasita possui a forma chamada de promastigota, que é flagelada, móvel e com alguns estágios de fases proliferativas (Bates, 2007; Bates, 2008; Ramalho-Ortigão, Saraiva, Traub-Csekö, 2010). A forma amastigota é o estágio intracelular obrigatório que ocorre no hospedeiro vertebrado mamífero e por possuir um flagelo muito curto, não exteriorizado, não apresenta mobilidade, porém é uma forma proliferativa (Bates, 2008; Burchmore, Barrett, 2001; Landfear, 2011; Naderer, McConville, 2008; Teixeira *et al*., 2013).

O gênero *Leishmania*, dos subgêneros *Leishmania* e *Viannia* que parasitam os mamíferos, exibem grande distribuição geográfica nas áreas tropicais e subtropicais e apresentam grande número de espécies, com diversos reservatórios e vetores localizados em ambientes silvestres ou peridomésticos (Akhoundi *et al*., 2016: Alvar *et al*., 2012). Entretanto, cada espécie do parasita de *Leishmania* é transportada por espécies específicas de flebotomíneos (Parsons *et al*, 2005).

As numerosas espécies de *Leishmania* que encontramos no Novo Mundo, principalmente na América Latina, pertencem aos subgêneros *Leishmania* e *Viannia e a Leishmania (Viannia) braziliensis* é a espécie mais prevalente, seguida pela *Leishmania (Leishmania) amazonensis, Leishmania (Viannia) guyanensis* e *Leishmania (Viannia) panamensis,* entre outras espécies que estão presentes principalmente na Amazônia e América Central (Lindoso *et al*., 2014). No Brasil, o flebotomíneo *Lutzomyia (Nyssomyia) flaviscutellata* é o vetor mais importante que é responsável pela transmissão da espécie *Leishmania (L) amazonensis* (Lainson, 2010; BRASIL, 2017; Piscopo, Mallia, 2006).

As infecções causadas por *Leishmania* spp., possuem um amplo espectro de manifestações clínicas e o resultado da doença é determinado por muitos fatores, como as complexas interações entre o parasita-hospedeiro, que envolvem as propriedades do parasita, sua infectividade, patogenicidade, virulência e variedades de espécies, a espécie do vetor transmissor; a região endêmica de ocorrência da doença, e as características imunológicas do hospedeiro mamífero (Conceição-Silva, Leite-Silva, Morgado, 2018; Weigle, Saraiva, 1996).

Leishmania spp. tem a capacidade de manipular o sistema imune do hospedeiro vertebrado a seu favor, fato que ocorreu ao longo de um processo co-

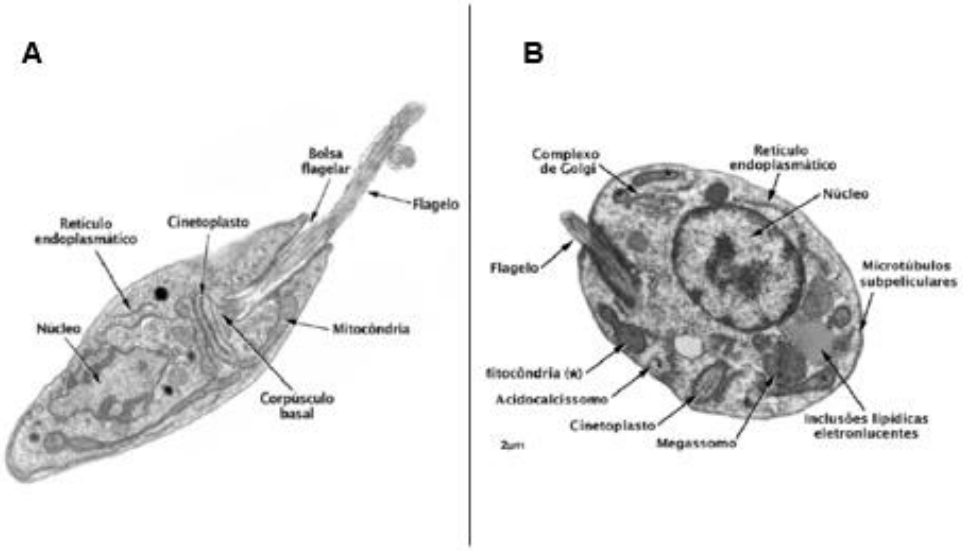
evolutivo entre o parasito e o hospedeiro e o sucesso dessa interação, influencia na alta prevalência de casos da leishmaniose (Lestinova *et al*., 2017). A compreensão e estudos sobre a interação do parasita com o hospedeiro mamífero, proporcionam a obtenção de conhecimentos sobre o estabelecimento, sobrevivência e persistência, do parasita no hospedeiro vertebrado, fator que é de grande importância para o entendimento e controle da infecção (Kaye, Scott, 2011).

2.2.1 Aspectos celulares básicos da *Leishmania* spp.

Os parasitas do gênero *Leishmania* exibem variadas morfologias que são adaptadas aos diferentes estágios de desenvolvimento nos hospedeiros mamíferos e inseto vetor, o que reflete o ciclo de vida complexo e variável de acordo com a espécie e hospedeiro (Sunter, Gull, 2017). *Leishmania* spp., que pertencem a ordem Kinetoplastida, apresenta diversas organelas semelhantes às células eucarióticas, e outras comuns aos parasitas da família dos Trypanosomatídeos. A organela característica chamada de cinetoplasto, abriga uma massa de DNA, e outra extranuclear encontra-se concentrada na única mitocôndria deste protista, chamado de kDNA (Moreira *et al*., 2004). *Leishmania* spp. também possuem, algumas organelas peculiares como megassomos, acidocalcissomos, glicossomos (Teixeira *et al*., 2013). De acordo com Garcia et al., (2025), os megassomos são grandes lisossomos que ocorrem no estágio amastigota de espécies do complexo *Leishmania mexicana*, como a *Leishmania (L.) amazonensis*.

Os parasitas de *Leishmania* spp., como muitos eucariotos unicelulares, possuem uma organização interna bem definida e única e que se reproduz com grande fidelidade a cada geração (Halliday *et al*., 2019; Lacomble *et al*, 2009). As formas celulares dos cinetoplastídeos de *Leishmania* spp. sofrem mudanças durante seu ciclo de vida e a variação ocorre de acordo com os diversos ambientes de seus hospedeiros, tanto no vertebrado mamífero, como no inseto vetor (Bates, 2007; Haanstra *et al*., 2016). As diferenças que ocorrem se relacionam com as interações que o parasita realiza com seus hospedeiros, fato muito importante para uma transferência bem-sucedida (Gull, 2001) (Figura 6).

Figura 6 — Formas de apresentação da *Leishmania (Leishmania) amazonensis*



Legenda: **A** - Micrografia eletrônica da forma promastigota metacíclico de *L. amazonensis* observada no microscópio eletrônico de transmissão (Imagem de J. Rodrigues e W. de Souza). **B** - Micrografia da forma amastigota observada no microscópio eletrônico de transmissão (Imagem de J. Godinho e J. Rodrigues). Fonte: Teixeira *et al*., 2013.

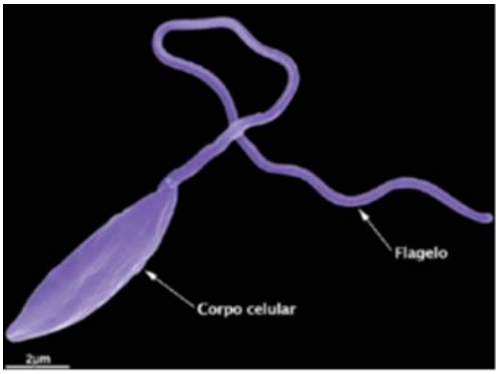
Segundo Flegontov *et al*., (2013) a *Leishmania* spp. surgiu de um ancestral com uma morfologia, provavelmente, parecida com a forma promastigota do parasita de *Leishmania*. A forma promastigota de *Leishmania*, caracteriza-se por ser uma célula ovóide, com único flagelo que se projeta na parte anterior da membrana flagelar, uma região chamada de bolsa flagelar que se constitui como ponto central muito importante para a morfogênese do parasita, como para a endocitose de nutrientes (SILVA, C. G. *et al.*, 2020). Todas as características apresentadas pelo parasita, mostram as similaridades entre as diversas espécies do gênero *Leishmania*. (Lacomble *et al*, 2009). As diferenças morfológicas apresentadas pelo protozoário *Leishmania* spp., são específicas e fundamentais para uma transferência bem-sucedida do parasita (Gull, 2001).

2.2.2 *Leishmania (Leishmania) amazonensis*

O parasita *L. amazonensis* é um agente etiológico que tem capacidade de causar todas as formas da LTA, como os casos de leishmaniose cutânea localizada (LCL), leishmaniose disseminada (LD), leishmaniose cutânea-difusa (LCD),

leishmaniose cutânea-mucosa ou mucocutânea (LCM) e alguns raros casos da leishmaniose visceral (LV) (Aleixo *et al*., 2006; Gontijo, Carvalho, 2003; Lainson, 2010). *L. amazonensis* apresenta habilidades incríveis para induzir a patogênese da leishmaniose, e produz uma infecção que geralmente depende da característica e do tipo da resposta imune do hospedeiro (Garcia *et al*., 2025; Scorza, Carvalho, Wilson, 2017; Scott, Novais, 2016) (Figura 7).

Figura 7 — *Leishmania (Leishmania) amazonensis*



Legenda: Micrografia da forma promastigota de *Leishmania (L.) amazonensis* observada no microscópio eletrônico de varredura. Fonte: Teixeira *et al*., 2013.

A *Leishmania (L.) amazonensis* (*L. amazonensis*) é encontrada no Novo Mundo e faz parte do complexo *Leishmania mexicana,* um complexo que apresentam interações bastante complexas entre o parasita e hospedeiro, além de possuir habilidades para induzir a patogênese nas diversas formas da leishmaniose (Scorza, Carvalho, Wilson, 2017).

L. amazonensis é uma espécie importante e endêmica no Brasil, que é encontrada principalmente em florestas úmidas, como a bacia do rio Amazonas, na Venezuela, Colômbia, Bolívia e Peru (Carvalho *et al*., 2015; Garcia *et al*., 2025; Osório Y Fórtea *et al*., 2007). No Brasil, a forma da leishmaniose cutânea difusa (LCD) causada por *L. amazonensis* possui registros de casos nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste (Carvalho *et al*., 2015).

Segundo Carvalho *et al*., (2015) *Lutzomyia (Nyssomyia) flaviscutellata (Lu. Flaviscutellata) é a* espécie de vetor incriminada por transmitir a *L. amazonensis* e que sofre bastante influência das mudanças climáticas, principalmente pela precipitação sazonal. O flebotomíneo *Lu. flaviscutellata*, pertence ao gênero do complexo *flaviscutellata* é caracterizada por ser uma espécie pouco antropofílica, o que acarreta

numa menor frequência na incidência da infecção humana causada por *L. amazonensis* (Rangel, Lainson, 2003; BRASIL, 2017). De acordo com Garcia *et al*., (2025) os parasitas de *L. amazonensis* são transmitidos através das picadas de flebotomíneos naturalmente infectados (Diptera: Psychodidae), que são amplamente distribuído na região amazônica e outros estados brasileiros. Os flebotomíneos, geralmente são afetados pela presença do protozoário e a coevolução parasitária bem-sucedida proporcionou que a *Leishmania* spp. consiga manipular seus vetores em benefício próprio, o que representa grandes desafios na transmissão da leishmaniose (Akhoundi *et al*., 2016; Matthews, 2011).

2.2.3 O ciclo de vida da *Leishmania (Leishmania) amazonensis*

O ciclo de vida da *L. amazonensis* se inicia quando a fêmea infectada do flebotomíneo regurgita na derme do hospedeiro vertebrado as formas promastigotas metacíclicos na lesão tecidual provocada por partes bucais do inseto vetor, durante o repasto sanguíneo (Bates, 2007; Corman, McNamara, Bakowski, 2023; Ramalho-Ortigão, Saraiva, Traub-Csekö, 2010).

Os promastigotas metacíclicos do parasita de *Leishmania* são as formas infecciosas para o hospedeiro mamífero (Burchmore, Barrett, 2001; Gossage, Rogers, Bates, 2003; Naderer, McConville, 2008). A fêmea infectada do flebotomíneo, antes de realizar a hematofagia, regurgita as formas infecciosas de promastigotas metacíclicas juntamente com sua saliva, que contém moléculas anticoagulantes e imunomoduladoras (Assis *et al*., 2021; Rogers, 2012). A saliva do flebotomíneo constitui um fator específico do vetor que auxilia e influencia no sucesso e resultado da infecção no hospedeiro mamífero (Costa-da-Silva *et al*., 2022; Goonoo *et al*., 2022; Kevric, Cappel, Keeling, 2015; Rogers, 2012).

A presença de determinadas substâncias na saliva do vetor acarreta ações que facilitam o processo infeccioso no hospedeiro vertebrado, como o maxadilan, que possui ação anti-hemostática e facilita a realização da hematofagia pela fêmea do flebotomíneo, na pequena hemorragia que se forma no local da picada pela fêmea do flebotomíneo (Torres-Guerrero *et al*., 2017). Além disso, a saliva do flebotomíneo possui outras substâncias imunomoduladoras que produzem reações inflamatórias no local da picada, que induzem uma rápida infiltração das células de defesa do hospedeiro mamífero, como neutrófilos e macrófagos, fato que favorece a entrada do

parasita nas células fagocíticas, principalmente no macrófago, a célula alvo do parasita no hospedeiro mamífero (Courtenay *et al*., 2017; Gomes, Oliveira, 2012; Handman, Bullen, 2002; Sharma, Singh, 2009; Turco, Descoteaux, 1992).

Os parasitos de *Leishmania* podem ser internalizados por diversas células fagocíticas e não fagocíticas, porém, possuem tropismo pelos macrófagos (Teixeira *et al*., 2013; Podinovskaia, Descoteaux, 2015; Liévin-Le Moal, Loiseau, 2016). O macrófago interage rapidamente com o promastigota metacíclico ao utilizar diversos receptores especializados presentes em sua superfície celular que interagem com os receptores de superfície do parasita, que são ligantes complementares e correspondentes (Naderer, McConville, 2008; Serafin, 2018; Teixeira *et al*., 2013; Ueno, Wilson, 2012). As formas promastigotas metacíclicos infecciosas, depositadas pela fêmea do flebotomíneo no local da picada, existem transitoriamente no hospedeiro mamífero, até que o parasita possa entrar em sua célula hospedeira e se diferenciar no estágio de amastigota do seu ciclo de vida (Teixeira *et al*., 2013). A transformação do promastigota metacíclico de *L. amazonensis* para a forma amastigota acontece logo após ser fagocitado e estar no vacúolo parasitóforo (VP) (Carneiro, Peters, 2021). O fagossomo que abriga o parasita no interior do macrófago, adquire características de fagolisossomo (Carneiro, Peters, 2021; Courret *et al.,* 2002; Stuart *et al*., 2008). Dentro do macrófago, os parasitos de *L. amazonensis* no VP, conseguem viver isolados das várias condições estressantes do sistema imune e das mudanças ambientais do hospedeiro mamífero (Podinovskaia, Descoteaux, 2015; Young, Kima, 2019).

No interior dos grandes, espaçosos e comunitários VP, os parasitas de *L. amazonensis* encontram-se distribuídos de forma específica, em que alguns se encontram fixados junto à membrana do vacúolo fagocítico e outros permanecem livres no seu interior (Benchimol, de Souza, 1981; Carneiro, Peters, 2021; Ndjamen *et al*., 2010). Dessa forma, *L. amazonensis* constrói um nicho vacuolar comunitário e enorme no VP do macrófago, onde sofre a diferenciação morfológica e funcional para o estágio amastigota, que são formas bem mais adaptadas para viver no inóspito ambiente fagolisossomal do macrófago (Cojean, Nicolas, Lievin-Le Moal, 2020).

O parasita de *Leishmania* desenvolveu diversas estratégias para superar o ambiente intracelular hostil do macrófago e, apesar de ser um inóspito o ambiente fagolisossomal, conseguem encontrar condições para adquirir nutrientes necessários ao seu crescimento, sobrevivência e replicação por divisão binária longitudinal

(Cojean, Nicolas, Lievin-Le Moal, 2020; Garcia *et al*., 2025; Gupta *et al*., 2022; Peters *et al*., 2008; Teixeira *et al*., 2013). A desativação do mecanismo microbicida dos macrófagos, está relacionada à influência e ação de fatores de virulência presentes no parasita, que interferem na composição e nas propriedades dos fagossomas, o que auxilia o estabelecimento do parasita na célula hospedeira (Desjardins, Descoteaux, 1997; Uribe-Querol, Rosales, 2017).

O microambiente do fagolisossoma do macrófago, que abriga a *L. amazonensis*, é rico em aminoácidos, possui um pH baixo e se constitui num grande desafio para a sobrevivência de parasitas (Carneiro, Peters, 2021). No entanto, as formas amastigotas possuem características únicas que permitem sua adaptação para enfrentar o os desafios do microambiente no fagolisossoma do macrófago e conseguem sobreviver, realizar sua nutrição, metabolismo e reprodução (Arango Duque, Descoteaux, 2015; McConville *et al*., 2007; Osório Y Fortéa *et al*., 2007).

Os macrófagos fornecem um nicho seguro e importante que permite ao parasita da *Leishmania* estabelecer a infecção e persistir dentro do hospedeiro, ao proporcionar um local propício à replicação do amastigota e para permitir que o parasita possa se evadir da resposta imune desencadeada pelo sistema imune do hospedeiro mamífero (Carneiro, Peters, 2021; Peters, Sacks, 2009; Teixeira *et al*., 2013). Entretanto, com a intensa multiplicação dos amastigotas no interior do VP, o macrófago acaba por se romper, liberando as formas amastigotas que são altamente infecciosas, e que logo são captadas por outros macrófagos, fato que contribui com a progressão da infecção no hospedeiro mamífero (Real, Mortara, Rabinovitch, 2010; Teixeira *et al*., 2013).

Ueno, Wilson, (2012) mencionam que as possíveis e variadas rotas de ligação para a entrada de amastigota nos macrófagos geram implicações, que ainda não estão bem definidas e esclarecidas, no entanto, afirmam que os fatores de virulência da *Leishmania* que são regulados rigorosamente durante o ciclo de vida concedem ao parasita a habilidade de selecionar rotas estáveis e iniciar uma bem-sucedida invasão em novos macrófagos. Dessa forma, os amastigotas podem realizar a infecção progressiva no hospedeiro vertebrado para recomeçar o ciclo ao infectar novos macrófagos, ou podem ser ingeridos pela fêmea do flebotomíneo, durante o repasto sanguíneo e, assim, realizar a outra etapa do ciclo de vida no inseto vetor (Teixeira *et al*., 2013).

O ciclo de vida da *Leishmania* no hospedeiro invertebrado, se inicia quando a fêmea do flebotomíneo, durante o repasto sanguíneo, suga o sangue de um mamífero infectado com as formas amastigotas de *Leishmania*, juntamente com outras células sanguíneas (Stuart *et al*., 2008; Teixeira *et al*., 2013). O sangue ingerido pela fêmea do flebotomíneo com os amastigotas de *Leishmania amazonensis* são envolvidos por uma membrana chamada de matriz peritrófica (MP) e transportado para o meio de intestino médio do inseto vetor (Lehane, 1997; Pimenta *et al*., 1997; Ramalho-Ortigão, Saraiva, Traub-Csekö, 2010; Secundino *et al*., 2005). A MP que envolve o bolo alimentar, formado pelo sangue e os parasitas de *L. amazonensis* que foram ingeridos pela fêmea do flebotomíneo, fornece proteção contra a ação das enzimas digestivas presentes no trato digestivo do inseto vetor (Lehane, 1997; Pimenta *et al*., 1997; Secundino *et al*., 2005).

No inseto vetor, o parasita sofrerá várias transformações morfológicas para favorecer sua adaptação às rápidas mudanças ambientais, como a queda de temperatura, aumento do pH, e o escape dos mecanismos imunológicos do flebotomíneo (Bates, Rogers, 2004; Dostálová, Volf, 2012; Kamhawi, 2006; Matthews, 2011). Durante o processo de transformação morfológica no trato gastrointestinal do flebotomíneo produz o desenvolvimento de variadas formas de estágios do seu ciclo de vida no vetor, porém todas são formas extracelulares (Osório Y Fortéa *et al*., 2007). Segundo, Coutinho-Abreu *et al*., (2020) todos os estágios do parasita no inseto vetor são distintos morfologicamente e apresentam variados graus transcricionais.

A primeira mudança no estágio morfológico do parasita, é a transformação das formas amastigotas para as formas de promastigotas pró-cíclicas, que se caracteriza por um flagelo que se estende rapidamente (Alcolea *et al*., 2019; Dostálová, Volf, 2012). A forma promastigota pró-cíclica é multiplicativa e se replica por divisão binária, possui motilidade parcial e diferenciada, tendo um flagelo localizado na parte anterior, esse fator possui possivelmente uma função sensorial, que é importante para ajudar o parasita a monitorar o ambiente, durante seu desenvolvimento (Dostálová, Volf, 2012; Matthews, 2011). Posteriormente, há uma diminuição na taxa de replicação da forma promastigota pró-cíclica e ocorre sua diferenciação para o estágio de promastigotas nectomonadas, que são formas maiores, mais delgadas, longas, com grande mobilidade e são responsáveis por um estágio migratório não-divisor, que se acumulam na extremidade anterior da MP (Cecílio, Cordeiro-da-Silva, Oliveira, 2022; Gossage, Rogers, Bates, 2003; Ramalho-Ortigão, Saraiva, Traub-Csekö, 2010).

Nesse momento, a MP começa a se desintegrar na parte anterior do trato digestivo, e permite a saída dos parasitas para o lúmen do intestino médio (Dostálová, Volf, 2012; Rogers, Chance, Bates, 2002).

Os promastigotas nectomonados, ao saírem da MP inserem seus flagelos entre nas microvilosidades epiteliais do intestino médio onde se ligam para não serem eliminados juntos com o conteúdo estomacal, conforme acontece os parasitas que não conseguem fixação junto ao epitélio intestinal (Bates, 2007). Em seguida, os promastigotas nectomonadas iniciam a migração em direção ao intestino anterior e sofrem nova transformação morfológica para o estágio de promastigotas leptomonadas (Alcolea *et al*., 2019; Bates, 2007; Sunter, Gull, 2017). Os promastigotas leptomonadas são um estágio do ciclo de vida que possuem formas mais curtas e que se concentram na região da válvula estomodeal, que fica na região do intestino anterior, onde novamente realizam a replicação por fissão binária (Alcolea *et al*., 2019; Bates, 2007; Dostálová, Volf, 2012; Gossage, Rogers, Bates, 2003; Kamhawi, 2006). Os promastigotas leptomonadas tem um papel importante na produção do gel secretor do promastigota (PSG), e que ao se acumular no intestino médio torácico provoca uma obstrução, que leva a fêmea do flebotomíneo a regurgitar e eliminar a secreção de PSG juntamente com as formas infecciosas do parasita e outras moléculas no local da picada, momentos antes do início da hematofagia, fato que pode contribuir para exacerbar a infecção cutânea e visceral no hospedeiro mamífero (Bates, 2007; Cecílio, Cordeiro-da-Silva, Oliveira, 2022; Dostálová, Volf, 2012; Giraud *et al*., 2019; Lestinova *et al*., 2017; Ramalho-Ortigão, Saraiva, Traub-Csekö, 2010; Volf *et al*., 2004).

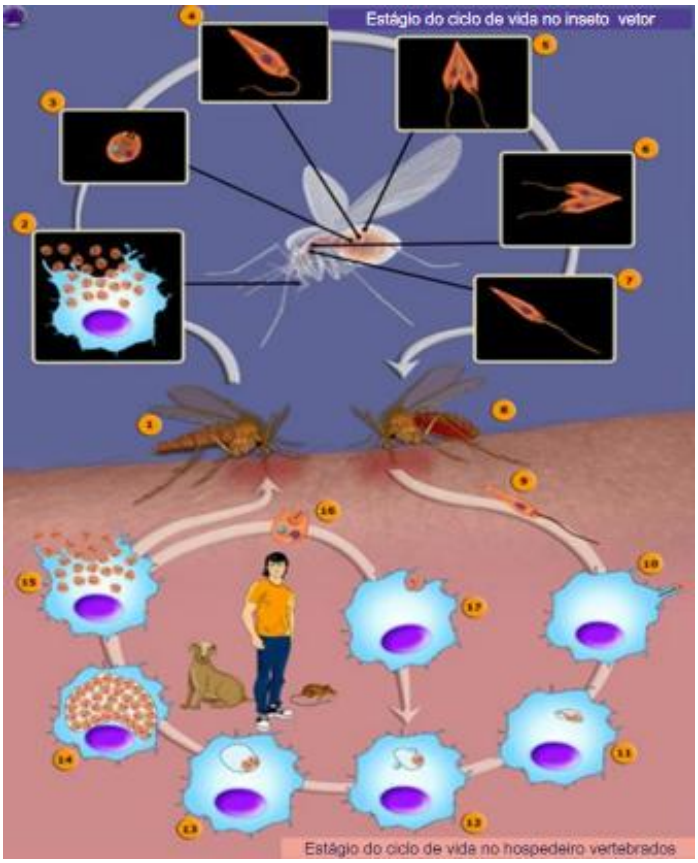
As formas promastigotas leptomonadas dão origem tanto as formas promastigotas haptomonadas, que danificam a válvula estomodeal, como originam as formas promastigotas metacíclicos, que são as formas infectantes do parasita para o hospedeiro mamífero (Dostálová, Volf, 2012; Cecílio, Cordeiro-da-Silva, Oliveira, 2022; Sacks, Kamhawi, 2001; Sunter, Gull, 2017). As formas haptomonadas são semelhantes a pequenas folhas, e caracterizadas por um flagelo reduzido e uma ponta flagelar alargada, que proporcionam sua adesão ao epitélio intestinal anterior torácico e sua fixação na válvula estomodeal (Cecílio, Cordeiro-da-Silva, Oliveira, 2022; Dostálová, Volf, 2012; Ramalho-Ortigão, Saraiva, Traub-Csekö, 2010; Sunter, Gull, 2017). As promastigotas haptomonadas não possuem um papel totalmente esclarecido, sabe-se que secretam quitinase, uma substância semelhante a um gel

que contém proteofosfoglicanos que comprometem a função da válvula estomodeal, o que auxilia no regurgitamento da fêmea do flebotomíneo, durante o repasto sanguíneo (Bates, 2007; Cecílio, Cordeiro-da-Silva, Oliveira, 2022; Dostálová, Volf, 2012; Sunter, Gull, 2017).

A transformação da forma leptomonada para a forma promastigota metacíclico ocorre na região do intestino anterior toráxico próximo à válvula estomodeal (Alcolea *et al*., 2019; Bates, 2007; Rogers, Chance, Bates, 2002). As formas promastigotas metacíclicos possuem o corpo celular menor e um flagelo mais longo para facilitar sua rápida motilidade, porém não são formas replicativas (Dostálová, Volf, 2012; Ramalho-Ortigão, Saraiva, Traub-Csekö, 2010; Sacks, Kamhawi, 2001). Os promastigotas metacíclicos são diferenciados através da sua morfologia e alta infectividade (Alcolea *et al*., 2019). Todo o deslocamento do parasita do intestino médio e a migração para o trato digestivo anterior, com a colonização da válvula estomodeal até a transformação do promastigota leptomonados no estágio de promastigotas metacíclico, são etapas essenciais que ajudam garantir o processo de transmissão da *Leishmania* para iniciar um novo ciclo de vida do parasito ao hospedeiro mamífero (Bates, 2007; Kamhawi, 2006; Dostálová e Volf, 2012).

O ciclo de vida da *Leishmania* apresenta um processo fundamentalmente ligado à morfologia e a organização celular, que ocorrem de modo específico, sendo regulado com precisão, entretanto, apesar da morfologia das espécies de *Leishmania* sp. apresentar níveis de complexidades e diferenças, o parasita possui uma extraordinária conservação da forma à medida que progridem ao longo do seu ciclo de vida (Matthews, 2011; Sunter, Gull, 2017). De acordo com Matthews (2011) o conhecimento e a melhor compreensão sobre a adaptação da *Leishmania* aos ambientes que enfrentam durante o ciclo de vida no hospedeiro mamífero e no inseto vetor, pode ajudar a entender sobre os diversos fatores envolvidos no processo de transmissão da leishmaniose, além de auxiliar na elaboração de medidas e intervenções para o controle da doença (Figura 8).

Figura 8 — O Ciclo de vida da *Leishmania (Leishmania) amazonensis*

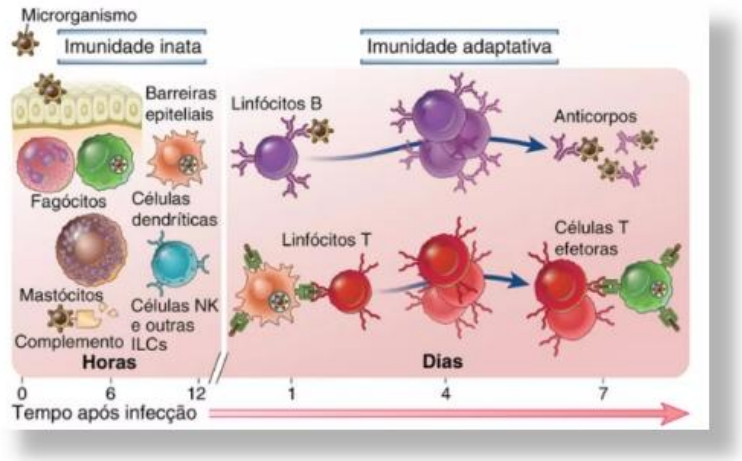


Legenda: Ciclo de vida do protozoário *Leishmania* em seus hospedeiros: vertebrado (homem ou outro animal mamífero) e invertebrado (flebotomíneo). Fonte: Teixeira *et al*., 2013.

2.3 O sistema imunológico e a infecção por *Leishmania* spp.

O sistema imunológico constitui um fator essencial para o organismo humano, uma vez que integra diversos componentes e processos fundamentais que atuam na proteção e defesa contra as ameaças internas ou externas que possam causar danos e perturbar a hemostasia do organismo e está sempre vigilante (Bergthaler; Menche, 2017; Marshall *et al*., 2018; Sattler, 2017). Composto por uma coleção heterogênea de células, órgãos, moléculas, produtos químicos e processos que funcionam de maneira coordenada, o sistema imunológico trabalha de maneira integrada e em interação para compartilhar os recursos e informações entre si e com outros sistemas do organismo, por isso, forma uma rede de comunicação rápida e eficaz (Abbas, Lichtman, Pillai, 2019; Sattler, 2017) (Figura 9).

Figura 9 — Mecanismos da imunidade inata e adaptativa



Legenda: Mecanismos da imunidade inata e adaptativa na defesa do organismo contra infecções. A resposta imune inata é mais rápida do que a resposta imune adaptativa, que é específica e necessita de um período maior para desenvolver a imunidade através da ativação dos linfócitos. Fonte: Abbas, Lichtman, Pillai, 2019.

Os recursos e dados compartilhados entre os componentes do sistema imunológico são integrados e conectados e permitem trocar informações à nível molecular, como por exemplo, na liberação de produtos químicos específicos que são necessários para manter ou restabelecer a homeostase imunológica do organismo (Rieckmann *et al*., 2017; Sattler, 2017). O sistema imunológico atua para proteger o organismo de várias doenças; detectar e eliminar os agentes patogênicos e as moléculas estranhas; realizar o reparo no tecido, quando houver dano no tecidual; reconhecer e responder células neoplásicas; regular e coordenar as respostas imunes visando manter ou restabelecer a o equilíbrio funcional e a homeostase imunológica do organismo (Blom, Ottaviani, 2017; O'Neill, Kishton, Rathmell, 2016; Sattler, 2017; Wang *et al*., 2023).

Na atuação contra as diversas ameaças, sejam endógenas ou exógenas, o sistema imunológico utiliza duas linhas de defesa principais que são o sistema imune inato e o sistema imune adaptativo (Dabi, Ajagbe, Degechisa, 2023; Kumagai, Akira, 2010). Marshall *et al*., (2018) referem as barreiras físicas, químicas, o sistema complemento, e principalmente, as células fagocíticas, como alguns dos mecanismos efetores inatos utilizados pelo organismo para produzir e efetuar o combate de um patógeno invasor. A vigilância constante que o sistema imune realiza também contribui

para a defesa do organismo, sendo muito importante na proteção contra ameaças externas, no caso a entrada dos patógenos invasores; e internas, no caso da presença de moléculas estranhas ou do aparecimento de células tumorais (Bergthaler, Menche, 2017; Hao *et al*., 2020; Marshall *et al*., 2018; Subramanian *et al*., 2015; Wang *et al*., 2023). Ao identificar uma ameaça e reconhecer um patógeno ou dano tecidual no organismo, o sistema imunológico inicia o processo de combate ou neutralização da ameaça detectada e finaliza com a produção de células imunes de memória, que atuarão em exposições subsequentes contra os mesmos antígenos identificados na primeira exposição para que possa garantir uma proteção mais rápida e eficaz (Netea *et al*., 2019; Murphy, Mills, Basdeo, 2021; Warrington *et al*., 2011).

A *Leishmania*, no entanto, é um parasita que possui a capacidade de modular as defesas do hospedeiro mamífero para sobreviver e criar um nicho favorável em sua célula alvo, o macrófago (Gupta, Oghumu, Satoskar, 2013). Os protozoários de *Leishmania* spp. desenvolveram estratégias com o objetivo de se adaptar e superar os obstáculos encontrados, desse modo, podem ser capazes de inibir ou alterar uma infinidade de sinais celulares e mecanismos de proteção para atenuar as respostas imunológicas de seu hospedeiro (Olivier, Gregory, Forget, 2005). De acordo com Harrington, Gurung, (2020), ainda é uma área de interesse de pesquisa a investigação da resposta imunológica à infecção por *Leishmania* spp., que encontram nas células imunes inatas e adaptativas um papel central no desempenho do controle e no resultado da patologia.

Os componentes da imunidade inata e o sistema do complemento são ativados imediatamente, após a penetração dos promastigotas metacíclicos na derme do hospedeiro, e os parasitas depositados no local da picada pela fêmea do flebotomíneo, são eliminados em cerca de 90%, portanto o sistema imunológico é crucial para eliminar ou moldar diversos aspectos clínicos da leishmaniose (Garcia *et al*., 2025; Maurer, Dondji, von Stebut, 2009). A participação simultânea das células do sistema imune inato é muito importante também e ocorre de maneira conjunta com a participação de diversas células imunes como os neutrófilos, macrófagos, células dendríticas, células natural killer (NK), células T e das citocinas que essas células liberam quando realizam a montagem da resposta imune contra *Leishmania* (Bhattacharjee, Biswas, Das, 2022). Entretanto, especialmente dentro de sua célula hospedeira, a *Leishmania* desenvolveu várias abordagens para combater as atividades microbicidas do macrófago, os amastigotas de *Leishmania* manipulam seu

hospedeiro para sobreviverem no ambiente hostil do fagolisossomo e se multiplicarem até que eventualmente haja o rompimento da sua célula hospedeira e possa progredir com a infecção de novos macrófagos (Ikeogu *et al*., 2020).

A sobrevivência e a replicação da *Leishmania* no macrófago ocorrem pela subversão do sistema imunológico do hospedeiro e pela promoção de fatores pró-parasitários obtidos através de vários mecanismos, como a inibição da formação de óxido nítrico, que desempenha um papel importante na eliminação de parasitas intracelulares; o retardamento da apoptose da célula hospedeira; a interferência ou inibição na produção de citocinas, que envolvam as funções dos macrófagos induzíveis por citocinas, como no caso da explosão oxidativa (Olivier, Gregory, Forget, 2005). O estilo de vida intracelular no hospedeiro mamífero, possibilita a *Leishmania* escapar de várias respostas imunes direcionadas pelo hospedeiro e o uso de determinados mecanismos, como a fagocitose dos neutrófilos infectados e exposição de fosfatidilserina, permitem uma entrada silenciosa em sua célula hospedeira e evita sua morte por macrófagos ativados (Liu, Uzonna, 2012).

Os macrófagos são muito eficientes na fagocitose e destruição de microrganismos (Murphy, 2014). Quando os parasitas de *Leishmania* estão no ambiente intracelular do macrófago, logo são detectados pelo sistema imunológico do hospedeiro e os complexos multiméricos, chamados inflamassomas, são montados e ativados para iniciar uma resposta inflamatória à invasão do patógeno (Bhattacharjee, Biswas, Das, 2022). Os inflamassomas são complexos multiproteicos que causam a morte celular inflamatória programada por piroptose e que afetam e limitam a proliferação dos parasitas de *Leishmania* nos macrófagos, como também, levam os parasitas a utilizarem suas estratégias para modular os arsenais defensivos da célula hospedeira, ao neutralizar e subverter os mecanismos de defesa do hospedeiro visando escapar da detecção imunológica e da inflamação associada (Bhattacharjee, Biswas, Das, 2022).

O sistema imunológico, portanto, fornece importantes mecanismos através da atuação de inúmeras moléculas, células e tecidos que proporcionam respostas imunes inatas ou adaptativas, que visam à rápida detecção e eliminação de antígenos ou imunógenos para impedir que perturbem o equilíbrio funcional e hemostasia imunológica do organismo (Bonilla, Oettgen, 2010; Ivanova *et al*., 2019; Birkle, Brown, 2021). De forma que o sistema imune inato contribui no preparo do cenário para que o sistema imune adaptativo responda à infecção de maneira correta ao trabalhar em

sinergia e desempenhar papéis complementares (Dagenais, Villalba-Guerrero, Chazaud, 2020; Sun *et al.*, 2020). Nesse sentido, a comunicação entre os componentes do sistema imunológico é fundamental para o bom desempenho de suas funções e ocorre por meio de receptores transmembranares, através dos receptores de reconhecimento padrão (PRRs); dos fatores solúveis produzidos pelas células, como as citocinas, interleucinas (IL) e quimiocinas, como através das sinapses imunológicas que possuem junções comunicantes que permitem a troca de informações entre células adjacentes em contato (Abbas, Lichtman, Pillai, 2019; Meng *et al*., 2022; Tittarelli *et al*., 2020).

Os receptores de reconhecimento padrão (PRRs) são utilizados pelas células imunes e pertencem a várias classes, tais como: receptores Toll-like (TLRs), receptores semelhantes a RIG-I, receptores semelhantes a Nod (NLRs) e receptores de lectina tipo C (CLRs), entre outros; como os sensores metabólicos (MS) que detectam alterações que ameaçam a perda da hemostasia, como os sinais de perigo devido a um patógeno invasor (Chen *et al*., 2019; Fitzgerald, Kagan, 2020; Jiménez-Dalmaroni, Gerswhin, Adamopoulos, 2016; Sun *et al*., 2020). Receptores TLRs possibilitam que o sistema imunológico inato faça o reconhecimento de padrões moleculares conservados que são associados a patógenos (Fitzgerald, Kagan, 2020). Os receptores Toll-like (TLRs) respondem aos sinais de perigo, como os ligantes infecciosos exógenos chamados de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), que são moléculas derivadas dos produtos microbianos conservados e a muitos outros tipos de moléculas endógenas, que são liberadas em condições patológicas, como por exemplo, durante uma lesão ou dano tecidual, denominadas de padrões moleculares associados a danos (DAMPs) (Ferraz *et al*., 2011; Fitzgerald, Kagan, 2020; Netea *et al*., 2017; Sousa, 2020; Sun *et al*., 2020). A ativação dos PRRs ao seu ligante na resposta imune inata, desencadeia cascatas de sinalização intracelular que geram respostas imunes e eventos moleculares que afetam a função vascular, remodelação tecidual e estimulam respostas imunes adaptativas específicas do antígeno, visando eliminar as ameaças, recuperar danos teciduais causados por inflamações ou infecções (Dabi, Ajagbe, Degechisa, 2023; Netea *et al*., 2019; Sousa, 2020).

Enquanto, as sinapses imunológicas (ISs) são compostas por estruturas que estão associadas na disseminação de informações pela transdução de sinais e as conexinas 43 (Cxs43), proteínas que atuam nas estruturas na formação dos canais

de junções comunicantes (GJs) e hemicanais (HCs) de conexinas estão presentes nas ISs (Meng *et al*., 2022; Tittarelli *et al*., 2020). As GJs e os HCs de conexinas estão envolvidos em determinados aspectos importantes que contribuem para a ativação e controle de algumas respostas imunes inatas e adaptativas (Elgueta *et al*., 2009; Meng *et al*., 2022; Oviedo-Orta, Howard Evans, 2004; Tittarelli *et al*., 2020). Os canais de Cx43 localizados na membrana celular de diversas células do sistema imune, proporcionam o tráfego de várias moléculas de sinalização através dos HCs de conexina e GJs existentes nas ISs e contribui com a interação celular e consequentemente com desenvolvimento das respostas desencadeadas pelo sistema imunológico (Valdebenito, Barreto, Eugenin, 2018).

2.4 Junções comunicantes

As doenças alteram a homeostase do organismo, prejudicam a comunicação celular e a atuação do sistema imunológico, entretanto, quando as células estão unidas por meio de canais intercelulares de junções comunicantes, permitem o envio de mensagens diretas entre si, possibilitam a troca de moléculas e sinais e o desenvolvimento das respostas imunes necessárias (Bruzzone, White, Goodenough, 1996; Nielsen *et al.*, 2012; Ribeiro-Rodrigues *et al*., 2017; Sáez, *et al*., 2003; Tittarelli et al., 2020). Um fator essencial em muitos aspectos da fisiologia animal, é a presença da comunicação entre as células vizinhas, uma vez que, pode ajudar a manter a homeostase dos tecidos e a desenvolver respostas imunes adequadas diante de inúmeros eventos patológicos (Eugenin *et* al., 2012; Lima *et al*., 2016; Nielsen *et al*., 2012; Sáez *et al*., 2003; Sáez *et al*., 2014; Yao, Oite, Kitamura, 2009).

A comunicação celular, realizada pelas junções comunicantes, também chamadas de junções gap (GJs ou GJA1), possibilita o acoplamento elétrico e metabólico das células, através de estruturas formadas pelos aglomerados de canais intercelulares de junções comunicantes (GJICs) (Dbouk *et al*., 2009; Laird, Lampe, 2018; Huang *et al*., 2019; Tittarelli et al., 2020). As GJs compõem uma região especializada da membrana celular que permitem ligar diretamente o citoplasma de células adjacentes com o objetivo de realizar a troca de informações entre as células conectadas (Bruzzone, White, Goodenough, 1996; Lucaciu *et al*., 2023).

Os canais intercelulares, que formam as GJs, estão presentes na maioria dos tipos celulares dos organismos multicelulares e são extremamente importantes em

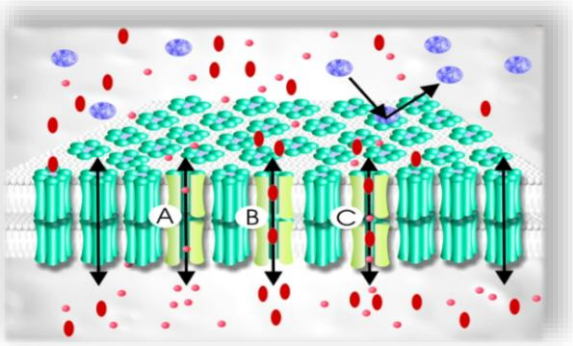
várias atividades biológicas, que incluem: o desenvolvimento, diferenciação, e as atividades neural, cardíaca e vascular; bem como, na resposta imune (Ebrahim, Ebrahim, Kandouz, 2024; Maeda, Tsukihara, 2011; Nielsen *et al*., 2012; Sáez *et al*., 2003). As GJs ajudam na propagação dos sinais elétricos e químicos entre as células vizinhas em contato, além de contribuir com a sincronização celular (Ebrahim, Ebrahim, Kandouz, 2024; Sáez, *et al*., 2003; Spray *et al*, 1985). Furshpan e Potter (1959), demostraram os primeiros indícios de comunicação intercelular através de dados que evidenciaram o acoplamento elétrico em neurônios de lagostim.

As descobertas morfológicas dos canais de GJs, também possibilitaram a correlação das junções e o acoplamento elétrico (Gilula, Reeves, Steinbach, 1972). O canal juncional representava uma via de baixa resistência na propagação de impulsos elétricos em mamíferos e possibilitavam um meio de tráfego para moléculas com peso de até 1 kDa aproximadamente (Flagg, Simpson, Loewenstein, 1979; Koval, acrescentar: Molina, Burt, 2014; Kim, Ganesan, Choi, 2016).

O canal intercelular, denominado junção comunicante (GJIC), proporciona o intercâmbio de uma grande variedade de íons, como o sódio (Na^{2+}) e potássio (K^{+}); e outras substâncias orgânicas extremamente importantes, como os aminoácidos, nucleotídeos, adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (AMPc), a guanosina-monofosfato cíclico (GMPc), o inositol 1,2,4 trisfosfato (IP3), glutationa, a glicose e outras moléculas que permeiam através de seus poros aquosos (Alexander, Goldberg, 2003; Dhein, 1998; Jagielnicki *et al*., 2024; Harris, 2018; Hervé, Bourmeyster, Sarrouilhe 2004).

A interação entre as células vizinhas, promovida pelas GJs, portanto, pode ocorrer por meio da propagação intercelular de sinais elétricos ou pela transferência intercelular seletiva de íons, pequenas moléculas citosólicas que atuam como segundo mensageiros e por pequenos metabólitos (Bennett, Zukin, 2004; Kirichenko, Skatchkov, Ermakov, 2021; Pereda, 2014; Laird, 2006; Nielsen *et al*., 2012; Ribeiro-Rodrigues *et al*., 2017) (Figura 10).

Figura 10 — Permeabilidade dos canais de junção comunicante



Legenda: Diagrama esquemático sobre a permeabilidade dos canais intercelulares de junção gap (GJICs). A ilustração exemplifica que os canais intercelulares de junção gap são permeáveis: a pequenas moléculas (**A**); a moléculas pequenas com formas alongadas (**B**); ou combinações de ambas as formas moleculares (**C**). É importante ressaltar que a carga das moléculas que ultrapassam pelo GJIC determina as características de permeabilidade do canal juncional. Em geral, as moléculas que excedem a 1 kDa (roxo), não são permeáveis nos canais de junções comunicantes. Fonte: Laird, 2006.

O sistema de comunicação de GJs instituído entre células adjacentes em interação contribui para a função coordenada das células nos tecidos e órgãos, (Bruzzone, White, Goodenough, 1996; Kiełbowski, Bakinowska, Pawlik, 2023; Ribeiro-Rodrigues *et al*., 2017). As GJs são formadas por conexinas que fornecem um sistema exclusivo de comunicação direta célula a célula, fator fundamental para a vida multicelular (Laird; Lampe, 2022, Xiong *et al*., 2024). As diferentes combinações das subunidades das proteínas conexinas, proporcionam a formação de GJs com propriedades biofísicas e de permeabilidade que permitem os íons e mensageiros intracelulares, de até aproximadamente 1 kDa (quilodalton) em massa molecular, se difundam entre células conectadas ou do citoplasma para o espaço extracelular através dos hemicanais, para atuar na coordenação de múltiplas funções fisiológicas (Harris, 2007; Sáez *et al*., 2003).

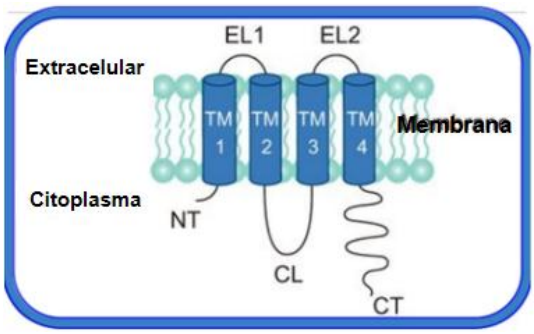
2.4.1 As proteínas conexinas

As proteínas denominadas conexinas são membros uma família multigênica de proteínas transmembranares, com cerca de 21 tipos em humanos, que apresentam diferentes isoformas e formam as junções comunicantes (GJs), também denominadas junções gap (García *et al*., 2018; Lampe, Laird, 2022; Söhl; Willecke, 2009; Tittarelli *et al*., 2020).

As conexinas podem ser divididas em nove domínios estruturais, constituídos por: quatro domínios transmembranares em α-hélice (TM1, TM2, TM3 e TM4) que atravessam a membrana celular por quatro vezes e produzem os domínios compostos por duas alças extracelulares (EL-1 e EL-2) e uma alça intracelular (CL); além disso, apresentam outros dois domínios constituídos pelas porções N-terminal (AT) e C-terminal (CT) que ficam expostas ao citoplasma (Kiełbowski, Bakinowska, Pawlik, 2023; Laird, 2006; Scemes *et al*., 2007).

Os domínios transmembranares e as duas alças extracelulares constituem as regiões de maior conservação filogenética entre os membros da família das conexinas (Kiełbowski, Bakinowska, Pawlik, 2023; Kumar, Gilula, 1996; Scemes *et al*., 2007). Segundo Scemes *et al*., (2007) os três resíduos conservados de cisteína presentes em cada alça extracelular proporcionam uma forte interação entre os dois hemicanais, através das ligações dissulfeto e consequentemente permitem a formação de um canal intercelular. A alça intracelular é caracterizada como a região de menor similaridade e menor conservação, apresenta, portanto, vários locais para interações (Hervé, Bourmeyster, Sarrouilhe, 2004; Kumar; Gilula, 1996; Totland *et al*., 2020). Totland *et al*., (2020) refere que a CL, juntamente com as porções N e C-terminais exibem grande variação em seu comprimento e sequência de aminoácidos, desempenhando papéis muito importantes na regulação das junções comunicantes e no tráfego intracelular de conexinas (Figura 11).

Figura 11 — Topologia da Cx43 na membrana celular



Legenda: Ilustração esquemática da topologia característica de Cx43 na membrana celular. A topologia característica da Cx43 na membrana celular compreende: quatro domínios transmembrana (TMs: 1, 2, 3 e 4), dois domínios compostos pelas alças extracelulares (EL1 e EL2), um domínio constituído pela alça citoplasmática (CL) e os domínios das caudas citoplasmáticas do terminal N (NT) e do terminal C (CT). Fonte: Ribeiro-Rodrigues *et al.,* 2017.

O domínio carboxi-terminal e os demais domínios, segundo Laird, (2006), apresentam uma menor conservação filogenética, e as variações nas sequências de aminoácidos ocorrem entre as diferentes isoformas das proteínas conexinas, principalmente no grupo carboxi-terminal e na alça citoplasmática. Enquanto, o domínio citoplasmático N-terminal encontra-se envolvido na oligomerização da conexina em hemicanais, além do subsequente tráfego de conexina, que permite processos seletivos interativos e o acoplamento por meio de um sinal de seletividade (Dbouk *et al*., 2009; Hervé *et al*., 2007). Segundo Dbouk *et al*., (2009) o domínio citoplasmático C-terminal está envolvido na fosforilação de diversas conexinas, como na Cx43; que também participa na regulagem, montagem e modulação das propriedades fisiológicas dos canais e desempenha um papel fundamental nos processos de oligomerização e na regulação do fluxo do Ca 2+ intercelular, além de afetar as propriedades bioquímicas e elétricas dos HCs. O domínio C-terminal da Cx43 contém vários locais envolvidos na mediação de interações proteína-proteína (Leithe, Mesnil, Aasen, 2018). Já o domínio transmembranar 3 refere-se a região mais anfipática que também pode ser a possível responsável pela formação das paredes do canal juncional (Bennett *et al*., 1991; Dhein, 1998; Laird, 2006).

A comparação das sequências de aminoácidos marcou o início das pesquisas sobre a multigenicidade da família das conexinas, enquanto, a clonagem impulsionou bastante os estudos em relação a essas proteínas formadoras de canais (Gros *et al*., 1983; Paul, 1986). As conexinas foram agrupadas em cinco subgrupos, classificadas de acordo com as semelhanças em suas sequências genéticas (Beyer, Berthoud, 2018; Lampe, Laird, 2022; Nielsen *et al*., 2012;). A abreviação da conexina é representada pelo símbolo “GJ”, que identifica os genes correspondentes para cada junção comunicante, e a classe pelas letras gregas α, β, γ, δ e ε, seguida da numeração que se refere à posição ocupada pelo gene, conforme a ordem de sua descoberta (Nielsen *et al.*, 2012; Zhu, 2022). As proteínas conexinas também são representadas pelo prefixo “Cx”, seguido do número correspondente ao peso da massa molecular em quilodalton (kDa) (Beyer, Paul, Goodenough, 1987; Sáez, *et al*., 2003).

As diversas isoformas existentes entre os membros da família das conexinas são caracterizadas de acordo com o peso molecular que cada proteína possui, o que varia de 26 a 70 quilodalton (kDa) (Bennett *et al*., 1995; Dhein, 1998; Nielsen *et al*., 2012; Sosinsky, Nicholson, 2005) (Tabela 2).

Tabela 2 — Peso molecular das conexinas em humanos e camundongos

Homem		Camundongo	
Conexina	Peso Molecular (kDa)	Conexina	Peso Molecular (kDa)
-	-	mCx23	23,013
hCx25	25,892	-	-
hCx26	26,200	mCx26	26,411
hCx30	30,096	mCx29	28,981
hCx30.2	30,213	mCx30	30,366
hCx30.3	30,419	mCx30.2	30,219
hCx31	30,817	mCx30.3	30,388
hCx31.1	31,088	mCx31	30,901
hCx31.3	31,347	-	-
hCx31.9	31,933	mCx31.1	31,194
hCx32	32,024	mCx32	32,003
-	-	mCx33	32,860
hCx36	36,248	mCx36	36,085
hCx37	37,413	mCx37	37,696
hCx40	40,140	mCx39	39,996
hCx40.1	40,438	mCx40	40,413
hCx43	43,008	mCx43	43,003
hCx45	45,482	mCx45	45,665
hCx46	46,655	mCx46	46,302
hCx47	47,427	mCx47	46,603
hCx50	48,173	mCx50	49,597
hCx59	58,842	-	-
hCx62	61,871	mCx57	57,114

Legenda: A tabela mostra a família multigênica das conexinas com 21 isoformas no genoma humano e 20 no genoma de roedores e sua nomenclatura padrão baseada no peso molecular. Fonte: Söhl, Willecke, 2003.

2.4.2 A proteína conexina 43

O primeiro membro descoberto da classe α (Alfa) foi a Cx43 (GJα1), que é a isoforma mais estudada e foco de muitas pesquisas, por apresentar uma grande expressão nas diversas células e órgãos do organismo humano (Boengler *et al*., 2021; Nielsen *et al*., 2012). As conexinas, porém, não são expressas no músculo esquelético diferenciado, eritrócitos circulantes e espermatozoides maduros (Nielsen *et al*., 2012; Scemes *et al.,* 2007).

De acordo com diversos estudos, a expressão das conexinas ocorre de maneira específica por cada célula e tecido, entretanto, a Cx43 constitui uma exceção, por ser uma isoforma amplamente expressa na maioria das células e tecidos de mamíferos (Neijssen, Pang, Neefjes, 2007; Tittarelli *et al*., 2020). Segundo Nielsen *et al*., (2012) o aumento ou diminuição da expressão da Cx43, frequentemente está associada a diversas condições patológicas, o que a torna alvo de diversas investigações. Rodríguez-Sinovas *et al*., (2021), menciona que as diferentes

isoformas das conexinas, possuem propriedades biofísicas distintas, apesar de todas as isoformas existentes partilharem de uma estrutura semelhante.

A estrutura das várias conexinas, não são totalmente conhecidas, porém sabe-se que seus rearranjos estruturais e interações intramoleculares são primordiais para o acoplamento dos canais juncionais, e sua formação e função são reguladas por um controle bastante rigoroso, desde a transcrição, tradução, tráfego até sua degradação (Nielsen *et al*., 2012).

2.4.3 A proteína conexina e a formação das junções comunicantes

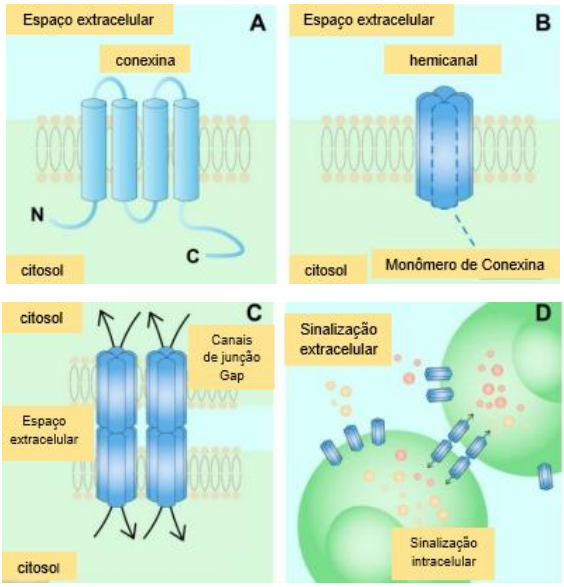
As conexinas são as principais subunidades estruturais dos canais GJ e se encontram presentes na membrana celular, oligomerizadas concentricamente sob a forma de hexâmeros denominados de hemicanais (HCs) de conexina ou conexons (García *et al*., 2018; Okolo *et al*., 2024). Os HCs hexaméricos de conexinas ficam posicionados na membrana celular de uma célula e podem formar os canais intercelulares de junção comunicante (GJICs) quando se posicionam de modo paralelo com os canais hexaméricos de uma célula adjacente para permitir a comunicação entre as células em interação (Evans, De Vuyst, Leybaert, 2006; Evans, Martin, 2002; Huang *et al*., 2019; Laird, Lampe, 2018; Nielsen *et al*., 2012; Zhou, Jiang, 2014). O número de conexinas e dos canais formados por essa proteína possui um rigoroso e complexo controle e a atividade do canal é determinada pelas propriedades condutoras da conexina envolvida (Nielsen *et al*., 2012; Rodríguez-Sinovas *et a*l., 2021).

Os HCs de conexinas apresentam características semelhantes a todas as isoformas das conexinas, e o HC de conexina se caracteriza por ser uma estrutura que se mobiliza lateralmente pela membrana celular permitindo que se emparelhe com outro HC de conexina da célula vizinha em contato, de forma dodecamérica para formar o canal intercelular de junção comunicante (GJIC) (García *et al*., 2018; Lauf *et al*., 2002; Nielsen *et al*., 2012; Unger *et al*., 1999). A transferência de informações célula a célula por intermédio dos HCs ocorre através emissão e recebimento dos sinais microambientais de mediadores solúveis provenientes da matriz extracelular (MEC) e de outras células, tem por objetivo ajudar na regulação de vários processos e funções celulares, dos tecidos e órgãos para contribuir com a manutenção da homeostase do organismo (Davies *et al*., 2013; Eugenin, 2019; Fafián-Labora,

O'Loghlen, 2020; Ribeiro-Rodrigues *et al*., 2017). No entanto, os HCs ou conexons formados por Cx também foram implicados em uma variedade de processos fisiológicos e patológicos (Beyer, Berthou, 2018; Sáez, Leybaert, 2014).

De acordo com Axelsen *et al*., (2013) as células podem regular o acoplamento dos canais juncionais, conforme a expressão das diferentes conexinas, o que depende do tecido e do tempo em que as conexinas são expressas. As diferentes isoformas das conexinas determinam as propriedades do canal das GJs, por isso, a conexina deve ter sua expressão regulada de maneira precisa para que os canais juncionais funcionem adequadamente (Beyer, Steinberg, 1991; Huang *et al*., 2019; Oviedo-Orta, Howard Evans, 2004; Neijssen, Pang, Neefjes, 2007; Söhl, Willecke, 2009; Tittarelli *et al*., 2020; Zong *et al*., 2023). O poro do GJIC é permeável a moléculas de pelo menos 15 angstroms (Å), em sua região central, e tem a função de conectar o citoplasma das células em interação de modo direto, como de realizar a comunicação elétrica e química entre células adjacentes envolvidas (Huang *et al*., 2019; Laird, Lampe, 2018; Lucaciu *et al*., 2023; Makowski *et al*., 1977; Zhou, Jiang, 2014; Unwin, Zampighi, 1980). Os canais intercelulares dodecaméricos de conexina que formam as GJs são densamente compactados e ficam situados em uma região especializada da membrana (Lucaciu *et al*., 2023). O agrupamento dos GJICs forma um aglomerado denso com vários canais juncionais, que abrangem as duas membranas plasmáticas e são chamadas de placas de junções comunicantes (GJs) (Lucaciu *et al.,* 2023) (Figura 12).

Figura 12 — Estrutura dos canais formados por conexinas

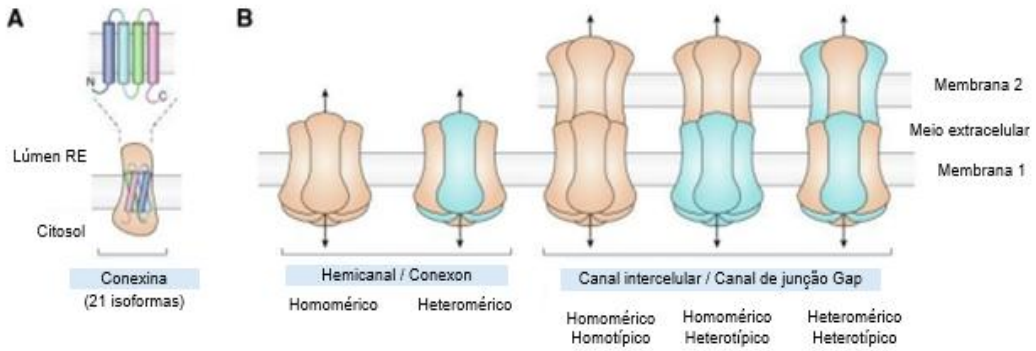


Legenda: Ilustração esquemática da estrutura dos canais formados por conexinas. A ilustração mostra a estrutura e formação dos canais de conexina na membrana celular: **A**) Representação esquemática de um monômero de conexina. **B**) Representação esquemática de um hemicanal composto por seis monômeros de conexina. **C**) Representação esquemática de junções comunicantes formadas por dois hemicanais de conexina. **D**) Representação esquemática da comunicação intercelular e extracelular, através de junções comunicantes e hemicanais de conexina respectivamente. Fonte: Kiełbowski, Bakinowska, Pawlik, 2023.

Várias isoformas de conexinas possibilitam a produção de diversos arranjos estruturais para formar diferentes tipos de HCs e de GJs (Lima *et al*., 2016; Nielsen *et al*., 2012). Desse modo, os HCs ou conexons composto por Cxs da mesma isoforma são chamados de homoméricos, e quando constituídos por diferentes isoformas de conexinas, são denominados de conexons heteroméricos (Kumar, Gilula, 1996; Laird, 2006; Lilly *et al.,* 2016; Lucaciu *et al*., 2023; Wang, Peracchia, 1998). Enquanto, os arranjos dos GJICs podem ser classificados como: a) homomérico-homotípico, quando os dois HCs idênticos formam o canal juncional, sendo constituídos pela mesma isoforma de conexina; b) homomérico-heterotípico quando o canal juncional é composto por dois HCs constituídos por conexinas de diferentes isoformas, porém cada HC é composto pela mesma isoforma de conexina, no entanto, as isoformas que compõe o outro HC são diferentes; c) heteromérico-homotípico quando o canal é formado por dois HCs com a mesma composição de isoformas de conexinas, sendo que cada canal é constituído por diferentes isoformas de conexinas, mas ao se acoplarem se alinham com conexinas de mesma isoforma que compõe cada HC; e d)

heteromérico-heterotípico quando os HCs possuem uma composição formados por diferentes isoformas de conexinas, e ao se acoplarem, ocorre o alinhamento com diferentes isoformas de conexinas que formam cada HC (Koval, Molina, Burt, 2014; Kumar; Gilula, 1996; Laird, 2006; Lucaciu *et al*., 2023). Totland *et al.,* (2020) mencionam que a condutância e a seletividade dos canais juncionais são bastante afetados pela composição das diferentes isoformas de conexinas que formam os canais intercelulares de junções comunicantes (Figura 13).

Figura 13 — Organização dos hemicanais e canais juncionais de conexinas



Legenda: A ilustração esquemática da organização das conexinas, mostra em: **A** – A topologia da conexina como uma proteína membrana integral. **B** - Os conexons ou hemicanais, de conexina que podem funcionar desacoplados em membranas únicas e podem ser classificados como homoméricos, quando compostos por uma única isoforma de conexina; ou heteroméricos, quando envolvem duas ou mais isoformas de conexinas. Na membrana celular, os conexons podem se emparelhar e se acoplar a outro conexon de uma célula adjacentes e formar uma ampla combinação de arranjos de canais intercelulares de junções comunicantes (GJICs), como: homoméricos-homotípicos, homoméricos-heterotípicos ou heteromérico-heterotípicos. Fonte: Lucaciu *et al*., 2023.

As conexinas, portanto, são as subunidades proteicas que formam os canais de GJs por si só, entretanto, as várias isoformas de conexinas e rearranjos estruturais podem formar junções comunicantes de diferentes tipos de canais (Lima *et al*., 2016; Nielsen *et al*., 2012). O canal juncional de GJ é formado pela interação não covalente do conexon de uma célula com o outro da célula adjacente, após haver o emparelhamento e acoplamento dos HCs que pertencem a cada uma das células (Bennett *et al*., 1991; Evans, De Vuyst, Leybaert, 2006; Zhou, Jiang, 2014; Laird, Lampe, 2018; Huang *et a*l., 2019). O alinhamento de dois HCs de células vizinhas forma uma GJ e estabelece uma rota direta e contínua para a comunicação célula-célula e proporciona que as células conectadas sincronizem suas atividades e

mantenham a função celular sob condições fisiológicas (Huang *et al*., 2019; Laird, Lampe, 2018; Retamal *et al*., 2015; Ribeiro-Rodrigues *et al*., 2017). O agrupamento de centenas a milhares de GJICs e de HCs formam a placa de GJ e constituem grande importância no contexto fisiológico e fisiopatológico (Davies *et al*., 2013; Eugenin, 2019).

A placa de GJ realiza a comunicação intercelular para manter um microambiente saudável, porém, as funções das GJs são muito diversificadas em relação a troca de metabólitos e sinais elétricos entre as células (Ebrahim, Ebrahim, Kandouz, 2024; Nielsen *et al*., 2012; Sáez *et al*., 2003; Sáez *et al*., 2014; Spray *et al,* 1985). A regulação do acoplamento do canal intercelular de GJ baseia-se no número e atividade dos canais que existem nas placas de GJs e todos os processos envolvidos devem ocorrer num rigoroso e complexo controle, desde a transcrição, tradução, tráfego até a degradação das Cxs que formam os canais juncionais (Nielsen et al., 2012; Rodríguez-Sinovas *et al.,* 2021).

2.4.4 O ciclo de vida útil da conexina 43

As conexinas têm um ciclo de vida útil relativamente curto, com a uma meia-vida útil que varia em torno de 1 a 5 horas, dependendo da isoforma da conexina e do contexto celular em que são encontradas (Laird, 2006). Conexinas são estruturas muito dinâmicas e na membrana plasmática se apresentam com taxas de renovação bastante rápidas, fatores de transcrição que podem ser regulados em prazos curtos e rápidos para atender as necessidades e a realização de funções fisiológicas importantes (Lampe, Lau, 2004). A síntese das conexinas ocorre nos ribossomos que estão ligados à membrana do retículo endoplasmático rugoso, onde são cotraduzidas e encontradas como monômeros (Segretain, Falk, 2004; Zhu, 2022). Depois de sintetizadas, as conexinas são transportadas para o aparelho de Golgi, através do compartimento intermediário ER-Golgi (ERGIC) (Kim, Ganesan, Choi, 2016; Laird, 2006; Lilly *et al.*, 2016; Loewenstein, 1981; Segretain, Falk, 2004).

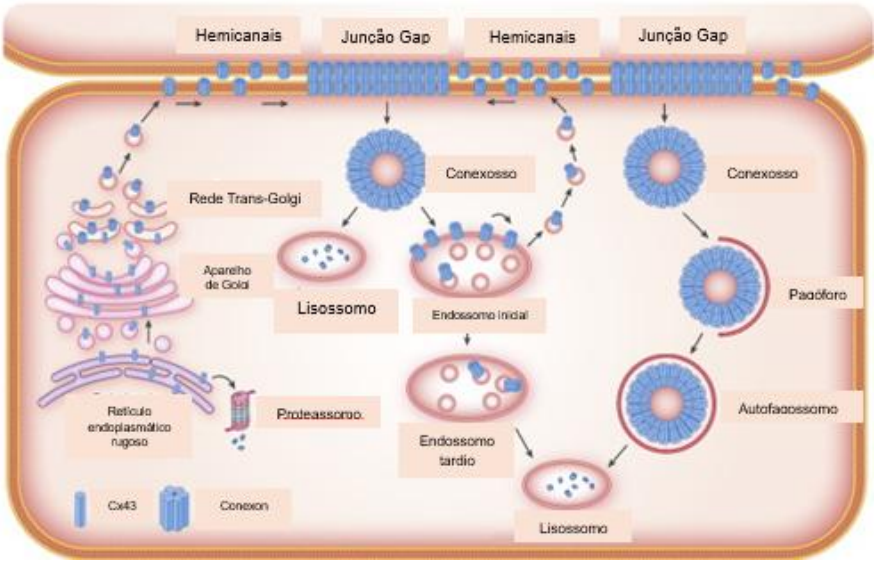
Durante todo o ciclo de vida útil, as conexinas sofrem fosforilação, um evento de grande importância que influencia a conexina desde a síntese, montagem dos HCs, número, função e degradação das GJs (Solan, Lampe, 2020). Algumas isoformas de conexinas são fosforiladas e oligomerizadas sob a forma de HCs no retículo endoplasmático rugoso e em seguida são transportadas para o complexo de Golgi,

entretanto, a Cx43 é transportada sob a forma de monômeros para o complexo de Golgi, local onde são oligomerizadas em hexâmeros (Das Sarma *et al*., 2001; Segretain, Falk, 2004). A fosforilação das conexinas se relaciona não somente ao número e função dos canais juncionais, como também, está associada com a localização e às alterações dinâmicas que ocorrem nas placas GJ, com a abertura e fechamento dos canais juncionais e a internalização das GJs (Solan, Lampe, 2020).

A Cx43 é extensivamente fosforilada por diversas proteínas em sua porção C-terminal logo após sua síntese, e continua a sofrer mudanças, no seu estado de fosforilação, à medida em que trafega do RE para o Golgi e da região TNG do Golgi para a membrana plasmática, onde formará a estrutura de junção comunicante (Lampe, Lau, 2004; Zong *et al*., 2023). As proteínas quinases realizam interações com as conexinas que são fundamentais para a biologia das junções comunicantes, como por exemplo, a fosforilazação da Cx43 pela proteína quinase A (PKA), pode promover e influenciar a montagem e função do GJIC (Kameritsch, Pogoda, 2020; Solan, Lampe, 2020).

Ao final do processo de síntese, os HCs de conexinas são empacotados em vesículas transporte no aparelho de Golgi e seguem até a membrana celular, carregados e transportados através dos microtúbulos, juntamente com a participação de proteínas motoras (Dhein, 1998, Gaietta *et al*., 2002; Laird, 2006; Musil, Goodenough, 1993; Sergretain, Falk, 2004;). Ao chegar na membrana plasmática, os HCs se ligam a outros HCs da célula adjacente em oposição e formam os GJICs (Nielsen *et al*., 2012). Os canais intercelulares de junções comunicantes agrupam-se em placas, que são normalmente compostos por centenas a milhares de canais juncionais e organizados de maneira que os canais mais novos que são formados, fiquem distribuídos pelas bordas das placas e os canais mais antigos fiquem dispostos na região central (Leithe, Mesnil, Aasen, 2018) (Figura 14).

Figura 14 — Síntese e tráfego intracelular da Cx43



Legenda: A representação esquemática da síntese e tráfego intracelular da Cx43 que exemplifica e mostra a Cx43 que é sintetizada no retículo endoplasmático rugoso (RER). Um subconjunto de proteínas Cx43 recém-sintetizada e mal enovelada é deslocada do RER para o citosol, seguida pela sua degradação no proteasomo. As moléculas de proteínas Cx43 que não são destruídas são transportadas para o aparelho de Golgi. A oligmerização da Cx43 em hemicanais (HCs) ou conexons ocorre após a saída do RER. Vesículas transportadoras levam os HCs da rede trans-Golgi para a membrana plasmática ao longo dos microtúbulos. Os HCs podem ser entregues a regiões não opostas da membrana plasmática, sendo mobilizados por difusão lateral na bicamada lipídica até se juntarem a parte das bordas da placa de junção comunicante existente. Esses conexons se acoplam a conexons de outra célula adjacente para formar os canais intercelulares de junções comunicantes (GJICs). Os GJICs formados por conexinas recém-sintetizadas são adicionados à periferia da placa de junção comunicante e os canais mais antigos localizados na região central da placa de GJ de onde são removidos por endocitose à medida que os novos canais juncionais são adicionados à placa de GJ. Durante a endocitose da GJ, ambas membranas da junção são internalizadas em uma das células adjacentes, resultando na formação da chamada junção comunicante anular ou conexossomo. A Cx43 componente do conexossomo pode ser degradada nos lisossomos ou, possivelmente, pode ser reciclada e levada novamente para a membrana plasmática. A degradação da Cx43 endocitada envolve as vias endolisossomal e autofagossômica. O autofagossomo que contém o conexossomo se funde com os lisossomos. Fonte: Leithe, Mesnil, Aasen, 2018.

Os canais juncionais mais antigos que estão localizados na região central da placa de GJ são internalizados em estruturas de membrana dupla denominadas de conexossomos ou junções anulares e seguem para degradação nos lisossomos ou proteassomos, enquanto os novos HCs são adicionados à periferia de uma placa de GJ (Leithe, Mesnil, Aasen, 2018). Segundo Nielsen *et al*., 2012 (2012) a meia-vida útil

da Cx43 na membrana plasmática é efêmera e dura na ordem de minutos a horas, ocorrendo a internalização da GJ a partir da membrana plasmática representa uma etapa regulatória importante na determinação do nível de acoplamento das junções comunicantes. As GJs estão constantemente num estado de fluxo constante, que envolve a síntese da proteína conexina, montagem de HCs e GJICs, a remodelação e rotatividade dos canais juncionais (Laird, 2006).

As células podem regular o acoplamento dos canais juncionais, de acordo com a expressão das diferentes conexinas, e isso depende do tecido e do tempo em que as conexinas são expressas (Axelsen *et al*., 2013). As diferentes isoformas das conexinas determinam as propriedades do canal das GJs, e a expressão da proteína conexina deve ser regulada de maneira precisa para que os canais juncionais funcionem adequadamente (Oviedo-Orta, Howard Evans, 2004; Neijssen, Pang, Neefjes, 2007; Huang *et al*., 2019; Tittarelli *et al*., 2020; Zong *et al*., 2023).

2.4.5 A função da conexina e a seletividade dos canais formados por conexinas

A função principal da conexina é se oligomerizar em estruturas hexaméricas e formar um HC e GJ para permitir a comunicação entre células vizinhas (Huang *et al*., 2019; Laird, Lampe, 2018; Sáez *et al.*, 2014; Zhou, Jiang, 2014). No entanto, algumas conexinas possuem funções independentes da formação de canal e frequentemente estão associadas à capacidade de se ligar a outros elementos do citoesqueleto, atuando de maneira a promover integração em diferentes eventos de sinalização, como por exemplo, a Cx43 que consegue interagir com várias outras proteínas no ambiente intracelular (Duffy, Delmar, Spray, 2002; Li, Acosta, Jiang, 2023; Tittarelli *et al*., 2020; Zhou, Jiang, 2014;).

Os HCs de conexinas têm a função de possibilitar a transferência bidirecional de informações químicas entre o meio intracelular e o ambiente extracelular, por meio da passagem de pequenas moléculas com 1,4 nm de tamanho aproximadamente e de diversa natureza, que incluem: trifosfato de adenosina (ATP), monofosfato de adenosina cíclico (AMPc), trifosfato de inositol (IP3), cálcio (Ca^{2+}), microRNAs, pequenos peptídeos, entre outros (Dermietzel, Spray, 1993; Kim, Ganesan, Choi, 2016; Lilly *et al*., 2016; Sáez *et al*., 2003; Tittarelli *et al*., 2020). Segundo Bennett *et al*., (2003) frequentemente os HCs de conexinas permanecem fechados, porém quando ativados na membrana celular, podem liberar sinais autócrinos e parácrinos,

como dinucleotídeo nicotinamida e adenina (NAD^+), glutamato ou ATP, o que pode afetar a proliferação e sobrevivência celular.

O estado funcional dos HCs é regulado por várias condições fisiológicas, que envolvem fatores intracelulares e extracelulares, e que já foram relacionados com uma variedade de processos fisiológicos e patológicos (Beyer, Berthou, 2018; Paul *et al*., 1991; Retamal *et al*., 2007; Retamal *et al*., 2015; Sáez, Leybaert, 2014; Willebrords *et al*., 2016). A desregulação funcional do hemicanal está associada a várias doenças crônicas e a muitas doenças genéticas, que já foram mapeadas e relacionadas a mutações dos genes que codificam a conexina, como a surdez, neuropatias, catarata, anormalidades esqueléticas e doenças de pele (Beyer, Ebihara, Berthoud, 2013; Van Steensel, 2006; Verselis, 2017; Wang, Sun, 2017; Yang *et al*., 2018). O funcionamento adequado dos hemicanais formados por conexinas dependem da expressão e regulação precisa da proteína conexina (Huang *et al*., 2019; Neijssen, Pang, Neefjes, 2007; Oviedo-Orta, Howard Evans, 2004; Tittarelli *et al*., 2020; Zong *et al*., 2023).

As junções comunicantes ou junções gap (GJs), compostas por uma coleção de hemicanais acoplados a outros da célula adjacente (GJICs), têm a função de permitir a transferência de pequenas moléculas entre as células vizinhas em interação (Dbouk *et al*., 2009; Laird, Lampe, 2018; Huang *et al*., 2019; Tittarelli *et al*., 2020). Os GJICs contribuem para regular diversos processos celulares que podem modular diferentes aspectos das respostas imunes, da inflamação, da migração, da proliferação e morte celular, visando ajudar, facilitar e equilibrar a comunicação célula-célula para manter a homeostase e fisiologia das células e tecidos no organismo (Anand *et al*., 2008; Neijssen, Pang, Neefjes, 2007; Valdebenito, Barreto, Eugenin, 2018). A ligação entre os citoplasmas das células adjascentes em interação através dos GJICs contribuem com a troca direta de informações entre as células envolvidas, o que é essencial para a manutenção de vários processos fisiológicos que incluem: crescimento, proliferação e diferenciação celular (Dbouk *et al*., 2009; Laird, Lampe, 2018; Li, Acosta, Jiang, 2023; Meng *et al*., 2022; Sáez, Leybaert, 2014; Tittarelli *et al*., 2020; Valdebenito, Barreto, Eugenin, 2018).

O poro existente na região central dos GJICs, que proporciona a troca intercelular direta de moléculas de sinalização importantes, apresentam diversas características de permeabilidade e permitem somente a passagem de pequenas moléculas de carga e formato variáveis (Harris, 2018; Koval, Molina, Burt, 2014; Laird, Lampe, 2022; Leybaert *et al*., 2017). A troca seletiva de moléculas presentes no

citoplasma que passam pelos GJICs são os íons, moléculas que atuam como segundos mensageiros e pequenos metabólitos com até 1000 kDa de tamanho, aproximadamente (Evans, Martin, 2002; Laird, Lampe, 2018; Li, Acosta, Jiang, 2023; Lima *et al*., 2016; Meng *et al*., 2022; Nielsen *et al*., 2012; Rodjakovic, Salm, Beldi, 2021; Valdebenito, Barreto, Eugenin, 2018; Zhou, Jiang, 2014;). Em princípio, a seletividade dos GJICs se baseia no tamanho molecular, como também, impedem a transferência de proteínas ou ácidos nucléicos (Kumar, Gilula, 1996).

As funções das GJs, portanto, são muito diversificadas com atividades que incluem a troca de metabólitos, segundos mensageiros e sinais elétricos entre as células, porém dependem da composição de conexinas que formam dos canais juncionais (Ebrahim, Ebrahim, Kandouz, 2024; Rodríguez-Sinovas *et al.,* 2021; Maeda, Tsukihara, 2011; Spray *et al*, 1985). As GJs constituem um fator fundamental e complexo não somente para a biologia e fisiologia celular, como para possibilitar a comunicação celular durante as respostas imunes que envolvem os processos patológicos, e na patogênese de muitas doenças, por estar relacionadas a vários aspectos, como: a propagação de sinais elétricos, a coordenação do desenvolvimento célula a célula, a sinalização por transferência de segundos mensageiros, a comunicação da resposta imune, entre outros (Dbouk *et al*., 2009; Eugenin *et al*., 2003; Huang *et al*., 2019; Li, Acosta, Jiang, 2023; Meng *et al*., 2022; Nielsen *et al*., 2012; Segretain, Falk, 2002; Tittarelli *et al*., 2020; Valdebenito, Barreto, Eugenin, 2018; Xiong *et al*., 2024; Zhou, Jiang, 2014).

2.5 Macrófagos

Macrófagos são células componentes do sistema mononuclear fagocítico que possuem grande importância no sistema imunológico, por apresentar diversas funções e papéis, uma vez que, atuam na primeira linha de defesa e participam da imunidade inata e condicionam a resposta adaptativa (Kumar, 2020; Martinez, Gordon, 2015; Mosser, 2003). Descobertos por Elie Metchnikoff em 1882, os macrófagos foram as primeiras células imunes inatas descritas e, na época, receberam a denominação de “as grandes comedoras”, devido sua capacidade de engolir e digerir detritos celulares ou substâncias estranhas (Cavaillon, 2011; Franken, Schiwon, Kurts, 2016; Gordon, 2016; Kumar, 2020; Mosser, 2003; Shapouri-Moghaddam *et al*., 2018).

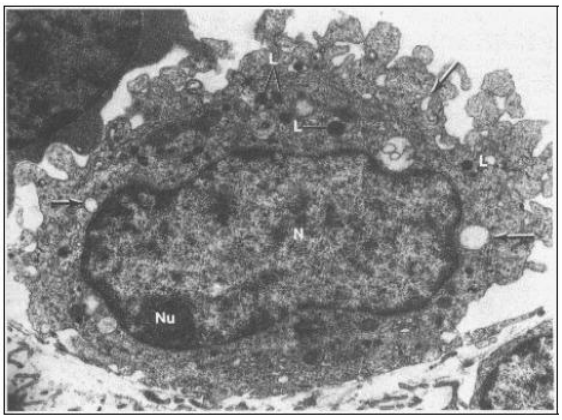
O termo “macrófago” envolve e descreve um grupo heterogêneo de células de diversas linhagem e funções, que apresentam diferentes tipos com grande especialização (Varol, Mildner, Jung, 2015; Yona, Jung, 2010). Os macrófagos têm sido estudados há mais de cem anos, como um tipo de célula que possui funções bastante heterogêneas no sistema imunológico, além de ter envolvimento e importância nos mais diversos processos e respostas do organismo (Hopper, Wood, Nelson, 1979; Shapouri-Moghaddam *et al*., 2018).

2.5.1 A estrutura celular dos macrófagos

Os macrófagos são células fagocíticas que no estado basal possuem núcleo descentralizado, um citoplasma abundante e uma forma variável, geralmente oval, com contornos formado por uma membrana celular pregueada que produz reentrâncias e saliências que conferem ao macrófago um aspecto irregular com possibilidade de formar pseudópodes e de proporcionar um movimento ameboide para direcionar o seu movimento celular (Jessen, Moe, 1972; Junqueira, Carneiro, 2017). Diferem morfologicamente e fenotipicamente, em relação ao seu tamanho e forma, o que depende do tecido e órgãos onde se encontram e do estado de ativação, além disso, possuem numerosas vesículas, lisossomos e mitocôndrias; variável grau de vacuolização que dependem da formação de vesículas de pinocitose ou fagocitose que resultam da interação com a matriz extracelular e outros tipos de células (Gordon, Martinez, 2010; Jessen, Moe, 1972; Junqueira, Carneiro, 2017).

Os lisossomas, que os macrófagos possuem em seu citoplasma, acumulam numerosas enzimas hidrolíticas como as lipases, as nucleases e as glicosilases, e que possuem um pH variável que permitem essa célula fagocítica a digestão de partículas, como também, algumas enzimas que possibilitam a produção de espécies reativas de oxigénio (ROS) e de nitrogênio (RNS), que proporcionam atividade antimicrobiana (Appelberg, 2005; Junqueira, Carneiro, 2017). O núcleo do macrófago, em geral, apresenta uma forma ovalada ou irregular e sua cromatina apresenta-se condensada, muitas vezes, com densidade moderada na região central, ocasionando pequenos grânulos (Jessen, Moe, 1972; Junqueira, Carneiro, 2017;) (Figura 15).

Figura 15 — Micrografia eletrônica de um macrófago



Legenda: Micrografia eletrônica de um macrófago, apresentando a membrana pregueada e núcleo ovoide. L= Lisossomos, N= Núcleo, Nu= Nucléolo e Vacúolo fagocítico. Fonte: Junqueira, Carneiro, 2017.

A estrutura dos macrófagos, bem como, o perfil de citocinas secretadas, enzimas e marcadores de superfície, apresentam ligeiras variações que dependem da função e estágio de maturação e os macrófagos que são metabolicamente ativos, influenciam as funções locais e sistêmicas através da secreção de uma variedade de moléculas como as citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento (Taylor *et al*., 2005).

2.5.2 A origem dos macrófagos

A origem dos macrófagos advém de órgãos hematopoiéticos, como o saco vitelino, a medula óssea e o baço, entretanto, após o nascimento, sua formação ocorre na medula óssea (Appelberg, 2005; Epelman, Lavine, Randolph, 2014; Geissmann *et al*., 2010; Hoeffel, Ginhoux, 2018). Células do sistema hematopoiético apresentam um período curto de vida e necessitam de reposição constante através das células estaminais hematopoiéticas pluripotentes, que possuem capacidade de renovação e de se originarem em vários tipos celulares, através de diferenciação, após um estímulo adequado (Abbas, Lichtman, Pillai, 2019; Appelberg, 2005; Murray, Wynn, 2011). As células tronco, portanto, se diferenciam em monoblastos, que dão origem aos monócitos e quando presentes na circulação sanguínea se diferenciam em macrófagos (Abbas, Lichtman, Pillai, 2019; Das *et al*., 2015; Epelman, Lavine, Randolph, 2014). Durante o desenvolvimento do macrófago, essas células

especializadas podem se diferenciar em vários fenótipos, dependendo do objetivo e da necessidade de sua atuação (Solinas *et al*., 2009; Stout *et al*., 2005). Macrófagos podem ser estimulados a aumentar as suas funções efetoras, e assim, tornam-se ativados, com aumento de sua capacidade efetora, gerando um estado de ativação altamente flexível, que depende da localização do tecido e do microambiente (Gordon, Martinez, 2010; Solinas *et al*., 2009). A ativação se faz necessária para que os monócitos circulantes terminem a sua diferenciação em macrófagos, após serem recrutados pelos tecidos, uma vez que, monócitos são células muito suscetíveis a sofrerem alterações diante de um estímulo recebido (Benoit *et a*l., 2008; Gordon, Martinez, 2010).

2.5.3 Os fenótipos dos macrófagos

Os macrófagos quando ativados apresentam maior capacidade em suas funções como para secretar as diversas substâncias que participam do processo de defesa do organismo; para aumentar o número de vacúolos, de lisossomas e outras estruturas que podem resultar na modificação de sua morfologia, e, ou até mesmo, quando, após a sua fusão com outros macrófagos, formar as denominadas células gigantes multinucleadas (Locati, Curtale, Mantovani, 2020; Mosser, Edwards, 2008; Junqueira, Carneiro, 2017). A ativação dos macrófagos ocorre através de duas vias distintas: a via clássica e a via alternativa (Mosser, Edwards, 2008; Solinas *et al*., 2009). Essas duas vias originam macrófagos com diferentes atribuições e finalidades, a exemplo dos macrófagos denominados de M1 que são um resultado da sua ativação pela via clássica; ou os chamados macrófagos M2 que resultam da ativação através da via alternativa, no entanto, em ambos estados de ativação essas células necessitam funcionar em um estado de equilíbrio para que o sistema imunológico desenvolva suas atividades adequadamente (Geissmann *et al*., 2010; Locati, Curtale, Mantovani, 2020; Mosser, Edwards, 2008).

O fenótipo dos macrófagos M1, é ativado por infecção e citocinas desempenham um importante papel na proteção contra os agentes patogénicos intracelulares e células cancerígenas devido a sua grande atividade citotóxica e resposta imune que desencadeiam (Das *et al*., 2015; Geissmann *et al*., 2010, Solinas *et al.*, 2009). Os macrófagos M1 apresentam uma potente atividade microbicida, inflamatória, com elevada capacidade para realizar a fagocitose e secretar

mediadores pró-inflamatórios como o fator de necrose tumoral- alfa (TNF-α), a interleucina-1 (IL1), IL-6, Il-12, IL-23, quimiocinas, espécies reativas de oxigênio (ROS) e espécies reativas de nitrogênio (RNS), tal como, o óxido nítrico (NO), além do que a expressão de altos níveis de antígenos das classes I e II do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) permite que macrófagos M1, funcionem como células apresentadoras de antígenos (Lasser, 1983; Shapouri-Moghaddam *et al*., 2018; Gordon, 2016).

Enquanto, a ativação dos macrófagos em M2, proporcionam atividades anti-inflamatórias, imunorreguladores e são polarizados por citocinas Th2, como IL-4, IL-10 e IL-13 e secretam altas quantidades de TGF-β e contribuem com a supressão da inflamação, com o reparo do tecido, remodelação, vasculogênese e na manutenção da homeostase (Lasser, 1983; Shapouri-Moghaddam *et al*., 2018; Wynn, Chawla, Pollard, 2013, Murray, Wynn, 2011; Das *et al*., 2015). Estímulos como o interferon-gama (IFN-γ), o TNF-α, os receptores "*Toll-like*" (TLR), e lipopolissacarídeos (LPS) proporcionam a mediação da ativação clássica dos macrófagos, enquanto, a interleucina-4 (IL-4) e IL-13, que atuam pelo do receptor IL-4R, mediam a ativação alternativa (Gordon, 2003; Serbina *et al*., 2008).

A ativação alternativa do macrófago que origina o macrófago M2, tem a incumbência de promover a limpeza de possíveis detritos e a importante função de atuar na resolução da inflamação (Locati, Curtale, Mantovani, 2020; Murray, Wynn, 2011; Wynn, Chawla, Pollard, 2013). O funcionamento correto e proteção do organismo, depende muito, entre outros fatores, do equilíbrio entre as populações de macrófagos M1 e M2, para evitar situações patológicas, que levem a indução de doença inflamatória crónica ou a imunossupressão e a heterogeneidade fenotípica dos macrófagos depende do microambiente onde está inserido, de citocinas e de fatores de crescimento (Locati, Curtale, Mantovani, 2020; Mosser, Edwards, 2008; Pollard, 2009).

2.5.4 Funções dos macrófagos

Ao longo dos anos, descobriu-se que macrófagos realizam inúmeras funções como a fagocitose de partículas estranhas e microrganismos invasores, o desenvolvimento de ação microbicida, a apresentação de antígenos para células do sistema adaptativo, produção de mediadores químicos que interferem na função

imunológica e todas essas atuações que realizam visam garantir a defesa e ajudar na manutenção da homeostase tecidual e imune do organismo (Kumar, 2019; Oishi, Manabe, 2018; Shi, Pamer, 2011).

As várias atuações dos macrófagos envolvem: a manutenção da homeostase de tecidos e organismos, a patogênese da inflamação, câncer, doenças autoimunes, infecção e a geração de resposta imune relacionada aos transplantes de órgãos (Asmis, 2016; Kumar, 2020). Os macrófagos são encontrados em vários tecidos do corpo humano possuem a capacidade de reconhecer os sinais de perigo no organismo por meio da utilização de moléculas sensíveis, que são os diversos receptores existentes nos macrófagos teciduais e que refletem a adaptação local dessas células, como também pela utilização das citocinas e moléculas de adesão que tem capacidade de induzir e programar uma atuação especializada (Gordon, Taylor, 2005; Davies, Taylor, 2015). Enquanto, células efetoras críticas do sistema imune inato, os macrófagos desempenham papéis fundamentais no reconhecimento e eliminação de microrganismos patogênicos invasores, pelo processo da fagocitose, além da secreção das citocinas, quimiocinas e mediadores antimicrobianos para responder diante da presença de patógenos ou sinais de perigo (Abbas, Lichtman, Pillai, 2019; Hume, 2006; Osei saahene, Barnes, Victor Nuvor, 2022; Asmis, 2016).

Macrófagos podem atuar como células apresentadoras de antígenos (APC), ao utilizar o complexo principal de histocompatibilidade (MHC) para ativar outros tipos celulares envolvidos na resposta imune celular contra patógenos invasores (Abbas, Lichtman, Pillai, 2019; Hume, 2006; Osei saahene, Barnes, Victor Nuvor, 2022; Varol, Mildner, Jung, 2015). Além, de combater microrganismos patogênicos invasores, os macrófagos promovem a limpeza de detritos; atuam na coordenação os processos que iniciam a fase de formação de novos tecidos que ocorre após a lesão, como na remodelação da matriz extracelular e no preparo da estrutura que visa a regeneração decorrente da promoção da angiogênese juntamente com a participação de outras células do sistema imune (Wynn, Vannella, 2016; Varol, Mildner, Jung, 2015).

De acordo com Varol, Mildner, Jung, (2015), macrófagos são células do sistema imunológico especializadas em realizar a fagocitose, neutralizar detritos celulares e agentes potencialmente perigosos, que incluem os patógenos intracelulares. Os macrófagos, dependendo de sua origem, podem atuar como fagócitos monocíticos diferenciados terminalmente, que, ao se infiltrar nos tecidos durante a inflamação, formam populações polarizadas para desempenhar atividades pró-inflamatórias ou

anti-inflamatórias, e, como macrófagos residentes, que constituem uma população não homogênea, mas que formam um agrupamento de células em diversos tecidos com funções e fenótipos semelhantes (Murray *et al*., 2014; Wu, Hirschi, 2021; Wynn, Chawla, Pollard, 2013).

Os macrófagos, são células fundamentais que iniciam a inflamação ao identificar padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) e padrões moleculares associados a danos ou perigos (DAMPs), através de estímulos recebidos em seus receptores de reconhecimento padrão (PRRs), presentes em sua superfície e que ativam as cascatas de sinalização intracelular para atuar na defesa do organismo, na resolução da inflamação, na remoção de detritos celulares para facilitar a regeneração tecidual e na cicatrização de feridas (Abbas, Lichtman, Pillai, 2019; Hume, 2006; Osei saahene, Barnes, Victor Nuvor, 2022; Watanabe *et al*., 2019). Macrófagos teciduais, enquanto células não migratórias, monitoram o ambiente local em sua proximidade e exercem suas funções efetoras no local onde se encontram (Varol, Mildner, Jung, 2015; Wynn, Vannella, 2016).

As células macrofágicas, portanto, possuem um grau elevado de funções específicas que provém de suas diversas origens e que podem variar de acordo com o local do tecido em que estão presentes (Oishi, Manabe, 2018). Desse maneira, os macrófagos podem realizar a resposta imune primária contra patógenos invasores, interagir com a imunidade adaptativa e coordenar a resposta imune adaptativa, atuando na homeostase tecidual e imunológica, como na inflamação, regeneração e reparo dos tecidos (Oishi, Manabe, 2018; Martinez, Helming, Gordon, 2009). Mamilos *et al*., (2023), afirmam que o papel fisiopatológico dos macrófagos mudou muito nas últimas décadas, e seus diferentes fenótipos proporcionam ações e papéis cruciais e decisivos no organismo, que podem ocorrer de forma protetora ou patogênica de acordo com as variadas atividades e mecanismos em que participam.

Varol, Mildner, Jung, 2015 mencionam que para cumprir o papel de guardiões, os macrófagos teciduais são equipados com uma vasta gama de moléculas sensíveis para o reconhecimento de microrganismos e para responder a uma grande variedade de estímulos. Entre os vários receptores exibidos pelos macrófagos que se destacam por suas diversas funções estão os receptores de reconhecimento padrão (PRR), que medeiam interações com antígenos microbianos; os receptores TLR que estão envolvidos na detecção da invasão de agentes patogênicos microbianos e transdução de sinais moleculares; os receptores de manose (MR), que estão envolvidos no

reconhecimento de patógenos e na apresentação de antígenos, além de outras funções; os receptores "*scavenger*"" (SR), que também participam na defesa do organismo (Appelberg, 2005; Takeda, Akira, 2005; Taylor *et al*., 2005). Os macrófagos também utilizam outros receptores como: os receptores de lectina tipo C, receptores tipo RIG-I-*like*, receptores Nod-*like*, receptores de hormônios nucleares e citocinas e moléculas de adesão. (Elomaa *et al*., 1998; Takeda, Akira, 2005; Taylor *et al* 2005; Varol, Mildner, Jung, 2015). O repertório desses receptores, entretanto, varia entre os macrófagos teciduais e provavelmente reflete a adaptação local (Gordon, Taylor, 2005).

O reconhecimento de diferentes receptores influencia a resposta macrofágica e leva às alterações na superfície celular para promover a captação de uma partícula, ou a ativação de diferentes vias de sinalização e fatores de transcrição que são fundamentais para a resposta específica referente à situação enfrentada (Manicassamy, Pulendran, 2009; Perdiguero, Geissmann, 2013). Em geral, o reconhecimento de um receptor macrofágico geralmente contribui para homeostase e defesa do organismo que resultam em processos que levam a eliminação de células apoptóticas ou de microrganismos, bem como, na captação de lipoproteínas modificadas, ou na contribuição com o processo inflamatório, como nos processos de reparação associada a aterosclerose (Taylor *et al*., 2005; Geissmann *et al*., 2010).

Conforme, Varol, Mildner, Jung, 2015, a plasticidade e a polarização funcional são importantes características dos macrófagos, no entanto, a expressão de sensores torna os macrófagos responsivos a mudanças em seu ambiente, além de envolver o risco de hiperativação dos macrófagos, fato que pode causar danos colaterais resultantes. O importante papel exercido pelos macrófagos, muitas vezes, torna essa célula como o principal alvo da intervenção terapêutica, porém várias questões-chave ainda permanecem sem resposta (Varol, Mildner, Jung, 2015).

Entre as células do sistema imunológico, o macrófago se mostra como um tipo de célula fundamental, por desempenhar diversos papéis que são importantes e variados nas diversas fases da inflamação, da cura, ou na remodelação patológica (Oishi, Manabe, 2018). Considerados sentinelas do sistema imunológico, os macrófagos, portanto, atuam como defensores do organismo ao exercer diversas funções que levem, por exemplo, a destruição de patógenos invasores, como alguns protozoários e ou células apoptóticas e senescentes (Franken, Schiwon, Kurts, 2016; Oishi, Manabe, 2018).

2.5.5 Macrófagos e as junções comunicantes

As GJs formadas pelas proteínas Cx43 encontram-se presentes em quase todas as células do sistema imunológico e ao atuar em diferentes processos celulares, fisiológicos e fisiopatológicos, resultam na interferência de vários aspectos que fornecem informações para uma resposta imune adequada (Gleisner *et al*., 2017; Oviedo-Orta, Howard Evans, 2004; Valdebenito, Barreto, Eugenin, 2018). As GJs proporcionam a troca direta de informações biológicas ao ligar o citoplasma de células adjacentes e possibilitar que as células, tecidos, órgãos e sistemas trabalhem em sincronia e de modo integrado para modular as respostas imunes de acordo com os estímulos recebidos do microambiente (Neijssen, Pang, Neefjes, 2007; Ribeiro-Rodrigues *et al*., 2017; Valdebenito, Barreto, Eugenin, 2018).

Macrófagos são as células presentes em diferentes tecidos, principalmente naqueles afetados por diferentes estados de doenças inflamatórias, possibilitam a proximidade célula a célula para permitir a realização de contatos intercelulares necessários para desencadear as diferentes respostas imunes e para exercer algumas outras de suas funções relevantes (Eugenín *et al*., 2003; Glass, Snyder, Taffet, 2015; Neijssen, Pang, Neefjes, 2007). A expressão de Cx43 em macrófagos permite a formação dos GJICs que se juntam para formar uma placa de GJ que possibilitam a comunicação intercelular entre células adjascentes para fornecer, consequentemente, uma resposta imune local e sistêmica eficiente (Eugenín, 2014; Kielian, 2008; Laird, 2006; Oviedo-Orta, Howard Evans, 2004).

A investigação sobre a existência das junções comunicantes em macrófagos se iniciou através de vários estudos e experimentos que buscavam observar e comprovar as questões envolvidas na transferência de partículas de uma célula para outra, tanto em macrófagos, como entre macrófagos e outros tipos celulares, conforme mostram os diversos estudos realizados na época e mencionados na literatura (Kane, Bols, 1980; Levy *et al*., 1976; Porvaznik, MacVittie, 1979). Os estudos de Levy, *et al* (1976) comprovaram a existência de junções comunicantes em macrófagos na década de 70, ao avaliarem macrófagos, através de diversos experimentos em ensaios de fagocitose e apresentação de antígenos, eletrofisiologia, microscopia eletrônica de transmissão e de varredura. Levy, *et al.,* (1976) observaram regiões de grande contato entre as células, ao qual denominaram de “*close junctions”*

e nos dados eletrofisiológicos verificaram que havia o acoplamento elétrico entre os macrófagos que estavam orientados de forma linear. Porvaznisk, Macvittie, (1979), também, realizaram estudos, no final da década de 70, em células progenitoras de macrófagos, oriundas da medula óssea de cães e identificaram a presença de regiões com junções comunicantes ao utilizar a microscopia eletrônica de transmissão. Na década de 80, vários questionamentos posteriores, surgiram a respeito da existência e funcionamento de junções comunicantes em macrófagos (Kane, Bols, 1980; Dean *et al*.,1988). No entanto, Beyer, Steinberg, (1991) conseguiram demonstrar que macrófagos de camundongo e células da linhagem macrofágicas J774, possuíam a mensagem para expressar Cx43, ao utilizar técnicas de transferência eletroforética de ácidos nucleicos e de proteínas.

Mais tarde, Alves *et al*., (1996) realizaram experimentos com injeção intracelular de corantes e demonstraram que macrófagos peritoneais de camundongo e células da linhagem macrofágica J774-A1 não apresentavam a passagem do corante para células adjascentes, apesar de expressarem Cx43. Porém, os experimentos Alves *et al*., (1996) não detectaram a passagem de corrente entre as células envolvidas e concluíram que o canal formado não era funcional, apesar da proteína do complexo juncional encontrar-se presente. Entretanto, Saéz *et al*., (2000), realizaram experimentos com a linhagem macrofágica J774-A1 e observaram a ocorrência do acoplamento celular ao utilizar injeção intracelular de corante, somente quando implementaram um tratamento prévio com meio de cultura condicionado. Dessa forma, Saéz *et al*., (2000), sugeriram que a presença de fatores utilizados no meio de cultura, seriam os responsáveis pela modulação da comunicação juncional em macrófagos.

Eugenin *et al*., (2003), realizaram experimentos com monócitos e macrófagos provenientes do sangue humano e somente verificaram a presença de junções comunicantes funcionais, após decorrido o período de 24 de incubação com os fatores pró-inflamatórios, como o interferon-γ (INF- γ) associado ao fator de necrose tumoral (TNF-α) e INF- γ associado a presença de lipossacarídeos (LPS). Entretanto, Fortes (2004), demonstrou a expressão de junções comunicantes funcionais sem a necessidade de qualquer tratamento prévio com citocinas, nos experimentos realizados com as células da linhagem macrofágica J774-G8 e macrófagos peritoneais provenientes de camundongos suíços, em ensaios como a reação de transcriptase reversa seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR), e

a imunodetecção de proteínas por *Western blot*, imunofluorescência e injeção de corantes.

Segundo Valdebenito, Barreto, Eugenín, (2018) inicialmente, os estudos controversos sobre GJs e HCs de conexina, não encontraram evidências confiáveis acerca da expressão e função, devido à rápida degradação das Cxs em células imunes ativadas. Porém, muitos laboratórios e publicações concluíram que as conexinas são afetadas negativamente em células parenquimatosas sob condições inflamatórias (Eugenín, 2014; Oviedo-Orta, Howard Evans, 2004). Além disso, os estudos dos últimos dez anos, revelaram que a regulação das GJs e HCs de conexina se processa de modo diferente em diversas células imunes e que a expressão das Cxs, a formação e abertura dos canais juncionais, detectados durante a ativação imune e inflamação, atuam na coordenação das respostas imunes inatas e adaptativas (De Carvalho *et al*., 2021; Eugenín, 2014; Kielian, 2008).

2.5.6 Interação entre o macrófago e a *Leishmania*

No hospedeiro mamífero, os macrófagos possuem função na identificação, fagocitose e eliminação de microrganismos patogênicos invasores, porém diante da infecção por *Leishmania*, de acordo com seu estado de ativação, esses fagócitos desempenham um importante e fundamental papel no combate ao invasor, mas também proporcionam um nicho seguro com as condições necessárias para a permanência do parasita em seu interior (Tomiotto-Pellissier *et al*., 2018). Na busca das condições necessárias que permitam desenvolver seu ciclo de vida, a *Leishmania* utiliza diferentes estratégias para manipular o sistema imunológico do hospedeiro mamífero visando alcançar um nicho vacuolar seguro no macrófago que permita sua sobrevivência e estabelecer o processo infecioso no hospedeiro mamífero (Chang *et al*., 2003).

A infecção por *Leishmania* spp. abrange um amplo espectro de sintomas e a heterogeneidade das manifestações clínicas resulta, principalmente, da interação complexa entre a resposta imune e características genéticas do hospedeiro mamífero, como da espécie infectante do parasita, visto que a *Leishmania* possui características diferenciadas de infectividade e virulência relacionadas com seu gênero, complexo, espécie e subespécies (Andrade-Narvaez *et al*., 2016; Gupta *et al*., 2022; Kaye, Scott, 2011; Murray *et al*., 2005). Os parasitas de *Leishmania* spp. necessitam interagir e

superar uma variedade de obstáculos para estabelecer a infecção dentro dos fagolisossomos dos macrófagos e conseguir sobreviver (Chang, Chaudhuri, Fong, 1990; McGwire, Chang, Engman, 2003).

Desde o início, na interação com o hospedeiro mamífero, durante o repasto sanguíneo, o parasita se utiliza da saliva depositada pelos flebotomíneos como um mecanismo para contribuir no processo de infecção, visto que a saliva possui efeitos hemostáticos e imunomoduladores que auxiliam e afetam a infectividade e o potencial de patogenicidade do parasita de *Leishmania* (Titus, Ribeiro, 1988). A saliva do flebotomíneo age como um atrativo e proporciona um aumento na migração de células inflamatórias para o local para proporcionar uma maior interação entre a *Leishmania* e as potenciais células hospedeiras que possam abrigar o invasor (Fayaz *et al*., 2022). O local da picada é composto por um infiltrado inflamatório que contém a presença de vários tipos celulares como neutrófilos, macrófagos, células dendríticas (DCs), fibroblastos e células de Langerhans, entretanto, os macrófagos são as células consideradas como as mais importantes para o estabelecimento da infecção (Handman, Bullen, 2002; Peters *et al*., 2008; Serafin, 2018).

Os mecanismos e estratégias utilizados pela *Leishmania* para favorecer sua sobrevivência e obter sucesso no estabelecimento da infecção no hospedeiro vertebrado são muito variados, sendo os estágios iniciais da infecção o período mais importante que podem interferir no sucesso e progresso do processo infeccioso (Chang *et al*., 2003; Conceição-Silva, Leite-Silva, Morgado, 2018). O sucesso da infecção por *Leishmania* dependerá da atuação do sistema imunológico do hospedeiro e da capacidade do parasita para manipular as estratégias de defesa do hospedeiro vertebrado em seu próprio benefício (Cecílio *et al*., 2014; Conceição-Silva, Leite-Silva, Morgado, 2018; Gupta *et al*., 2022; Oghumu *et al*., 2010). É essencial, portanto, que o parasita escape do seu primeiro desafio que é o ataque do complemento e entre rapidamente em uma célula fagocítica para evitar a lise celular e, por isso, o parasita aproveita o processo de opsonização (Fernandes, Zamboni, 2024). A ligação e internalização dos promastigotas metacíclicos de *Leishmania*, durante o evento endocítico, é um processo mediado por receptores que envolve fatores derivados do soro, do parasita e das células hospedeiras (De Morais *et al.*, 2015). Quando os promastigotas metacíclicos encontram as moléculas de defesa do hospedeiro vertebrado, como os componentes do soro, podem ser opsonizados por componentes

do complemento e são rapidamente fagocitados pelas diversas células presentes no local (Descoteaux, Turco, 1999; Dos Santos Meira, Gedamu, 2019).

Durante o processo de invasão, a *Leishmania* se liga a uma variedade de receptores existentes na superfície das células do hospedeiro, como aos receptores do complemento CR1 e CR3, receptores Fc gama (Fcy), receptores de manose/fucose (MR) e receptores de fibronectina (FnRs), e os receptores de lectina, entre outros para possibilitar a internalização por fagocitose (Cunningham, 2002, McConville, Naderer, 2011). A opsonização com C3b que se liga aos receptores CR1 e de C3bi que se liga respectivamente aos receptores CR1 e CR3 do macrófago, constitui a forma predominante de entrada do parasito na célula macrofágica (Alexander, Satoskar, Russell, 1999). Ao utilizar os receptores CR1 e CR3, o parasita pode obter vantagem na sua sobrevivência por ser fagocitado pelo macrófago sem ativar a explosão oxidativa, pode conseguir implementar alguns mecanismos que suprimem as principais funções microbicidas e imunológicas dos macrófagos (Jaramillo *et al*., 2011). Wei *et al*., (2024) afirmam que a ligação entre os diferentes receptores pode desencadear diferentes vias de sinalização do hospedeiro que poderão regular a sobrevivência *de Leishmania* e o desenvolvimento intracelular. Os receptores da superfície de macrófagos, portanto, desempenham importantes papéis na ligação e fixação dos promastigotas à célula hospedeira e o grande número de receptores implicados revela a importância entre as interações do parasita e macrófago (Brittingham, *et al*., 1999, Kane, Mosser, 2000).

A *Leishmania,* para promover a infectividade, realizar o parasitismo intracelular e inibir a resposta imune do hospedeiro, utiliza os diversos fatores de virulência individuais que estão presentes em seu glicocálice e que variam de acordo com a espécie e estágio do ciclo de vida do parasita (Elmahallawy, Alkhaldi, 2021; Vannier-Santos, Martiny, De Souza, 2002). Segundo Wei *et al*., (2024), os diferentes estágios do ciclo de vida de *L. amazonensis,* possuem variações no seu glicocálice entre tamanho e composição e podem desencadear diferentes eventos de sinalização durante a fagocitose e sobrevivência do parasita no interior do macrófago. Entre as principais moléculas que atuam como fatores de virulência do parasita e que estão presentes na superfície de *Leishmania* e participam da interação com o hospedeiro, encontramos: (1) O lipofosfoglicano (LPG), uma molécula altamente expressa na superfície dos promastigotas metacíclicos e que evita a etapa final da cascata do complemento; (2) A metaloprotease dependente de zinco que é a glicoproteína 63 ou

leishmanolisina (Gp63), é uma molécula de superfície que previne a ligação do complemento à superfície do parasita e que também está envolvida na proteção do parasita contra enzimas proteolíticas presentes no fagolisossomo do hospedeiro; (3) O proteofosfoglicano (PPG), uma molécula de superfície presente no parasita, que é particularmente importante no processo de invasão nos macrófagos pelos amastigotas *de Leishmania*, e (4) A molécula glicosilinositolfosfolipídeo (GILP), um componente do glicocálice, essencial para a forma amastigota, por possuir uma ação na supressão da expressão de óxido nítrico sintase induzível (iNOS) do macrófago e que consequentemente interfere na produção de óxido nítrico (NO) (Bogdan, Röllinghoff, Solbach, 1996; Chang *et al*., 2003; De Morais *et al.*, 2015; Vannier-Santos, Martiny, De Souza, 2002; Wanderley *et al*., 2006).

Os inúmeros fatores de virulência presentes na superfície do parasita facilitam as diversas etapas do processo infeccioso no hospedeiro mamífero (Chang *et al*., 2003). Os fatores de virulência contribuem para facilitar a capacidade e sucesso *de Leishmania* em colonizar sua célula hospedeira, por conseguirem alterar a resposta imune inata pela modulação negativa das funções microbicidas dos macrófagos, como induzir a secreção de citocinas e moldar o vacúolo parasitóforo (VP), o local onde *a Leishmania* se abriga e se replica no interior do macrófago (Chang *et al*., 2003; Wanderley *et al*., 2006). O vacúolo parasitóforo (VP) que a *Leishmania amazonensis* ocupa no macrófago apresenta grandes proporções (Benchimol, De Souza, 1981; Real, Mortara, 2012). Duclos, Desjardins, (2000), afirmam que os enormes VP de *Leishmania amazonensis*, provavelmente, levam a diluição e redução na eficácia das enzimas hidrolíticas, provenientes da fusão do VP com lisossomos, também chamado de fagolisossomo, uma vez que, a redução das enzimas hidrolíticas facilita a rápida diferenciação dos estágios de vida de promastigotas metacíclicos para amastigotas. No interior do macrófago, a *Leishmania* necessita se diferenciar no estágio de amastigota para conseguir sobreviver no ambiente hostil do fagolisossomo, pois os amastigotas são as formas do parasita mais bem adaptados para lidar com o aumento da temperatura; a diminuição do pH e a presença de agentes microbicidas, tais como: os peptídeos antimicrobianos, as espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ROS e RNS) e as citocinas envolvidas na resposta inflamatória (Cecílio *et al*., 2014; Conceição-Silva, Leite-Silva, Morgado, 2018; Kima, 2007; Kulkarni *et al.*, 2006).

Os amastigotas de *Leishmania* evitam sua degradação no fagolisossomo por utilizar diversas estratégias e adaptações para prevenir os mecanismos de defesa

celular do macrófago, evitar a ativação da resposta imune e obter proteção de um nicho seguro em seu interior (Cunningham, 2002). Os macrófagos quando ativados, promovem a indução e a liberação de uma série de moléculas e citocinas pró-inflamatórias, além de outras toxinas mediadoras que promovem dano tecidual, quando produzidas em excesso, no entanto, a resposta inflamatória geralmente é seguida pela resposta antiinflamatórias para conduzir um equilíbrio na resposta imune implementada objetivando a redução de danos ao hospedeiro (Tomiotto-Pellissier *et al*., 2018).

As estratégias que a *Leishmania* utiliza no interior do macrófago, permitem alterar principalmente os mecanismos envolvidos na resposta inflamatória da célula hospedeira, como: a alteração na produção de enzimas hidrolíticas, a alteração das vias de sinalização celular, a produção de moléculas microbicidas, como o óxido nítrico, e uma série de citocinas e quimiocinas (Cunningham, 2002; Real, Mortara, 2012). A *Leishmania*, portanto, possui habilidades para modular no interior do fagolisossomo, determinadas e importantes vias de sinalização celular sem causar prejuízo ao macrófago, o que possibilita ao parasita inibir a atuação de enzimas hidrolíticas que seriam nocivas a sua sobrevivência, como também, facilita a obtenção e acesso aos nutrientes do hospedeiro (Cecílio *et al*., 2014; Cunningham, 2002; Martínez-López et al, 2018).

Outra estratégia utilizada para a internalização dos parasitas de *Leishmania* é o mecanismo do mimetismo apoptótico, que possibilita a entrada silenciosa do parasita na célula hospedeira por meio de receptores celulares apoptóticos (Wanderley, DaMatta, Barcinski, 2020). A exposição da molécula de fosfatidilserina (PS) no folheto externo da membrana citoplasmática não permite a ativação dos processos microbicidas ou das respostas pró-inflamatórias do fagócito, por simular a morte do parasita de *Leishmania* (Chang *et al*., 2003; Wanderley, DaMatta, Barcinski, 2020). Os amastigotas de *Leishmania* empregam a estratégia de externalização de moléculas de PS para serem fagocitados por outros macrófagos de maneira silenciosa e assim estabelecer e progredir com a infecção no hospedeiro mamífero (De Freitas Balanco *et al*., 2001). A exposição de PS é uma importante estratégia na interação entre hospedeiro e patógeno, uma vez que contribui para a patogênese e manutenção da doença, além de proporcionar ao parasita sua persistência na célula hospedeira (Wanderley, DaMatta, Barcinski, 2020; Wanderley *et al*., 2006).

O maior impacto do mimetismo apoptótico está relacionado com o óxido nítrico, a principal molécula microbicida que sofre uma redução na sua produção, o que consequente interfere na atividade antiparasitária (James, 1995). O reconhecimento de PS na superfície dos parasitas de *Leishmania* é uma estratégia fundamental para a absorção do amastigota pelos macrófagos, que induz um estado permissivo ao parasita na célula hospedeira e contribui para seu crescimento e manutenção intracelular (De Freitas Balanco *et al*., 2001; Wanderley *et al*., 2006; Wanderley *et al*., 2013; Wanderley *et al*., 2020). De acordo com Fernandes, Zamboni, (2024), modular a morte celular da célula hospedeira permite que a *Leishmania* possa alterar diretamente a resposta imune do hospedeiro para manter seguro seu nicho replicativo.

Chang *et al*., (2003), referem que os amastigotas de *Leishmania* internalizados conseguem regular várias atividades do macrófago durante o processo infeccioso da leishmaniose, inclusive podem retardar a morte celular programada da célula hospedeira por um período de até 24h, para conseguir sobreviver intracelularmente, manter e desenvolver a infecção sob a proteção do macrófago. No entanto, esses parasitas não conseguem evitar a morte fisiológica do macrófago, e logo que a célula hospedeira emite sinais de alerta da iminente apoptose, a *Leishmania* utiliza um outro meio para escapar e realizar a transferência dos amastigotas da célula apoptótica para nova célula macrofágica (Real *et al*., 2014). Real *et al*., (2014) relatam que a transferência acontece sem a expor o parasita ao meio extracelular, já que os amastigotas são extrudados da célula hospedeira dentro de bolhas envolvidas por uma membrana rica em componentes da membrana fagolisossomal e logo fagocitados por outros macrófagos próximos.

Olivier, Gregory, Forget, (2005), ressaltam que os macrófagos, enquanto células efetoras desempenham papéis centrais na resposta imune inata e que também atuam na iniciação e implementação das respostas imunes adaptativas, ao contribuir e cooperar com outras células imunes para complementar a defesa do hospedeiro na fase inicial da imunidade adaptativa. Durante a iniciação e implementação das respostas imunes adaptativas, os macrófagos podem provocar interferência, em diferentes níveis de sua atuação, visando interromper a capacidade do macrófago de apresentar os antígenos do parasita a outros componentes do sistema imunológico (Kolářová, Valigurová, 2021).

Os macrófagos infectados com *Leishmania amazonensis* apresentam a expressão de moléculas do MHC classe II em níveis normais (Lang *et al*., 1994). Em

alguns estudos realizados, verificou-se ocorrer uma inibição na apresentação de antígenos, devido haver diversas interferências, como no carregamento de antígenos em moléculas de MHC classe II; ou no sequestro da molécula de MHC classe II; ou no sequestro de antígenos dentro do fagolisossomo, ou mesmo, através da endocitose direta e degradação de moléculas de MHC classe II pelos amastigotas infectados (De Souza Leao *et al.*, 1995, Lang *et al*., 1994; Prina *et al*., 1993). Portanto, os amastigotas de *Leishmania*, podem interferir no processo de sua eliminação pelo macrófago ao sequestrar e degradar os antígenos da via MHC II, ou regular negativamente a expressão de MHC classe II e de moléculas coestimulatórias do macrófago, ou inibir a migração de macrófagos para os linfonodos de drenagem, local onde os macrófagos interagem com linfócitos T no processo de apresentação de antígenos (Cecílio *et al*., 2014; Martínez-López *et al.*, 2018).

Todas as complexas e estratégias são resultados de um longo e contínuo processo coevolutivo entre o parasita e o hospedeiro que permitem a *Leishmania* escapar, subverter e manipular o sistema imunológico do hospedeiro mamífero a seu favor para promover sua sobrevivência e estabelecer o processo infeccioso no hospedeiro mamífero (Cecílio *et al*., 2014; Cunningham, 2002). Os macrófagos são as células fundamentais que podem eliminar ou permitir o crescimento do parasita intracelular e a progressão da doença (Olivier, Gregory, Forget, 2005). Um conhecimento detalhado sobre as dinâmicas interações entre o macrófago e parasita, pode ajudar na elaboração de estratégias profiláticas e terapêuticas contra essa infecção que afeta grande parte da população mundial.

3 JUSTIFICATIVA

A interação entre o parasita e o hospedeiro é complexa e envolve diversos fatores que necessitam ser mais bem compreendidos e elucidados como determinados aspectos da doença que resultam da interação entre o parasita-hospedeiro e o sistema imune no tipo de resposta dada pelo hospedeiro à infecção (Stamper *et al*., 2019). Nos últimos anos, apesar de existirem várias informações sobre a patogênese da leishmaniose, mesmo assim, alguns mecanismos imunológicos e etiopatogênicos permanecem pouco esclarecidos (Amato *et al*., 2003; Costa-da-Silva et al., 2022).

O projeto proposto está associado a três grandes perguntas relacionadas com a observação de mecanismos experimentais referentes à comunicação celular, pela participação das junções comunicantes, como também, às pesquisas que poderão ser realizadas com outros grupos, tendo como objetivo o desenvolvimento de futuros mecanismos que possam ser aplicados no tratamento da leishmaniose. Desse modo, são pertinentes os questionamentos que embasam nossa justificativa.

O primeiro questionamento refere-se ao verdadeiro papel funcional das estruturas de caráter juncional em macrófagos, representados por células de linhagem macrofágica, o que até o presente momento carece de estudos que fundamentem cientificamente estas estruturas no sistema imunológico.

A segunda pergunta refere-se à interação de protozoários com células fagocíticas, como os macrófagos, e o papel da comunicação juncional neste processo, podendo explicar possíveis mecanismos de controle da infecção pela *Leishmania (L.) amazonensis*.

E a última pergunta está associada à possibilidade do desenvolvimento de fármacos que estejam relacionados com a ação direta das junções comunicantes neste processo de infecção, e que atuem de alguma forma, na interrupção do processo de infeccioso.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Com base nas justificativas apresentadas, foi definido como objetivo geral:

Avaliar a modulação estrutural das junções comunicantes (GJ) formadas por conexina 43 em linhagens macrofágicas J774-G8 no microambiente da infecção causada pela forma promastigota metacíclica de *Leishmania (L.) amazonensis*, nos períodos de observação de 24h, 48h e 72h após a infecção pelo parasita.

4.2 Objetivos específicos

Para tanto, foram definidos como objetivos específicos:

Avaliar alterações referentes ao crescimento e morfologia celular em células de linhagem macrofágica J774-G8 infectadas por *Leishmania (L.) amazonensis*.

Verificar a expressão da proteína conexina 43 (Cx 43) em células de linhagem macrofágica J774-G8 não infectadas e quando infectadas pelo protozoário *Leishmania (L.) amazonensis*.

Pesquisar e analisar a localização da proteína Cx 43 em células da linhagem macrofágica J774-G8 não infectadas e na presença da infecção pelo parasita de *Leishmania (L.) amazonensis.*

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Obtenção das células de linhagem macrofágica J774-G8

A linhagem de células macrofágicas J774-G8 (Unkeless *et al*., 1979), derivada da linhagem americana original J774-A1 obtida de camundongo (*American Type Culture Collection - ATCC*, *Rockville*, MD), foi cedida pelo Laboratório de Pesquisa em Timo na Fundação Oswaldo Cruz - Instituto Oswaldo Cruz.

5.2 Manutenção da cultura celular da linhagem macrofágica J774-G8

Utilizou-se garrafas plásticas de poliestireno específicas de cultura de células de 25 cm^2 (*CORNING* / *USA*) com meio de cultura com volume de 4 mL de RPMI Medium 1640 (Gibco® *by Life Technologies™ Corporation*), suplementado com 10% de SFB inativado (soro fetal bovino - Invitrogen Gibco® *Corporation*, Nova York, Estados Unidos), penicilina 1000 UI/mL (Sigma- Aldrich) e estreptomicina 100 UI/mL (Sigma- Aldrich) para o cultivo da linhagem J774-G8. As células J774-G8 permaneceram nas garrafas em cultura na estufa úmida (*ESCO – Cell Culture* / CO_2 *INCUBATOR*) à temperatura de 37° C e atmosfera úmida de 5% de CO_2 até o dia em que foi realizada a troca do meio de cultura, no dia após o repique e subsequentemente em intervalos de 48 horas.

Os experimentos foram realizados com a cultura das células J774-G8 em confluência. O plaqueamento das células, foi realizado com uma densidade inicial de $1x10^6$ células/mL.

No decorrer do período de realização dos experimentos, todas as culturas celulares foram observadas e fotografadas no microscópio óptico invertido (microscópio de epifluorescência *AXIOVERT 40 CFL Plus Carl ZEISS - Photo microscope*).

5.3 Obtenção da Cultura da *Leishmania (L.) amazonensis*

A cepa das formas promastigotas de *Leishmania (L.) amazonensis* (WHOM / BR / 1989 / 166 MJO) foi gentilmente cedida pelo Laboratório de Ultraestrutura Celular

Hertha Meyer (Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho-IBCCF/ Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ).

5.4 Manutenção da Cultura da *Leishmania (L.) amazonensis*

Os parasitas de *Leishmania (L.) amazonensis* na forma promastigota foram cultivados, manipulados e mantidos em cultura. As formas promastigotas de *Leishmania (L.) amazonensis* foram mantidas em garrafas de plástico de poliestireno para cultura celular de 25 cm^2 (*CORNING / USA*) com 5 mL de meio de cultura WARREN (*BHI - Brain Heart Infusion* - Sigma®), acrescido de 20 µg/L hemina (Sigma®) e 10 µg/mL ácido fólico (Sigma®). As culturas celulares dos parasitas foram acondicionadas em incubadora (*Ethiktechnology* – incubadora 430) com temperatura à 26°C.

O repique da cultura do parasita de *Leishmania (L.) amazonensis* nas formas promastigotas ocorreu a cada cinco dias e os parasitas de *Leishmania (L.) amazonensis* nas formas promastigotas de todos os experimentos estavam na fase estacionária de crescimento, ou seja, em cultura de 7 dias. As culturas de parasitas de *Leishmania (L.) amazonensis* somente foram usadas até a sexta passagem.

5.5 Interação da *Leishmania (L.) amazonensis* com a célula J774-G8

A infecção das células de linhagem macrofágica J774-G8 com parasitas da *Leishmania (L.) amazonensis* na forma promastigota metacíclico, ocorreu na proporção de 10:1 (10 parasitas para 1 célula). A infecção das culturas celulares da J774-G8 foi realizada em lamínulas de vidro número 1 (*Fisherbrand* / *Fisher Scientific*), organizadas na placa de 24 poços (*KASVI* / *Tissue Culture Plate - 24 well* / BR); na placa de 96 poços (*KASVI* / *Tissue Culture Plate* – 96 well / K12-096 / BR) e nas garrafas de plástico de poliestireno para cultura celular de 25 cm^2 (*CORNING* / *USA*).

5.6 Ensaio de Viabilidade (MTT) das culturas celulares J774-G8

O ensaio de MTT, realizado objetivou determinar a viabilidade celular da linhagem macrofágica J774-G8 não infectadas e J774-G8 infectadas por *Leishmania (L.) amazonensis* na proporção de 10 parasitas para cada célula (10:1). A técnica consiste na incorporação da substância hidrossolúvel o brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-2H-tetrazólio (MTT), (Sigma-Aldrich®), um corante amarelo facilmente absorvido por células viáveis e que reduzem o composto através da ação de desidrogenases mitocondriais, formando o sal de formazan insolúvel que possui coloração roxa e que se deposita no citoplasma (Ghasemi *et al*., 2021). A intensidade da cor é diretamente proporcional à quantidade do sal de formazan e, consequentemente, ao número de células viáveis.

Desta forma, as células J774-G8 que estavam em garrafas de cultivo celular em confluência, foram transferidas para a placa de 96 poços (*KASVI / Tissue Culture Plate* – 96 *well* / K12-096 / BR), e foi acondicionada em estufa úmida à (*ESCO* – *CelCulture* / CO_2 *INCUBATOR*), em temperatura à 37º C e presença de 5% de CO_2. A infecção com as formas promastigotas metacíclicas de *L. (L.) amazonensis,* em fase estacionária, ocorreu na proporção de 10 parasitas para 1 célula (10:1).

O ensaio de MTT foi realizado com a aplicação do volume de 20 µL, do sal tetrazolato, nas variáveis a serem analisadas. A solução de MTT na concentração padrão de 5 mg / ml, foi preparada em atmosfera estéril na concentração de 5 mg/mL em PBS (*Phosphate-bufferid saline* – Tampão Fosfato Salino). Os testes foram implementados após a leitura inicial do ponto zero no início do experimento, com uma agitação suave ao se inserir o volume de 20 µL, do sal tetrazolato (MTT) nos poços da placa de 96 poços, agitando-se suavemente por 15 segundos. A placa de 96 poços do experimento foi novamente incubada em estufa (*ESCO – Cell Culture* / CO_2 *INCUBATOR*) com 5% de CO_2 a 37º C, por quatro horas, até a leitura das variáveis que foram avaliadas de acordo com os intervalos propostos de 24h, 48h ou 72h.

Ao término do período de quatro horas que a placa de 96 poços permaneceu em estufa, os cristais de formazan, presentes no meio, foram extraídos das mitocôndrias, através da adição de 100 µL da solução de SDS à 10% (dodecil sulfato de sódio). A quantificação foi medida através da absorbância da amostra, durante a leitura da placa de 96 poços no espectrofotômetro (*SPECTRA MAX* / 190 / *MOLECULAR DEVICES*) no comprimento de onda de 570 nm. O procedimento

colorimétrico utilizando MTT empregado tiveram seus dados coletados em triplicatas de três experimentos independentes e foram analisados no programa *Prism Graphpad*® 9.3.1. Diferenças significativas foram analisadas utilizando o teste *One Way Anova*. Os resultados foram calculados como porcentagem de viabilidade das células J774-G8 infectadas quando comparadas com a cultura de células J774-G8 não infectadas.

5.7 Imunofluorescência das culturas celulares J774-G8

As células foram em fixadas com paraformaldeído à 4% por 30 minutos, em temperatura ambiente. Depois as células foram lavadas com PBS-TRITON X-100 à uma concentração de 1%, sob agitação suave, no homogeneizador de bolsa (BENFER / BHB-800) em placa de 24 poços, por 3 vezes, com duração de 10 minutos para cada lavagem. Em seguida, foram incubadas por 30 minutos, com albumina sérica bovina (BSA-*Bovine Serum Albumin*, SIGMA®) isenta de imunoglobulinas e diluída em PBS (*Phosphate-bufferid saline* – Tampão Fosfato Salino) à 2%. Após o bloqueio, as células foram incubadas em uma câmara úmida escura por 3 horas, com 10 µl do anticorpo monoclonal anti-Conexina 43 (GJA1 / ab 11370 - Abcam), na diluição de 1: 200 em incubadora (*ESCO – CellCulture* / CO_2), e depois deixadas *overnight* em geladeira (Eletrolux / RE 28 Super), com temperatura de 2-8º C.

Após, as células foram lavadas, sob agitação suave, em placa de 24 poços, no homogeneizador de bolsa (BENFER / BHB-800) com PBS (*Phosphate-bufferid saline* – Tampão Fosfato Salino) 1 x concentrado, por 3 vezes, com duração de 10 minutos para cada lavagem. Em seguida, as células do experimento foram incubadas em 10 µL no anticorpo secundário Alexa Fluor 488 anti-mouse (A1129 – *Thermo Fisher Scientific*), na diluição de 1: 400 (*Invitrogen*), por 2 horas em câmara úmida escura colocada na incubadora (*ESCO – CellCulture* / CO_2). Ao término da incubação, as células foram lavadas 3 vezes, novamente com PBS 1 x concentrado, por 10 minutos em cada etapa em uma placa de 24 poços sob agitação suave no homogeneizador de bolsa (BENFER / BHB-800). A seguir, as lamínulas do experimento, foram incubadas na câmara escura novamente com 10 µL do marcador de citoesqueleto Faloidina (F-actina) (Alexa Fluor® 546 phalloidin, A22283, Life Technologies) conjugado com o fluorocromo ALEXA 546, diluído em 1:100 por mais 2 horas em incubadora (*ESCO – CellCulture* / CO_2).

Ao término da incubação acima citada, as células do experimento foram lavadas com PBS três vezes por 10 minutos e foram incubadas em câmara escura, com 10 µL de DAPI (4', 6 – *diamidino* – 2 – *phenylindole*), durante 15 minutos para marcar o núcleo das células. Após esse procedimento, a lamínula foi montada com 10 µL de *Prolong Gold*® em lâmina de vidro limpa e selada com esmalte transparente.

As marcações produzidas nas células através do experimento realizado, foram observadas em microscópio óptico invertido (microscópio de epifluorescência: *AXIOVERT* 40 *CFL, Plus Carl ZEISS - Photo microscope*), excitadas com iluminação por lâmpada de mercúrio de alta pressão, HBO 50W, (ʎ = 490 nm) e a emissão monitorada com a utilização de um conjunto de filtros de emissão para fluorescência de fluoresceína (ʎ = 525 nm). Os experimentos também foram submetidos à observação e análise simples ou de secções no plano Z (reconstrução tridimensional), utilizando o Microscópio Óptico Nikon Eclipse Ti (microscópio Confocal MO.049). Os dados foram plotados no programa *GraphPad Prism*® 9.3.1 para a aquisição do gráfico da análise de distribuição da marcação.

5.8 Determinação da concentração de proteína Cx43 nas culturas celulares

A concentração de proteína dos experimentos foi determinada pelo método de Bradford (1976), que detecta concentrações da ordem de mg/mL de proteína. O método se baseia no fato de que determinados aminoácidos hidrófobos podem se ligar ao corante *Coomassie Brilhant Blue*-250, presente no reagente de Bradford, para formar um complexo corante e proteína. A proteína, quando em meio altamente ácido, interfere na absorvância do corante, o que ocasiona uma modificação proporcional da coloração que é detectável no comprimento de onda de 595 nm. O reagente de Bradford, no volume de 5 mL, composto por *Comassie Brilliant Blue* G-250 10% (P/V), etanol 5%, ácido fosfórico 10% e água destilada, foi adicionado à amostra a ser dosada. As amostras foram distribuídas em triplicatas com alíquotas em diferentes concentrações, e foram homogeneizadas e comparadas a uma curva padrão obtida com 1 mg/mL de albumina bovina sérica (BSA). As leituras da densidade óptica foram realizadas em comprimento de onda (ʎ) de 595 nm em espectrofotômetro (*SHIMADZER*, modelo UV-2450), a partir da qual se calculou a concentração proteica.

5.9 Imunoeletrotransferência da proteína Cx43

A eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE), de acordo com o método de Laemmli (1970). As culturas celulares das células J774G-8 estudadas através da técnica de transferência imunoeletroforética, ou *Western Blotting*, foram lavadas com uma solução de bicarbonato de sódio, pH: 8.3, raspadas utilizando um raspador de células da SPL e o conteúdo obtido da cultura foram centrifugados na Centrífuga NOVATÉCNICA / NT810, à 1500 rpm, durante o período de 10min. Foi adicionado 3 mL de *Tween* 20 1% e homogeneizado com o auxílio do vórtex (IKA® MS 3 digital). O material resultante desse procedimento foi centrifugado à 1500 rpm durante 5 min e ressuspenso em PBS (*Phosphate-bufferid saline* – Tampão Fosfato Salino), sendo em seguida, armazenado em solução de bicarbonato de sódio, pH: 8.3, juntamente com o coquetel de inibidores de proteases (Inibidores de protease: PMSF – 50 mM em etanol; Leupeptina – 5 mg/mL; EDTA - 200 mM; Aprotinina – 10 mg/mL; E-64 – 1 mM; Pepstatina – 1 mg/mL; Antipaina – 10 mM; 0-fenantrolina – 200 mM), substâncias que compõe o *Complet* (04693116001). O material processado e obtido na extração de proteínas foi armazenado à - 20º C em microtubo (*Eppendorf*).

A separação das proteínas presentes na cultura ocorreu através da técnica de eletroforese em gel desnaturante de poliacrilamida duodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE). O gel de corrida foi feito numa concentração à 10% para o tipo celular estudado, e o gel de empacotamento confeccionado numa concentração à 4%. Foram aplicados 23 µg de proteína em cada poço do gel, que foram preparados em duplicatas, em placas de em 1 mm de espessura. As amostras foram solubilizadas em tampão de amostra (Tris-Cl, 125 mM; SDS, 4%; glicerol, 20%; β-mercaptoetanol, 10%; azul de bromofenol, 0,4%; pH 6,8) e mantidas à temperatura ambiente por cerca de 60 minutos, antes de sua aplicação no gel. A corrida eletroforética foi submetida a uma corrente de 50 mAmp, com a voltagem constante de 200V por 2 horas (sistema BIO-RAD).

Ao término da corrida eletroforética, o gel foi colocado em contato com uma membrana de nitrocelulose (*NC / GE / Healthcare*) em solução tampão (Tris-OH, 25 mM; glicina, 192 mM; metanol, 20%; pH 8,3) e a transferência realizada sob uma corrente constante de 300 mA por 2 horas (sistema BIO-RAD). A transferência ocorreu a 100 V por 1h e o gel foi corado com Ponceau para se avaliar o grau de transferência. A membrana de nitrocelulose (*NC / GE / Healthcare*), foi a seguir, incubada em tampão

TBS (*Tris Buffer Saline*) contendo leite em pó desnatado Molico® a 5%, e Tween 20 a 0.5% por 30 min, seguindo-se de lavagens com TBS contendo Tween 20 a 0.5% (TBS-T), por 5 vezes e durante 5 minutos por vez.

A membrana de nitrocelulose (*NC / GE / Healthcare*) foi incubada, então, por 17 horas à 4ºC sob agitação com anticorpo policlonal, anti-conexina43 (Anti-connexin43 / GJA1 antibody (ab11370), Abcam), diluído na proporção de 1:1000 em TBS-T à 0,5%. Depois da incubação a membrana de nitrocelulose foi lavada com TBS-T à 0,5%, conforme descrito anteriormente, sendo posteriormente, incubada com anticorpo secundário anti-rabbit, conjugado HRP, diluído na proporção de 1:5000 em TBS-T à 0,5%, ligado à *horseradish peroxidase* para quimioluminescência, por 2 horas. Procedeu-se nova lavagem com TBS-T à 0,5%, e a membrana de nitrocelulose foi incubada com a solução do Substrato, Western Blotting Pierce™ ECL (Substrato de peroxidase para quimioluminescência), por 10 minutos, para detecção quimioluminescente e revelada no sistema *ChemiDoc MP imaging system BIO-RAD*, e avaliado pelo programa *Image lab* 5.1.

5.10 Análise estatística

A análise estatística foi plotada no programa *GraphPad Prism*® 9.3.1 Os testes Qui-quadrado e One Way Anova foram utilizados para a análise inferencial em um nível de significância inferior a 0,05 ($p < 0,05$).

6 RESULTADOS

6.1 Imagens de contraste de fase das culturas celulares J774-G8

As células da linhagem macrofágica J774-G8 foram cultivadas e aliadas nos períodos de 24h, 48h e 72h. O grupo de células J774-G8 não infectadas, não apresentaram alterações durante o cultivo celular em condições de normalidade. A cultura de células J774-G8 não infectadas foram utilizadas para comparação com o grupo de células em relação aos aspectos e características apresentados no microambiente da infecção aguda causada pelo protozoário, nos períodos de 24h, 48h e 72h após início do processo infeccioso. As alterações morfológicas apresentadas e visualizadas nas células J774-G8 infectadas ocorreram de acordo com a progressão do processo infeccioso nos tempos analisados.

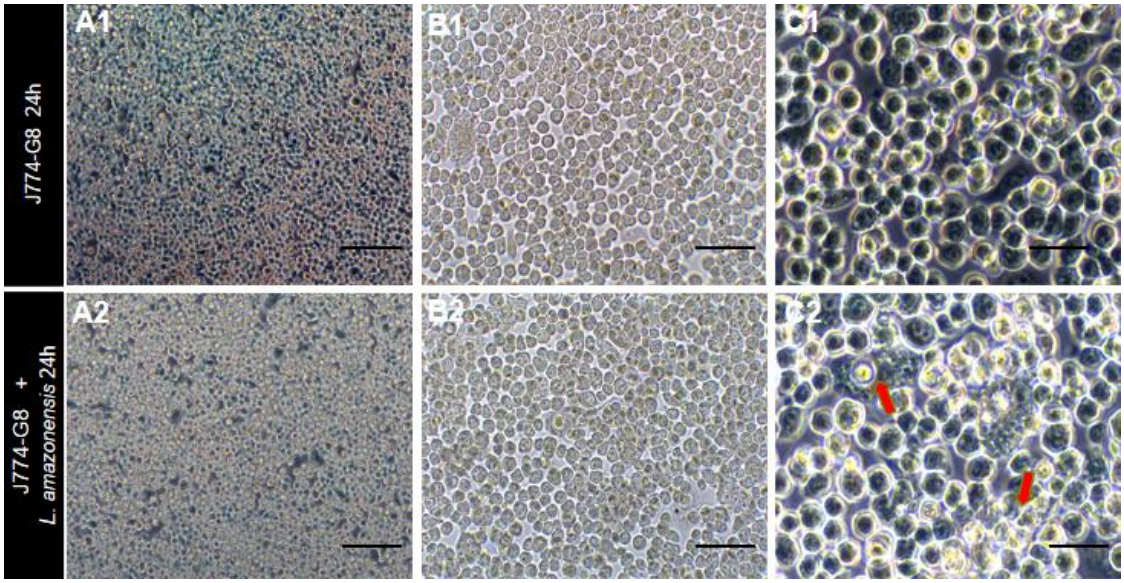
As culturas das células J774-G8 e das células J774-G8 infectadas com a *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), foram observadas, analisadas e fotografadas por microscopia de contraste de fase, com o uso do microscópio óptico invertido (*AXIOVERT* 40 *CFL, Plus Carl ZEISS - Photo microscope*), nos aumentos de 100X (objetiva de 10X), 200X (objetiva de 20X) e 400X (objetiva de 40X).

Desse modo, observa-se que as culturas celulares J774-G8 infectadas pelo parasita de *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1) no período de 24h, não apresentam alteração em relação ao número e aspecto das células presentes nas culturas infectadas (Figura 16-**A2** e **B2**), porém observa-se o algumas células apresentado lise celular e o desprendimento de algumas células, que formam de pequenos aglomerados, como verificado na Figura 16-**C2**, no aumento de 400X.

Entretanto, no período de 48h após o início do processo infeccioso, verifica-se que algumas células das culturas celulares J774-G8 infectadas pelo parasita de *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), formam aglomerados celulares e apresentam diminuição no número de células aderidas a superfície da cultura celular (Figura 17-**C2**). Algumas células como também além de relativo aumento no tamanho do volume celular, quando comparadas com as células não infectadas. A evolução das alterações celulares que ocorreram durante a infecção por *Leishmania (L.) amazonensis* e comparadas com a cultura das células não infectadas, podem ser verificadas na Figura 17, no aumento de 400X, no período de 48h após a infecção.

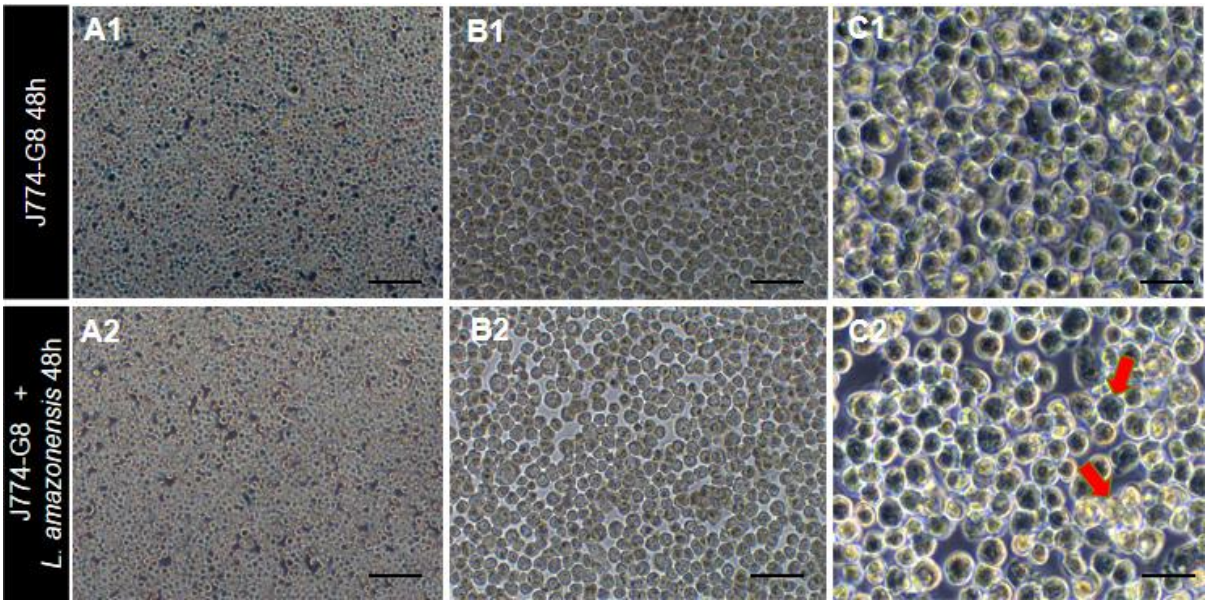
Verifica-se porém, que em 72h, após o início do processo infeccioso, que algumas as células J774-G8 infectadas por *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1) apresentam aumento no tamanho do volume celular e no número de células lisadas, quando comparadas com a células J774-G8 não infectadas conforme mostra a Figura 18- **C2**, no aumento de 400X. Além disso, observa-se também que as células J774-G8 infectadas por *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), apresentam o citoplasma com aspecto mais granuloso, devido ao aumento da carga parasitária intracelular (Figura 18-**C2**), no aumento de 400X, ao serem comparadas com as células J774-G8 não infectadas no mesmo aumento e período de observação.

Figura 16 — Micrografias de contraste de fase das culturas celulares J774-G8 e J774-G8 infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1) no período de 24h



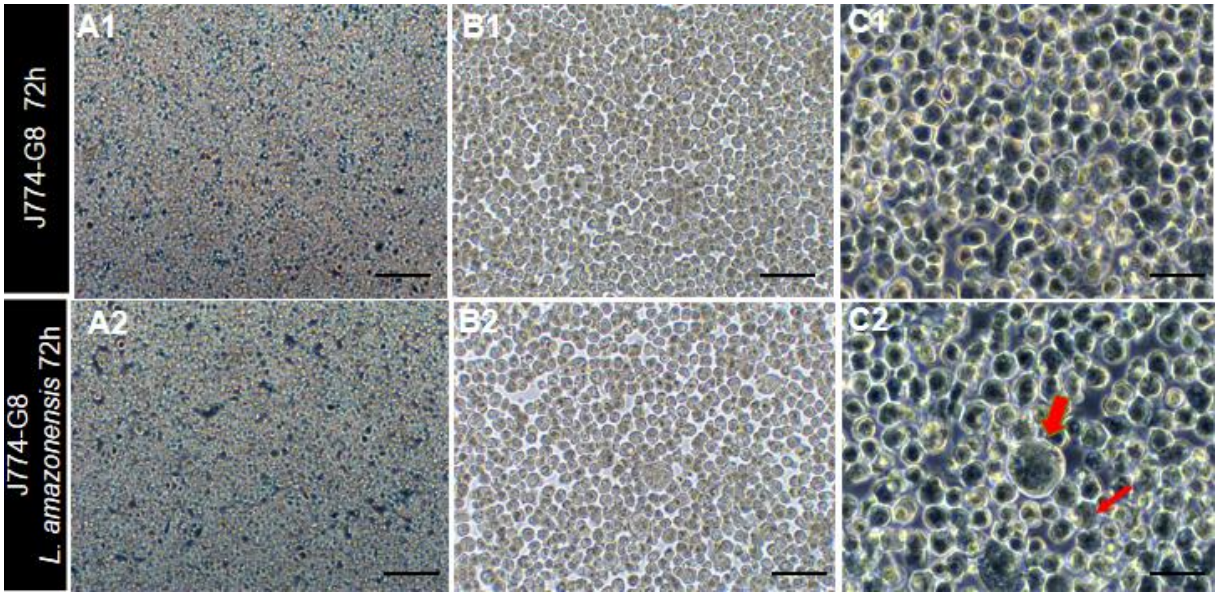
As imagens da Figura 16 mostram micrografias realizadas em microscopia de contraste de fase das culturas de células J774-G8 não infectadas (**A1, B1 e C1**), e das células J774-G8 infectadas por *Leishmania (L.) amazonensis* na proporção de 10 parasitas para cada célula (10:1) (**A2, B2 e C2**), observadas no período de 24h. Verifica-se que no período de 24h que as células J774-G8 e as células J774-G8 infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), não apresentaram redução estatisticamente significativa em relação ao número de células, quando comparadas com a cultura celular não infectada, observadas na Figura 16, em todos os aumentos. Verifica-se porém, que as células infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), apresentam um pequeno aglomerado de células, mostrado pela seta vermelha à direita, no lado direito e canto inferior da Figura 16-**C2**, no aumento de 400X. A seta vermelha no lado esquerdo superior, sinaliza a presença de morte celular (Figura 16-**C2**). Todas as micrografias da Figura 16, foram realizadas no microscópio de contraste de fase nos aumentos de 100X, 200X e 400X. Barra de calibração: 50µm.

Figura 17 — Micrografias de contraste de fase das culturas celulares J774-G8 e J774-G8 infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1) no período de 48h



As imagens da Figura 17 mostram micrografias em microscopia óptica de contraste de fase das culturas celulares J774-G8 não infectadas, (**A1, B1 e C1**) e das culturas de células J774-G8 infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis* na proporção de 10:1, (**A2, B2 e C2**) no período de 48h de observação. Verifica-se, que não houve diferenças estatisticamente significativas em relação a alterações no número de células da cultura J774-G8 ou J774-G8 infectada por de *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), ou de alterações morfológicas nas células das culturas analisadas, como mostra a Figura 17. Na Figura 17-**C2**, observa-se através da seta vermelha maior na parte superior da Figura 17-**C2,** um pequeno aumento no tamanho do volume celular da cultura J774-G8 infectada por de *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), devido possivelmente a progressão do processo infeccioso causado pela presença do parasita. Verifica-se também, a formação de aglomerados celulares das células J774-G8 infectadas, conforme demonstrado pela seta vermelha na parte inferior da inferior da Figura 17-**C2**. Todas as micrografias foram obtidas nos aumentos de 100X, 200X e 400X. Barra de calibração: 50µm.

Figura 18 — Micrografias de contraste de fase das culturas celulares J774-G8 e J774-G8 infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1) no período de 72h



As imagens da Figura 18 mostram micrografias em microscopia óptica de contraste de fase das culturas celulares das células J774-G8 não infectadas (**A1, B1 e C1**) e das células J774-G8 infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis* na proporção de 10:1 (**A2, B2 e C2**), no período de 72h de observação. Verifica-se no aumento de 200X na Figura 18-**B2**, uma redução no número de células na cultura J774-G8 infectadas por *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), quando comparada com a cultura celular não infectada (Figura 18-**B1**), possivelmente provocado pelo aumento da carga parasitária no interior das células J774-G8 infectadas, que leva à lise da célula hospedeira. Observa-se também, haver alterações no tamanho do volume celular nas células J774-G8 infectadas, conforme mostra a seta vermelha mais larga na Figura 18-**C2**. A aparência mais granulosa do citoplasma das células das células J774-G8 infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1) pode ser visto através da seta vermelha mais estreita, na parte inferior da Figura 18-**C2** que ocorre devido a maior replicação do parasita no meio intracelular da célula infectada. Todas as micrografias foram realizadas em aumentos de 100X, 200X e 400X. Barra de calibração: 50µm.

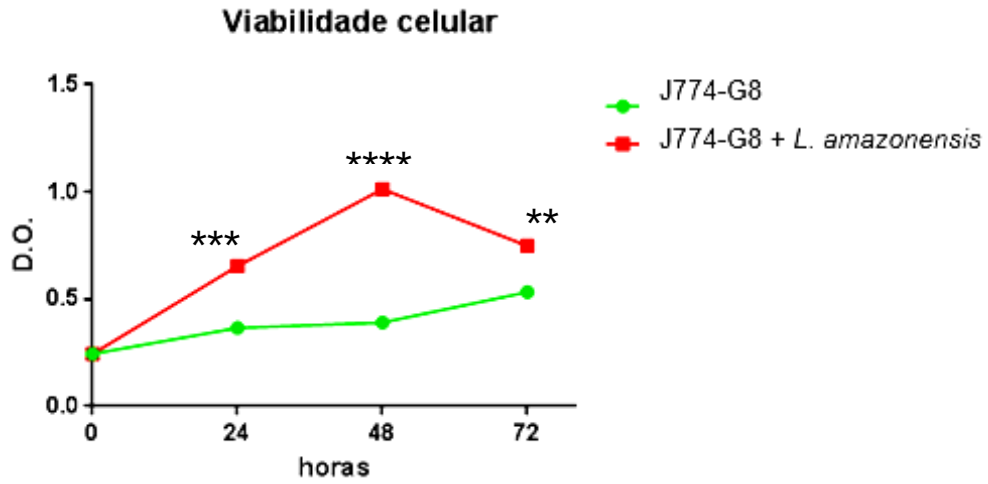
6.2 Ensaio de MTT das culturas celulares J774-G8

As culturas celulares das células J774-G8 e as células J774-G8 infectadas pelo parasita de *Leishmania (L.) amazonensis* na proporção de 10 parasitas por célula (10:1), foram submetidas a ensaios de MTT, nos períodos de 24h, 48h e 72h, para se verificar a atividade metabólica celular. Uma vez que, através da detecção específica da funcionalidade metabólica mitocondrial das células vivas, é possível avaliar a viabilidade celular das células em cultura. A avaliação da capacidade das células

J774-G8 para reduzir o corante MTT foi testada e medida, o que demonstrou a proporcionalidade da atividade metabólica realizada pelas enzimas mitocondriais ao número de células viáveis nas culturas avaliadas. Portanto, observa-se na Figura 19 que a diferença de viabilidade celular, encontrada entre os grupos das culturas celulares J774-G8 e J774-G8 infectadas por *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), avaliadas nos períodos de 24h, 48h e 72h, mostrou que as células J774-G8 infectadas por *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), apresentaram uma maior viabilidade celular a partir de 24h até o período de 48h de observação, quando comparada com a cultura das células J774-G8 não infectadas.

Entretanto, após o período de 48h, ocorreu uma queda estatisticamente significativa na viabilidade das células J774-G8 infectadas em comparação com as células J774-G8 não infectadas, conforme observado no gráfico da Figura 19. Observa-se, também, que a cultura celular J774-G8 não infectada, manteve uma atividade metabólica mitocondrial progressiva e uma elevação gradativa em sua viabilidade celular.

Figura 19 — Ensaio de viabilidade celular (MTT) das culturas celulares J774-G8



A Figura 19 mostra o resultado do ensaio de MTT que avaliou a viabilidade celular das culturas celulares J774-G8 nos períodos de observação de 24h, 48h e 72h. As células J774-G8 estão representadas no gráfico pela linha de cor verde e as células J774-G8 infectadas por *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), pela linha de cor vermelha. Observa-se que a viabilidade celular das células J774-G8 não apresentou variações estatisticamente significativas, durante os períodos observados, conforme demonstra o gráfico de linha na cor verde, apresenta, porém uma elevação maior a partir do período de 48h de cultura celular. No entanto, as culturas das células J774-G8 infectadas apresentaram um aumento na viabilidade celular estatisticamente significativo até o período de 48h após o início da infecção, quando comparado com a cultura das células não infectadas no mesmo período. A partir de 48h até o período de 72h, do início do processo infeccioso, ocorre uma queda na atividade metabólica mitocondrial da cultura de células infectadas, conforme visto no gráfico através da linha de cor vermelha, o que indica uma diminuição da viabilidade celular. $p < 0,05$ (*); $p < 0,01$(**), $p < 0,001$(***); $p < 0,0001$(****).

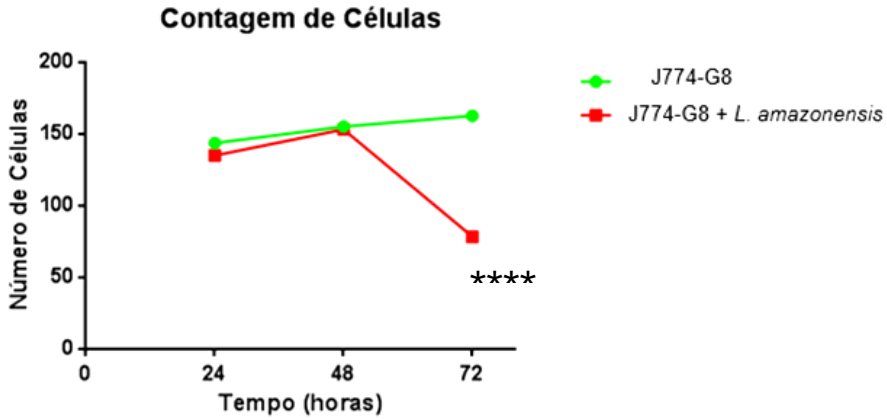
6.3 Contagem do número de células J774-G8

A contagem de células da linhagem macrofágicas J774-G8 foi realizada para avaliar o comportamento das células na homeostase e durante o estado de estresse causado pela infecção pelo parasita intracelular *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), (figura 20).

Observa-se a contagem do número de células por campo na cultura das células J774-G8 não infectadas, nos períodos de 24h, 48h e 72h, representada no gráfico de linha na cor verde. Enquanto, a cultura das células J774-G8 infectadas encontra-se representada pelo gráfico de linha na cor vermelha. Nota-se, portanto, uma redução estatisticamente significativa das células J774-G8 infectadas após 48h, quando

comparada em relação ao número de células por campo na cultura das células J774-G8 não infectadas.

Figura 20 — Contagem do número de células por campo das culturas celulares J774-G8



Contagem do número de células por campo da J774-G8. As células J774-G8 não infectadas estão representadas no gráfico da Figura 20 pela linha na cor verde e as células J774-G8 infectadas por *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), encontram-se representadas no gráfico de linha na cor vermelha, e ambas as culturas celulares foram analisadas e as células contadas período de 24h, 48h e 72h. Observa-se, desse modo, que as células J774-G8 não infectadas apresentam um crescimento progressivo e contante em relação ao número de células presentes em cultura, durante todos os períodos de observação. Em relação a contagem do número de células por campo nas células J774-G8 infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), nota-se que houve um aumento progressivo no número de células por campo até o período de 48h após a infecção com o parasita. Porém, conforme os dados analisados no gráfico da Figura 20, observa-se que a cultura de células J774-G8 infectadas por *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), apresentaram uma redução estatisticamente significativa no número de células por campo, a partir do período de 48h até o período de 72h. $p < 0,05$ (*); $p < 0,01$(**), $p < 0,001$(***); $p < 0,0001$(****).

6.4 Imunofluorescência das células J774-G8

Experimentos de imunofluorescência foram realizados para avaliar o posicionamento morfológico da proteína conexina 43 (Cx43) na linhagem macrofágica das células J774-G8 não infectadas e das células J774-G8 infectadas pelo parasita de *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), nos períodos de observação de 24h, 48h e 72h.

Dessa forma, procedeu-se a marcação específica de todas as culturas das células J774-G8 com: o DAPI (cor azul) para evidenciar o núcleo das referidas células de linhagem macrofágicas, a localização e posicionamento da Cx43, com o anticorpo anti-Cx43 (cor verde) e com a Faloidina (cor vermelha) para a marcação dos filamentos de F-actina que compõe o citoesqueleto.

Os gráficos de linha, mostrados nas Figuras 27 e 28 demonstra a análise dos resultados referentes às micrografias das imunofluorescências, das células J774-G8 não infectadas estão representadas pela linha de cor verde e das células J774-G8 infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), estão representadas pela linha de cor vermelha.

Nos experimentos realizados, verifica-se através das micrografias analisadas, que a marcação do núcleo com DAPI das células J774-G8 não infectadas e infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), conforme se pode verificar nas micrografias das Figuras: 21A; 22A; 23A; 24A; 25A e 26A.

Os experimentos das células J774-G8 não infectadas, nos horários de observação de 24h, 48h e 72h, apresentados nas Figuras 21, 23 e 25, a Cx43 encontra-se presente na membrana plasmática das células analisadas. Nas Figuras 21B, 23B e 25B é possível observar a formação de placas juncionais nas células J774-G8 não infectadas.

Observa-se no gráfico da Figura 27 uma diferença estatisticamente significativa em relação a marcação da proteína Cx43, com uma maior presença da proteína Cx43 nas células J774-G8 não infectadas, quando comparadas com as células J774-G8 infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), no mesmo período de observação de 24h. No entanto, ambas as culturas de células J774-G8 não infectadas e de células J774-G8 infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), mostram um aumento progressivo na expressão da proteína Cx43 entre os horários de observação de 24h e 48h, em relação a presença da proteína Cx43. Enquanto, os valores da distribuição da Cx43 obtidos através da análise das micrografias das imunofluorescência das células J774-G8 não infectadas no período de 72h, apresentam uma elevação estatisticamente significativa, quando comparados com a mesma cultura celular nos períodos anteriores de observação, ou seja, de 24h e 48h.

Em relação a marcação da Cx43 nas células J774-G8 infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), verifica-se nas micrografias das Figuras 22, 24 e 26 e pelo gráfico da Figura 27.2, que ocorre um aumento gradual e pouco significativo

da Cx43 nos períodos de observação de 24h e 48h. Porém, ao se observar as células J774-G8 infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), no período de 72h após a infecção com o parasita, revelados pelo gráfico da Figura 27.2, nota-se a ocorrência de uma grande elevação nos valores encontrados, que são estatisticamente significativos, quando comparados com os valores obtidos na mesma cultura nos períodos de observação de 24h e 48h. Nota-se também que os valores referente a marcação da proteína Cx43 das células J774-G8 infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), no período de observação de 72h, iguala-se praticamente aos níveis dos valores de marcação da proteína Cx43 encontrados na cultura das células J774-G8 não infectadas, observadas no mesmo período de 72h, conforme mostrado pelo gráfico da Figura 27.

A respeito da marcação dos filamentos de F-actina que compõe o citoesqueleto, realizada pela Faloidina, verificado no gráfico da Figura 28.2, observa-se que as células J774-G8 não infectadas foram representadas pela linha de cor verde e que as células J774-G8 infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), foram representadas pela linha de cor vermelha, nos períodos de observação de 24h, 48h e 72h. Dessa forma, observa-se que a marcação dos filamentos de F-actina, nas células J774-G8 não infectadas nos períodos de observação de 24h, 48h e 72h, mostrados nas imagens das Figuras 21C, 23C e 25C ou na Figura 28.1 – A, B e C, que o citoesqueleto apresenta uma organização uniforme nas células analisadas e uma marcação da Faloidina mais intensa nas proximidades da membrana plasmática. No entanto, referente a análise do gráfico da Figura 27.2 verifica-se também haver uma redução gradual dos filamentos de F-actina com o decorrer do tempo da cultura das células J774-G8 não infectadas, nos períodos de observação de 24h, 48h e 72h.

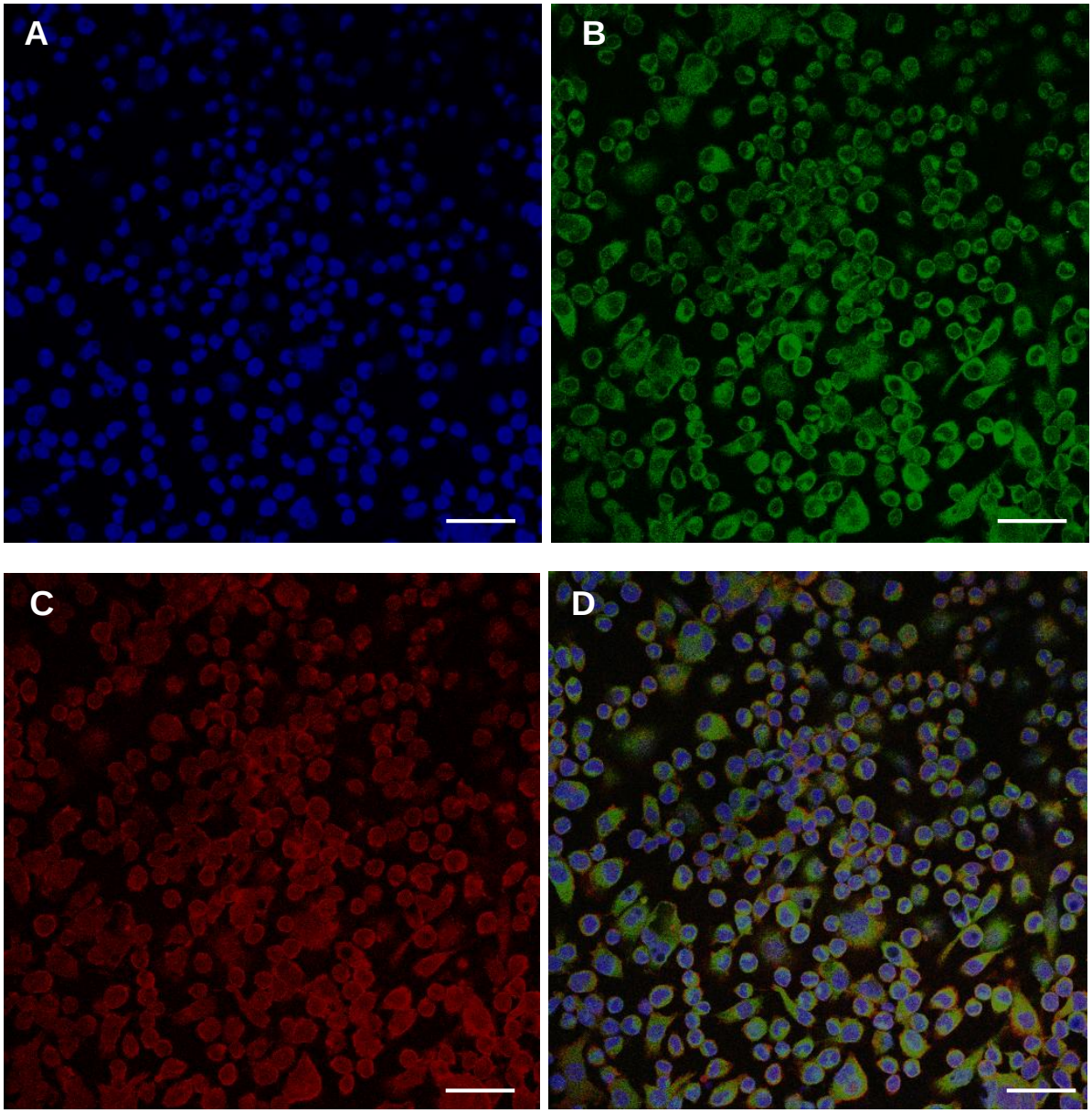
Referente a análise da marcação dos filamentos de F-actina que compõe o citoesqueleto, realizada pela Faloidina, das imagens das células J774-G8 infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), verifica-se uma diferença estatisticamente significativa referente aos baixos valores apresentados no período de observação de 24h, quando comparadas com as células J774-G8 não infectadas nos períodos de observação de 24h, conforme mostra o gráfico da Figura 28.2. No entanto, no período de observação de 48h também se verifica uma diferença estatisticamente significativa em relação a marcação dos filamentos de F-actina, das células J774-G8 infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), no período de 48h, quando comparadas com o período de 24h da mesma cultura celular, demonstrado pelo gráfico da Figura

28.2. Enquanto, ao se observar a cultura das células J774-G8 infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), no período de 72h, verifica-se o decréscimo da marcação dos filamentos de F-actina, que se iguala aos mesmos níveis de marcação dos filamentos de F-actina das células J774-G8 não infectadas, no mesmo período de observação de 72h, conforme mostra o gráfico da Figura 27.

As Figuras 21D; 23D e 25D mostram a sobreposição das marcações referente as micrografias das imunofluorescências realizadas das culturas de células J774-G8 não infectadas, conforme se verifica através das Figuras: 21 – A, B, E e C; 23 – A, B e C; e, 25 – A, B e C referente aos períodos de observação de 24h, 48h e 72h, respectivamente.

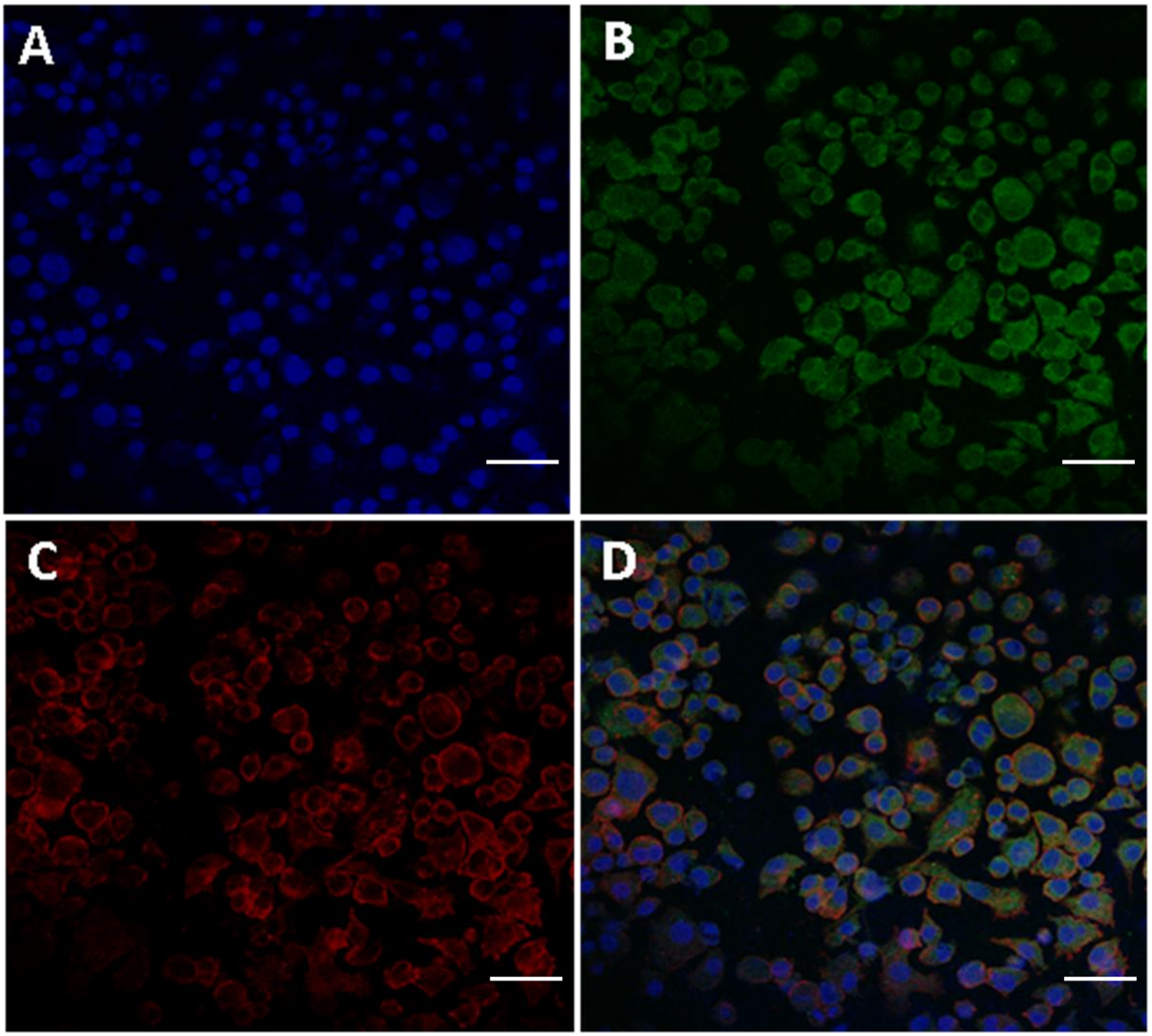
Enquanto as Figuras 22D; 24D e 26D, demonstram a sobreposição das marcações encontradas nas micrografias das Figuras 22 – A, B e C; 24 - A, B e C; e, 26 – A, B e C das células J774-G8 infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), nos períodos de observação de 24h, 48h e 72h, respectivamente.

Figura 21 — Micrografias das imunofluorescências por microscopia confocal da cultura de células J774-G8 não infectadas, no período de 24h



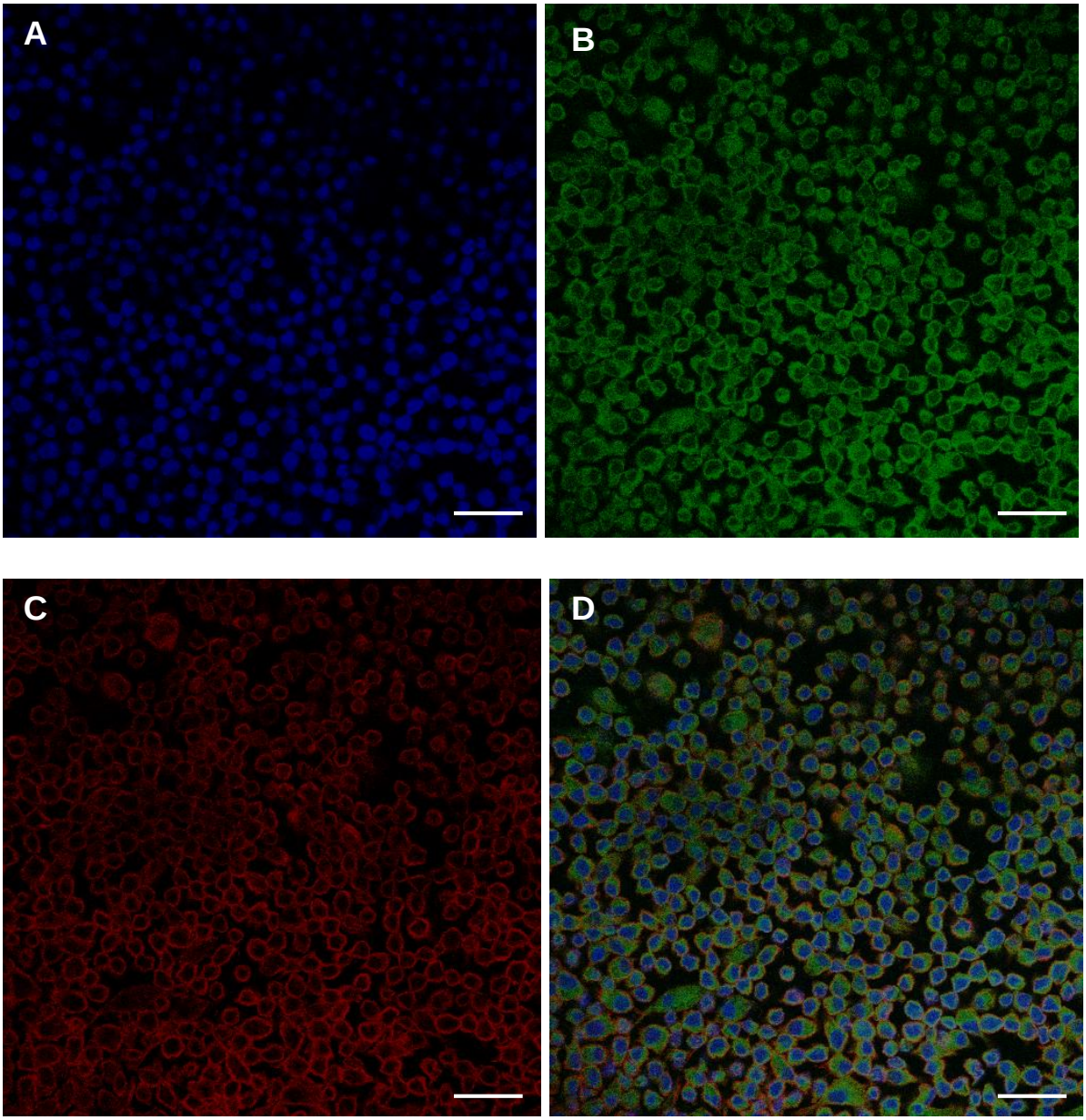
A Figura 21 mostra as micrografias confocal das imunofluorescências das células J774G-8 não infectadas, no período de 24h: **A** - Marcação com DAPI (azul) para o núcleo; **B** - Marcação com Alexa 488 *antibody* (verde) para Conexina 43; **C** - Marcação com Faloidina (vermelho) para filamentos de F-Actina e em **D** - Resultado da sobreposição das micrografias **A**, **B** e **C**. Todas as micrografias foram analisadas e obtidas com o uso do microscópio óptico confocal MO.049, Nikon Eclipse Ti, na objetiva de 40X. Barra de calibração: 20 µm.

Figura 22 — Micrografias das imunofluorescências por microscopia confocal da cultura de células J774-G8 infectadas com *L. amazonensis* (10:1) no período de 24h



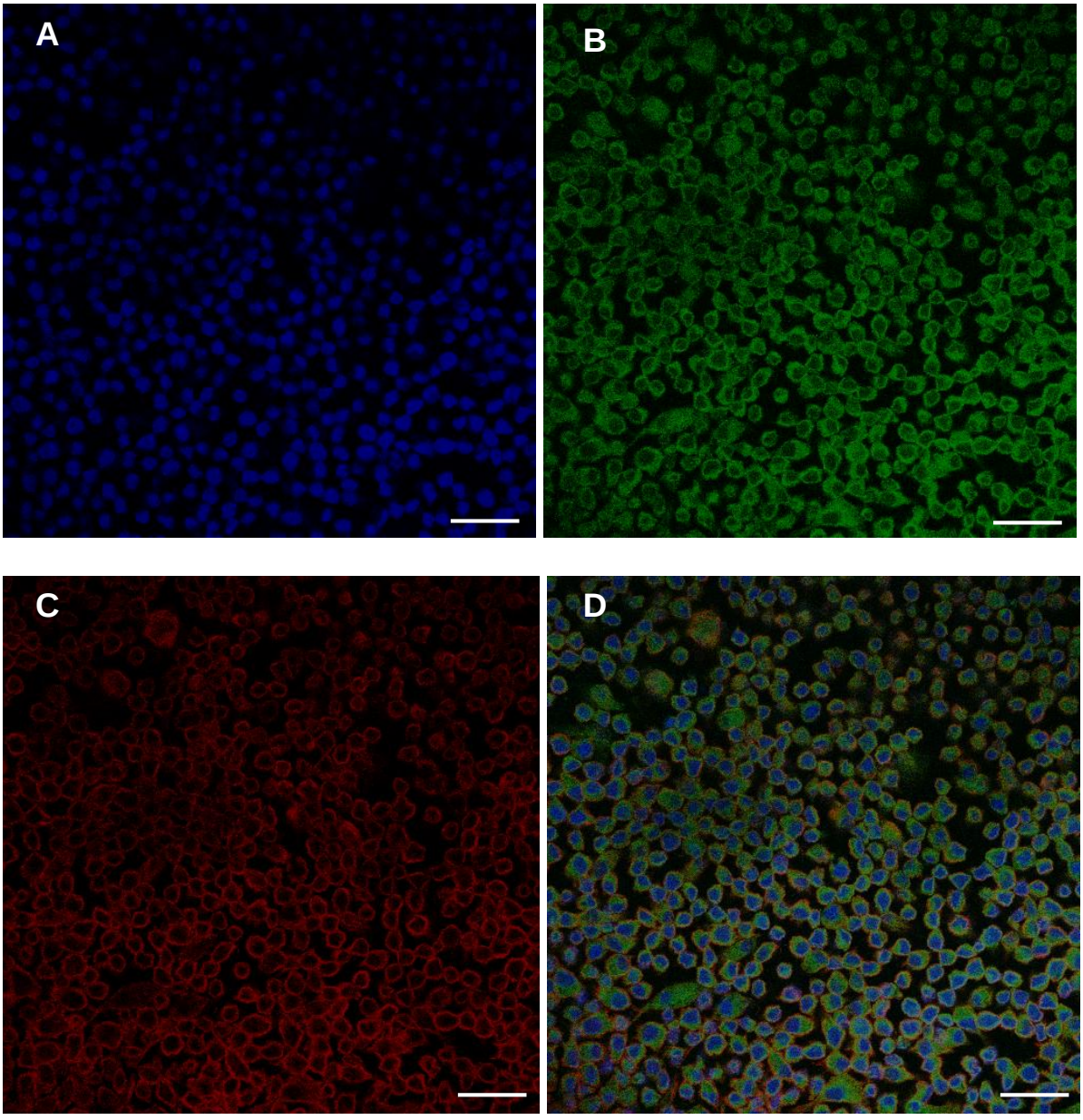
A Figura 22 mostra micrografias confocal das imunofluorescências das células J774G-8 infectadas com *L. amazonensis* (10:1), no período de 24h: **A** - Marcação de DAPI (azul) para o núcleo; **B** - Marcação de Alexa 488 *antibody* (verde) para Conexina 43; **C -** Marcação de Faloidina (vermelho) para filamentos de F-Actina; e **D** - Sobreposição das imagens A, B e C em D. Todas as micrografias foram analisadas e obtidas com o uso do microscópio óptico confocal MO.049, Nikon Eclipse Ti, na objetiva de 40X. Barra de calibração: 20 µm.

Figura 23 — Micrografias das imunofluorescências por microscopia confocal da cultura de células J774-G8 não infectadas no período de 48h



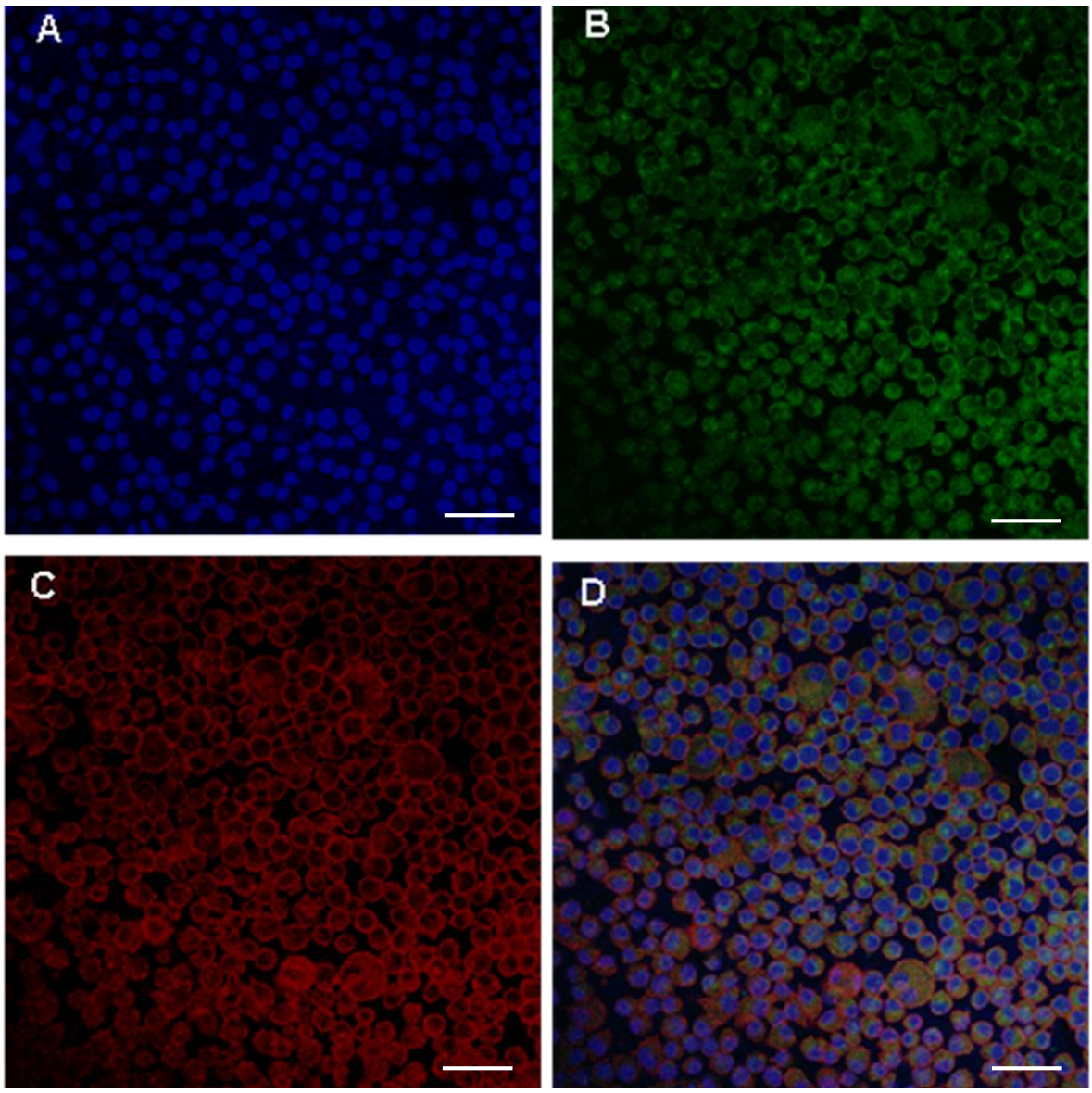
A Figura 23 mostra micrografias confocal da imunofluorescência das células J774G-8 não infectadas, no período de 48h: **A** - Marcação com DAPI (azul) para o núcleo; **B** - Marcação com anticorpo Alexa 488 (verde) para Conexina 43; **C** - Marcação com Faloidina (vermelho) para filamentos de F-Actina e em **D** - Resultado da sobreposição das micrografias **A**, **B** e **C.** Todas as micrografias foram analisadas e obtidas com o uso do microscópio óptico confocal MO. 049, Nikon Eclipse Ti, na objetiva de 40X. Barra de calibração: 20 µm.

Figura 24 — Micrografias das imunofluorescências por microscopia confocal da cultura de células J774-G8 infectadas com *L. amazonensis* (10:1), no período de 48h



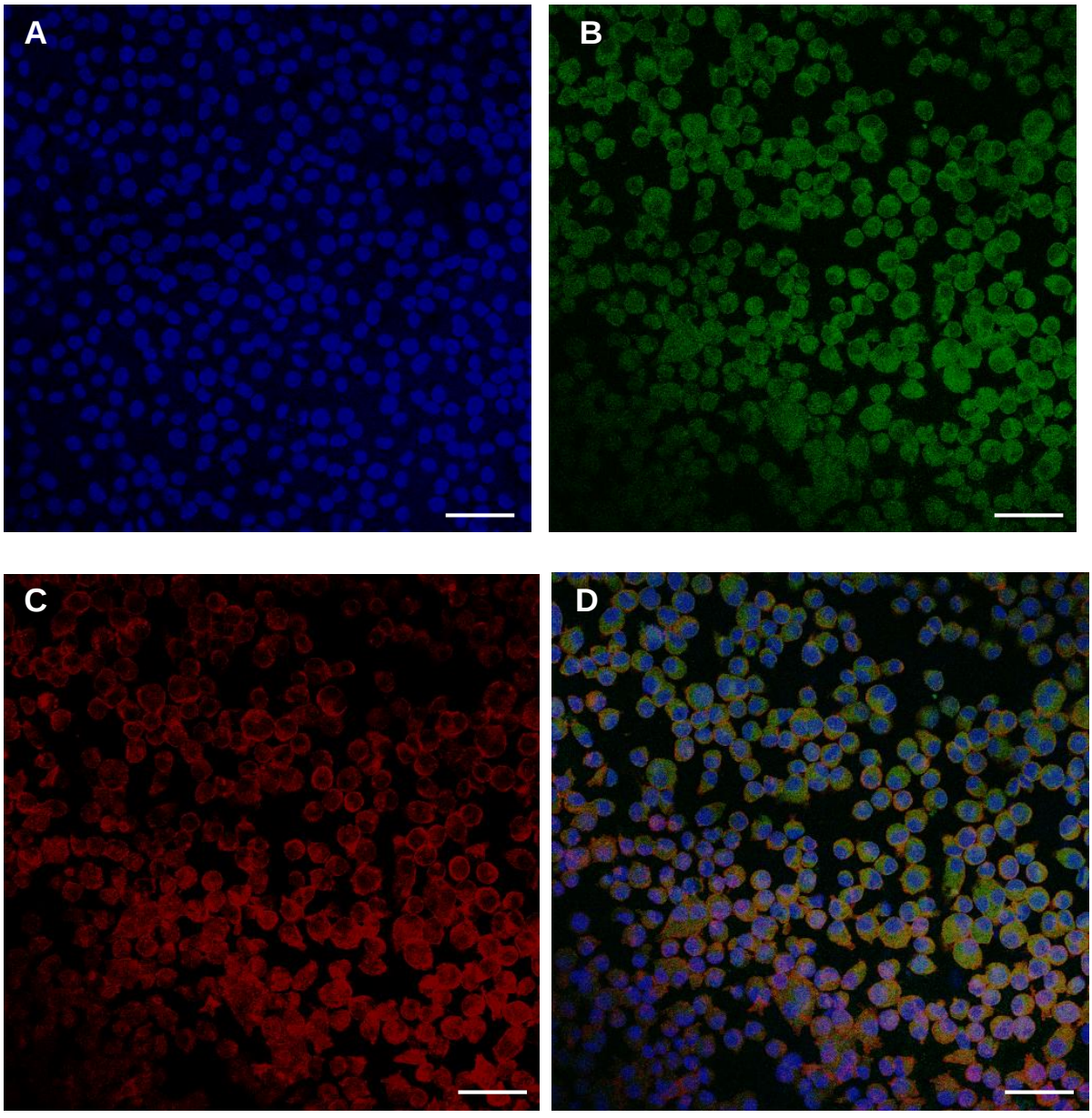
A Figura 24 mostra micrografias confocal da imunofluorescência das células J774G-8 infectadas com *L. amazonensis* (10:1), no período de 48h: **A** - Marcação com DAPI (azul) para o núcleo; **B** - Marcação com Alexa 488 *antibody* (verde) para Conexina 43; **C** - Marcação com Faloidina (vermelho) para filamentos de F-Actina e em **D** - Resultado da sobreposição das micrografias **A**, **B** e **C**. Todas as micrografias foram analisadas e obtidas com o uso do microscópio óptico confocal MO.049, Nikon Eclipse Ti, na objetiva de 40X. Barra de calibração: 20 µm.

Figura 25 — Micrografias das imunofluorescências por microscopia confocal da cultura de células J774-G8 não infectadas, no período de 72h



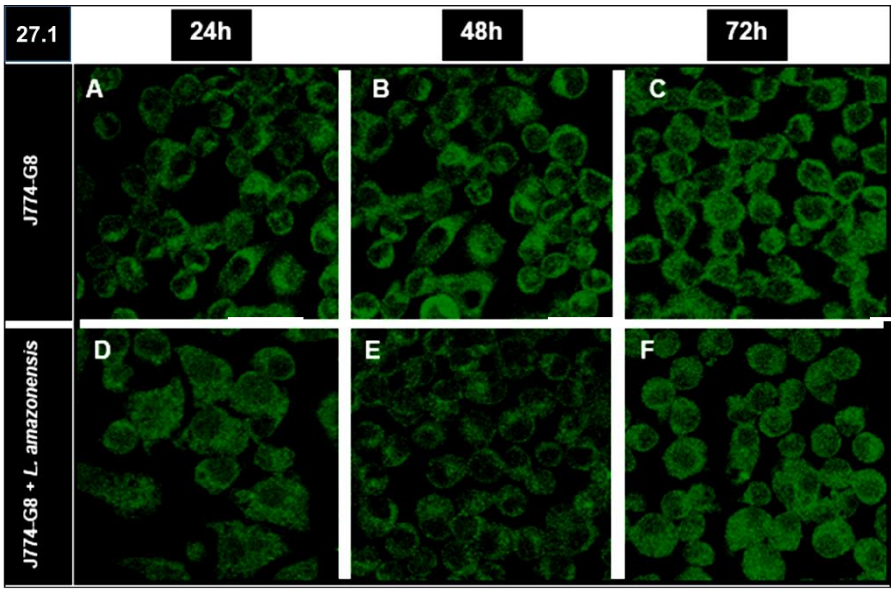
A figura 25 mostra micrografias confocal da imunofluorescência das células J774G-8 não infectadas, no período de 72h: **A** - Marcação com DAPI (azul) para o núcleo; **B** - Marcação com Alexa 488 *antibody* (verde) para Conexina 43; **C** - Marcação com Faloidina (vermelho) para filamentos de F-Actina e em **D** - Resultado da sobreposição das micrografias **A**, **B** e **C**. Todas as micrografias foram analisadas e obtidas com o uso do microscópio óptico confocal MO.049, Nikon Eclipse Ti, na objetiva de 40X. Barra de calibração: 20 µm.

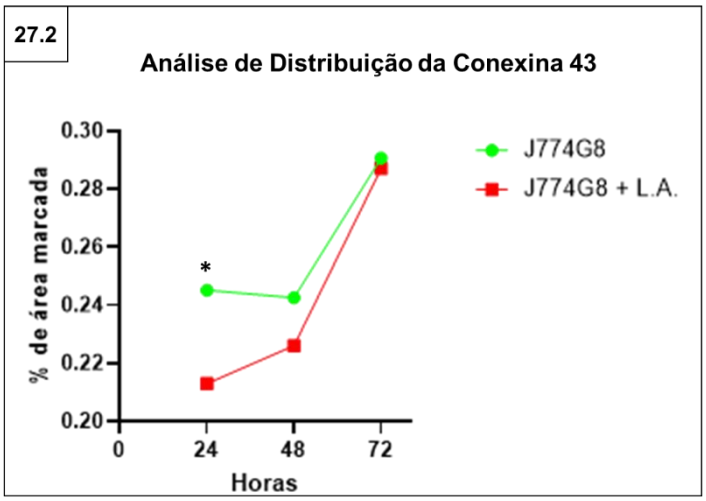
Figura 26 — Micrografias das imunofluorescências por microscopia confocal da cultura de células J774-G8 infectadas com *L. amazonensis* (10:1) no período de 72h



A Figura 26 mostra micrografias confocal da imunofluorescência das células J774G-8 infectadas com *L. amazonensis* (10:1), no período de 72h: **A** - Marcação com DAPI (azul) para o núcleo; **B** - Marcação com Alexa 488 *antibody* (verde) para Conexina 43; **C** - Marcação com Faloidina (vermelho) para filamentos de F-Actina e em **D** - Resultado da sobreposição das micrografias **A**, **B** e **C**. Todas as micrografias foram analisadas e obtidas com o uso do microscópio óptico confocal MO.049, Nikon Eclipse Ti, na objetiva de 40X. Barra de calibração: 20 µm.

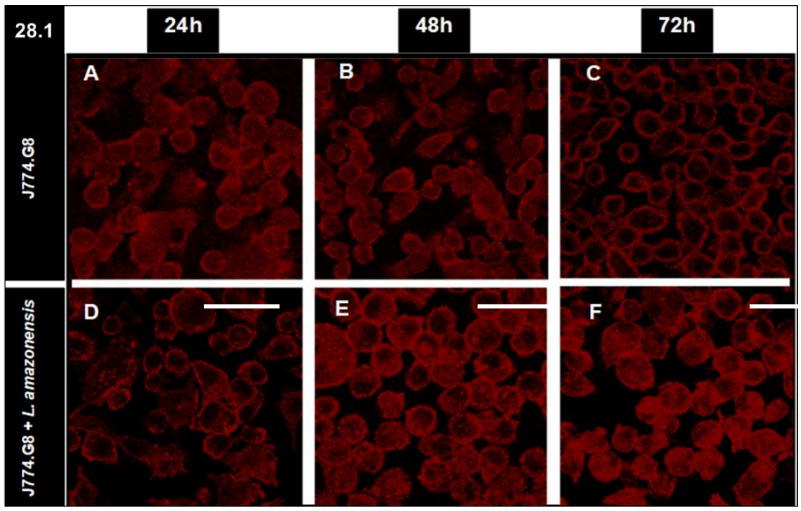
Figura 27 — Imunofluorescências por microscopia confocal das culturas celulares J774-G8 com análise gráfica sobre a distribuição da proteína Cx43





A Figura 27.1 mostra a distribuição da Cx43 nas culturas de células J774-G8 não infectadas e infectadas com *L. amazonensis* (10:1) nos períodos de 24h, 48h e 72h. A Figura 27.2 monstra a análise gráfica das imunofluorescências realizadas com as culturas celulares J774-G8 estudadas, em relação a porcentagem de área marcada pelos anticorpos anti-conexina 43 sobre a distribuição da Cx43 na área total das imagens obtidas nos períodos de 24h, 48h e 72h. No período de observação de 24h, verifica-se uma diferença estatisticamente significativa, após o início das culturas celulares das células J774-G8 não infectadas e células J774-G8 infectadas, onde as células infectadas apresentaram níveis muito inferiores de marcação referente a proteína Cx43. Observa-se também que 72h após a infecção, ocorreu um aumento estatisticamente significativo da área marcada com o anticorpo anti-Cx43, tanto nas células J774-G8 não infectadas, como nas células J774-G8 infectadas com o parasita de *L. amazonensis* (10:1), onde os níveis de expressão da Cx43 chegaram praticamente a se igualar nesse período. $p < 0,05$ (*); $p < 0,01$(**), $p < 0,001$(***); $p < 0,0001$(****).

Figura 28 — Imunofluorescências por microscopia confocal das culturas celulares J774-G8 com análise gráfica sobre a distribuição da proteína F-actina



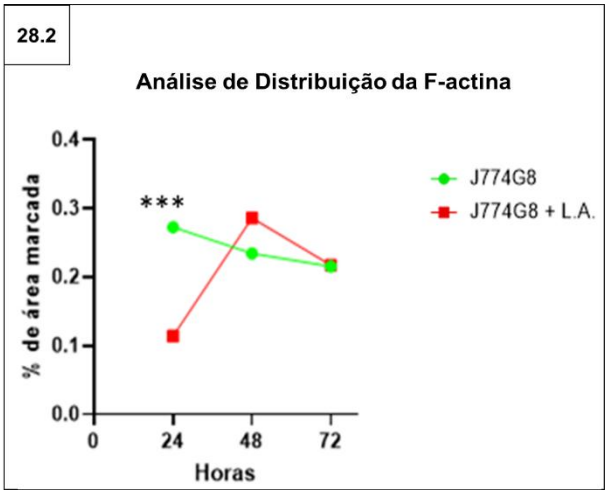


Figura 28.1 mostra a distribuição de F-actina nas células J774-G8 não infectadas e infectadas com *L. amazonensis* (10:1) nos períodos de 24h, 48h e 72h. A Figura 28.2 demonstra a análise gráfica das imunofluorescências confocal realizadas com as culturas celulares J774-G8 referente a porcentagem da área marcada pela Faloidina nos filamentos de F-actina sobre a área total das imagens obtidas por ambas culturas nos períodos de24h, 48h e 72h. Verifica-se uma redução estatisticamente significativa na marcação a distribuição de F-actina, nas células J774-G8 infectadas com *L. amazonensis* (10:1), no período de 24h, quando comparadas com as células J774-G8 não infectadas, no mesmo período. No período de 48h ocorre uma elevação na distribuição da F-actina nas culturas de células J774-G8 infectadas, que chega a ultrapassar os valores obtidos das células J774-G8 não infectadas no mesmo período de observação, porém verifica-se, que a distribuição de F-actina em ambas as culturas celulares equiparam-se no período de 72h. Observa-se, ainda, que a partir de 48h pós infecção ocorre uma diminuição acentuada na área marcada dos filamentos de F-actina, nas células J774-G8 infectadas, devido possivelmente ao aumento da carga parasitária nessa cultura celular, o que pode provocar danos e desorganização nas estruturas do citoesqueleto. $p < 0,05$ (*); $p < 0,01$(**), $p < 0,001$(***); $p < 0,0001$(****).

6.5 Expressão dos níveis proteicos da Cx43 nas culturas J774-G8

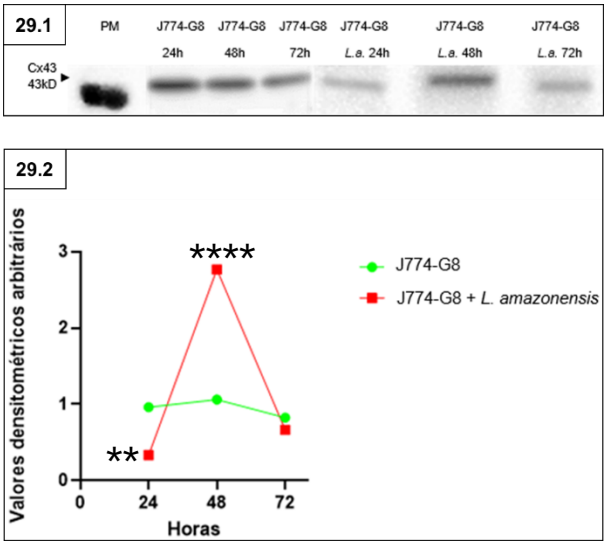
A técnica *western blotting* foi realizada para analisar as proteínas presentes nas amostras de células da linhagem macrofágica J774-G8 não infectadas e J774-G8 infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis* na proporção de 10 parasitos por cada célula (10:1). A elaboração da técnica de *western blotting* se baseia na extração e quantificação de proteínas das amostras que foram utilizadas no experimento, pelos seguintes passos: separação das proteínas contidas em cada amostra por tamanho e massa molecular, através da eletroforese; transferência das proteínas encontradas em cada amostra para uma membrana e incubação da membrana com um anticorpo específico para Cx43; e revelação ao final dos níveis detectados da proteína Cx43 em cada amostra analisada.

Dessa forma, a expressão dos níveis proteicos provenientes dos lisados das células de linhagem macrofágica J774-G8 não infectadas e das células J774-G8 infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), no período de 24h, 48h e 72h, foram obtidos através dos ensaios de imunoeletrotransferência. As culturas das células de linhagem macrofágica J774-G8 não infectadas foram cultivadas em condições de normalidade e serviram de parâmetro para comparação com a expressão dos níveis de proteína Cx43 obtidos nos experimentos realizados com as células J774-G8 infectadas com o parasita de *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1) e todas as culturas foram observadas nos períodos de 24h, 48h e 72h. Aplicou-se em cada poço do gel de SDS-PAGE à 10%, quantidades iguais de proteína total (22,5 µg) dos extratos provenientes das células de cada amostra estudada, iniciando com a colocação das células não infectadas referente ao período de 24h, 48h e 72h, seguidas da colocação das células J774-G8 infectadas com o parasita de *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), referentes aos períodos de 24h, 48h e 72h. Dessa forma, de acordo com os experimentos realizados, verificou-se que a proteína Cx43 foi expressa nas células J774-G8 não infectadas e nas células J774-G8 infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), em todos os períodos de observação, conforme demonstra a Figura 29.1 e Figura 29.2. No entanto, as células J774-G8 infectadas com o parasita de *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), no período observação de 24h após a interação com o parasita, apresentam expressão reduzida de Cx43 estatisticamente significativa, quando comparadas com as células J774-G8 não infectadas no mesmo período de observação, conforme se verifica no gráfico da Figura 29.2.

Em relação, ao período de observação de 48h após a infecção, observa-se que as células J774-G8 infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), apresentam uma elevação estatisticamente significativa referente a expressão da Cx43, quando comparadas com a expressão da proteína Cx43 na cultura de células J774-G8 não infectadas, no mesmo tempo de observação de 48h, conforme mostrado no gráfico da Figura 29.2. A cultura de células J774-G8 infectadas com o parasita de *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), no período de 24h de observação apresenta uma redução na expressão da proteína Cx43 que é estatisticamente significativa quando comparadas com as células J774-G8 infectadas com o parasita de *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), no período de 48h de observação, verificado pelo gráfico da Figura 29.2. Entretanto, a cultura de células J774-G8 infectadas com o parasita de *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), também, apresentou valores reduzidos e estatisticamente significativos em relação a expressão da Cx43 no período de observação de 72h, quando comparadas com as células J774-G8 infectadas com o parasita de *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1) no período de observação de 48h, de acordo com gráfico da Figura 29.2. Em relação aos níveis de expressão da Cx43 nas células infectadas no período de 72h, nota-se que apresentam valores mais reduzidos, porém, próximos aos valores de expressão da Cx43 obtidos pelas células J774-G8 não infectadas, no mesmo tempo de observação de 72h, conforme mostrado pelo gráfico da Figura 29.2.

Verificamos também através do gráfico da Figura 29.2 que os níveis de expressão da Cx 43 nas células J774-G8 não infectadas em todos os períodos de observação 24h, 48h e 72h, não possui variações estatisticamente significativas. No entanto, observa-se que nas células infectadas com o parasita de *Leishmania (L.) amazonensis* (10:1), no período de 48h após a infecção, existe uma elevação expressão nos níveis da proteína Cx43 estatisticamente significativa, quando comparado com os valores obtidos e observados nos períodos de 24h e 72h, conforme se verifica no gráfico da Figura 29.2. Os dados densitométricos comprovam os resultados obtidos e representados pela marcação da membrana com o anticorpo, conforme verificado na representação gráfica através da Figura 29.2.

Figura 29 — Expressão da proteína Cx43 por Western Blot nas culturas celulares das células J774-G8 com análise gráfica dos valores densitométricos



A Figura 29.1 mostra a Imunoeletrotransferência referente a expressão dos níveis da proteína Cx43 nas culturas das células J774-G8 não infectadas e J774-G8 infectadas com *L. amazonensis* (10:1), nos períodos de 24h, 48h e 72h. A organização dos poços foi realizada através da aplicação de 22,5µg dos extratos provenientes das células J774-G8 não infectadas e infectadas com *L. amazonensis* (10:1), distribuídas de acordo com os períodos de observação realizado no estudo. As células J774-G8 não infectadas serviram de parâmetro para comparação sobre a expressão da proteína Cx43 nas células J774-G8 infectadas com *L. amazonensis* (10:1), de acordo com o período de observação correspondente. A marcação no poço em 43 kDa de Peso Molecular mostra o resultado da utilização do anticorpo policlonal para a Cx43. Observa-se, no experimento, marcação mais intensa na expressão da Cx43 nas células J774-G8 não infectadas em relação às células J774-G8 infectadas. Verifica-se, entretanto, uma marcação mais intensa na expressão de Cx43, no período de 48h após a infecção pelo parasita de *L. amazonensis* (10:1). O gráfico da Figura 29.2 demonstra um aumento nos níveis da expressão da proteína Cx43 das células J774-G8 infectadas com *L. amazonensis* (10:1), estatisticamente significativo e que ocorre de modo progressivo a partir do período de 24h pós infecção. Verifica-se, também, que a expressão da proteína Cx43 na cultura de células J774-G8 infectadas, apresenta níveis significativamente mais reduzidos no período de 24h após a infecção com o parasita de *L. amazonensis,* quando comparadas com o grupo das células J774-G8 não infectadas, observadas no mesmo período de cultura. Entretanto, no período a partir de 48h, ocorre uma queda na expressão da proteína Cx43 bastante acentuada e estatisticamente significativa. Porém, no período de 72h, a cultura celular da J774-G8 infectada com *L. amazonensis* (10:1), apresenta uma diminuição nos níveis de expressão da proteína Cx43 e chegam a ficar bem próximos aos valores dos níveis expressos pelas células J774-G8 não infectadas, observadas no mesmo período. $p < 0,05$ (*); $p < 0,01$(**), $p < 0,001$(***); $p < 0,0001$(****).

6 DISCUSSÃO

7.1 Alterações na morfologia e crescimento na cultura de células J774-G8 no microambiente modificado na infecção por *Leishmania amazonensis* em macrófagos

A *Leishmania* é um parasita intracelular obrigatório que depende dos macrófagos para sobreviver e captar nutrientes, como glicose e lipídios (Liévin-Le Moal, Loiseau, 2016; Bhattacharjee, Biswas; Das, 2022). O sucesso e estabelecimento da infecção é determinado pela capacidade do parasita em modular e escapar das defesas imunológicas do hospedeiro, e isso, envolve diversos componentes e elementos dos sistemas imunológicos, inato e adaptativo (Ikeogu *et al*., 2020).

Os promastigotas metacíclicos do parasita de *Leishmania* são as formas infecciosas para o hospedeiro mamífero. A interação entre as promastigotas da *Leishmania amazonensis* e os macrófagos é essencial para desvendar os mecanismos patogênicos da leishmaniose (Burchmore, Barrett, 2001; Gossage, Rogers, Bates, 2003; Naderer, McConville, 2008).

No hospedeiro mamífero, as formas parasitárias promastigotas metacíclicas são rapidamente internalizadas pelos macrófagos e no seu interior se diferenciam em amastigotas, a forma intracelular obrigatória, que não possui flagelo exteriorizado e que se replica dentro dos fagolisossomos (Ikeogu *et al*., 2020). Além disso, as vesículas extracelulares que os promastigotas secretam contêm diversas moléculas capazes de modular a resposta imunológica do hospedeiro, o que interfere na ativação dos macrófagos, influencia na progressão da doença, e evidencia a complexa relação entre parasito-hospedeiro (Gupta, Oghumu, Satoskar, 2013).

Desta forma, o presente trabalho analisou as possíveis alterações relacionadas com crescimento celular e os aspectos morfológicos associados aos macrófagos, representados pela Linhagem Celular J774-G8, em um microambiente de infecção aguda gerado pela *L. amazonensis* (10:1) e comparadas ou normalizadas com a s células J774-G8 não infectadas.

Foi possível observar uma sutil diminuição no crescimento e sobrevivência das culturas celulares J774-G8 infectadas, que se verificou ao longo do processo de infeccioso no período de 24h, 48h e 72h, como demonstrado nas Figuras 18-A2, B2 e

C2, associada à manutenção da sobrevida do parasita no meio intracelular, quando comparadas com as células não-infectadas conforme mostram as Figuras 18-A1, B1 e C1.

A infecção por *Leishmania amazonensis* nos macrófagos provoca diversas alterações morfológicas, o que reflete a tentativa da célula hospedeira em eliminar o parasita. Observa-se, portanto, algumas mudanças morfológicas no aumento de 400x nas culturas celulares J774-G8 infectadas com *L. amazonensis* (10:1), como ilustra a Figura 17-C2, e que possivelmente estão diretamente relacionadas ao aumento da carga parasitária intracelular, o que resulta em maior danos e lise celular.

Observou-se um aumento progressivo no volume intracelular das células J774-G8 infectadas com *L. amazonensis* (10:1), em comparação com as células J774-G8 não infectadas, a partir de 48h após a infecção. Este dado indica que com a progressão do tempo de infecção ocorre maior proliferação das formas amastigotas no interior dos fagolisossomos, o que intensifica a propagação da parasitose (Gupta *et al*., 2022). O citoplasma dos macrófagos infectados tende a apresentar maior número de vacúolos e fica com uma aparência mais granulosa devido à presença de parasitas. Este fato ocorre porque os parasitas se alojam dentro de vacúolos fagocíticos, os fagossomos, também chamados de chamados de vacúolos parasitóforos, onde os parasitas de *Leishmania* spp. se estabelecem no interior do macrófago e, nesse local, encontram condições para sua nutrição, replicação e sobrevivência num nicho seguro (Carneiro, Peters, 2021). Além disso, pode ocorrer alteração na expressão das proteínas na superfície do macrófago, que são fundamentais para a interação com o parasita, como diversos receptores que facilitam a entrada da *Leishmania* nas células hospedeiras (Serafin, 2018).

Outro fato notório é a associação do aumento de células lisadas com a quantidade de parasitas no espaço extracelular em 72h após a infecção (Figura 18-C2), quando comparado aos períodos anteriores conforme visto na Figura 16-C2 e Figura 17-C2), devido ao ciclo reprodutivo do parasita, o que faz com que a cultura de células infectadas com *L. amazonensis* (10:1), apresente uma elevada viabilidade celular através do ensaio de MTT, conforme demonstra a Figura 19. Silva e colaboradores (2015), mostraram que o aumento do índice de infecção reflete tanto no aumento na porcentagem de células infectadas quanto no número médio de parasitas por célula.

De acordo com Pereira (2015), foi observado que a partir de 72h de infecção, macrófagos peritoneais de camundongos BALB/c apresentam uma maior porcentagem de células infectadas e maior proliferação de amastigotas em comparação com os macrófagos de origem C3H/He, e esse fato evidencia que o genótipo dos macrófagos afeta a sobrevivência e a multiplicação das amastigotas no interior dos vacúolos parasitóforos. Relataram também que com 24h de infecção os macrófagos não mostraram diferença estatisticamente significativa na porcentagem de células infectadas, nem na média de amastigotas por células. Entretanto, a partir de 72h já foi possível detectar que a taxa de infecção foi maior na linhagem BALB/c do que na C3H/He.

Ao analisar os resultados obtidos nos experimentos, observamos também uma baixa formação de aglomerados celulares das células J774-G8 e a ocorrência do desprendimento das células em cultura que ocorre gradualmente. As alterações mencionadas ocorrem devido à intensificação da progressão da infecção, o que resulta na redução do número de células J774-G8 em cultura, conforme verificado na Figura 20. Segundo Uribe-Querol, Rosales, (2017) as alterações que ocorrem no microambiente celular são chave para a persistência da *Leishmania* no hospedeiro e podem levar à cronicidade da infecção.

7.2 Impacto da infecção por *Leishmania amazonensis* na comunicação intercelular em macrófagos

A infecção por *Leishmania amazonensis* pode afetar a interação dos macrófagos e alterar a comunicação intercelular e impacta a resposta imune. As GJs e os HCs de conexinas estão envolvidos em processos importantes que contribuem para a ativação e controle de algumas respostas imunes inatas e adaptativas (Elgueta *et al*., 2009; Meng *et al*., 2022; Oviedo-Orta, Howard Evans, 2004; Tittarelli *et al*., 2020). Os canais formados pela proteína Cx43, localizados na membrana de diversas células do sistema imune, proporcionam o tráfego de várias moléculas de sinalização e contribui com a interação celular e consequentemente com o desenvolvimento das respostas desencadeadas pelo sistema imunológico (Valdebenito, Barreto, Eugenin, 2018).

A *Leishmania amazonensis* é um parasita intracelular que pode modificar a expressão proteica nos macrófagos, o que pode levar a uma diminuição da expressão

da conexina 43 nas células infectadas, conforme verificado na Figura 29, após 24h de infecção. Este resultado está intimamente relacionado com a redução de marcação da conexina 43 na membrana plasmática das células J774-G8 observado na Figura 27.2. A redução na expressão e posicionamento das conexinas nas células pode resultar em uma comunicação intercelular deficiente entre os macrófagos e outras células do microambiente e prejudicar a resposta imune à infecção em curso (Valdebenito, Barreto, Eugenin, 2018).

Além disso, a diminuição da expressão da Cx43 pode acarretar o comprometimento da troca de sinais e moléculas essenciais para a resposta imunológica, como cálcio (Ca^{2+}) e outros mediadores de sinalização importantes (Tittarelli *et al*., 2020). Em adição, a diminuição na atividade das junções comunicantes, também pode afetar o processo de recrutamento e coordenação de células do sistema imunológico no local da infecção e prejudicar a defesa do hospedeiro (Anand *et al*., 2008; Neijssen, Pang, Neefjes, 2007).

Verifica-se que após 48h de infecção, houve um aumento da expressão e marcação da proteína Cx43 na linhagem celular J774-G8, quando comparado com o horário de 24h. O resultado mencionado está alinhado com os achados obtidos por De Carvalho *et al.* (2021), que observou o mesmo comportamento da célula macrofágica durante a parasitemia causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*.

Diversos trabalhos encontrados na literatura mostram, a participação dos macrófagos em várias atividades na imunidade inata e adaptativa, e que algumas destas funções, possuem papéis fundamentais e estão interligadas à proteína Cx43 (Gordon, Martinez, 2010; Rodjakovic, Salm, Beldi, 2021; Valdebenito, Barreto, Eugenin, 2018). Visto que a Cx43 participa de inúmeras funções realizadas pelos macrófagos, que incluem: desde a migração; a apresentação de antígenos; a comunicação direta de célula a célula; a comunicação parácrina na forma de HCs de conexina; a regulação imunomoduladora nos pulmões; a regulação do batimento cardíaco, quando em eventos inflamatórios; a diferenciação de macrófagos; entre outros processos (Dbouk *et al*., 2009; Dosch *et al*., 2019; Hulsmans *et al*., 2017; Ribeiro-Rodrigues *et al.,* 2017; Valdebenito, Barreto, Eugenin, 2018).

A disfunção das junções comunicantes (gap) também pode afetar a regulação da morte celular programada (apoptose) (Giardina, *et al*., 2007). Além do que, a comunicação intercelular deficiente pode diminuir a capacidade de células infectadas de sinalizar para outras células imunes sobre a necessidade de eliminação das células

infectadas, o que pode permitir que macrófagos infectados por *Leishmania* sobrevivam por mais tempo e favoreçam a persistência do parasita (Podinovskaia e Descoteaux, 2015).

As alterações que ocorrem nas junções gap refletem a capacidade da *Leishmania amazonensis* em manipular o ambiente imunológico e celular para favorecer sua persistência ao impedir uma resposta efetiva do hospedeiro mamífero. A modulação das junções comunicantes pode ser mais um dos mecanismos, pelos quais o parasita utiliza para escapar da resposta imune e estabelecer infecções crônicas. Entretanto, especialmente dentro de sua célula hospedeira, a *Leishmania* desenvolveu várias abordagens para combater as atividades do macrófago, para conseguir alterar determinadas vias de sinalização e impedir que a célula hospedeira possa montar uma resposta imune eficaz, capaz de eliminar o parasita, ou até de comprometer a função do macrófago para apresentar os antígenos da *Leishmania* a outros componentes do sistema imunológico e, desta forma, possa escapar da resposta imune adaptativa (Shio *et al.,* 2012).

Esse comportamento corrobora com os achados em 72h de infecção, onde é observado o aumento do número de parasitas no ambiente intracelular, com a ocorrência de importantes alterações morfológicas e uma sensível redução da expressão da proteína Cx43 (Figura 26B). Os dados mencionados vão de encontro com dados da literatura, que indicam a manipulação que os parasitas de *Leishmania* realizam em seus hospedeiro para que consigam sobreviver no ambiente tão hostil do fagolisossomo, e, assim, possam se multiplicar até o rompimento da célula hospedeira e o que contribui com a progressão da infecção em novos macrófagos (Ikeogu *et al*., 2020).

O aumento de parasitas após as 72h de infecção converge com a redução da expressão da Cx43, e dessa forma, pode prejudicar a comunicação direta entre as células através das GJs, um fator muito importante em diversos processos fisiológicos e fundamental para o processamento das respostas imunes (Meng *et al*., 2022; Tittarelli *et al.,* 2020). A participação dos canais intercelulares de junção comunicantes formados pelas conexinas no sistema imunológico pode ocorrer de diversas maneiras como: nas sinapses fagocíticas; entre as células apresentadoras de antígenos (APCs); na composição funcional da sinapse de células T, ao ativar as células T e estimular uma possível sustentação da comunicação entre células T e as APCs; na sinapse de células B e células T, que ativam a imunidade adaptativa; na comunicação

leucócito-endotélio durante a transmigração celular, e outras atuações. Sendo assim, os resultados obtidos podem melhorar o entendimento de como as respostas imunológicas são processadas e reguladas nos diversos processos infecciosos, como no caso das doenças parasitárias (Bermudez-Fajardo *et al.,* 2007; Elgueta *et al.,* 2009; Meng *et al*., 2022; Niedergang, Di Bartolo, Alcover, 2016; Oviedo-Orta, Howard Evans, 2004; Tittarelli *et al.,* 2020).

Durante a infecção por *Leishmania amazonensis*, a fagocitose de promastigotas metacíclicos e de amastigotas se apresenta como um processo dependente de actina, dada a F-actina que se acumula ao redor dos parasitas durante e após a fagocitose. A internalização da forma promastigota metacíclico de *Leishmania* ocorre entre 3 e 9 minutos, com os parasitas iniciando sua divisão celular entre 24 e 48 horas após a infecção. Estudos indicam que, após 10 minutos, cerca de 40 a 55% dos promastigotas metacíclicos são rodeados por F-actina. De modo que, esse percentual é reduzido para 10 a 20% após 30 minutos e para apenas 5 a 10% após 1 a 2 horas. Tais achados sugerem que a F-actina sofre processos de polimerização e despolimerização durante a internalização da parasita, possivelmente formando ondulações nas áreas de entrada (Courret *et al*., 2002).

Diante dos fatos mencionados, apesar do perfil de distribuição das células infectadas com a *Leishmania amazonensis* se apresentar alterado, quando comparado com as células não infectadas, foi possível observar que: nos horários de 48h e 72h de infecção não houve diferença significativa na proporção da área marcada para F-actina, como apresentado na Figura 28.

Ao ser comparado com outras cepas de *Leishmania*, foi observado que a desestabilização do citoesqueleto de actina em macrófagos resulta numa redução na adesão de promastigotas *de Leishmania donovani* e na diminuição da carga de amastigotas intracelulares, o que se pode atribuir que a infecção por *Leishmania donovani* está intimamente ligada à capacidade de polimerização da actina na célula hospedeira (Roy *et al.,* 2014). De maneira semelhante, a redução de F-actina, e a desorganização dos microtúbulos, levam a uma menor interação entre a *Leishmania braziliensis* com macrófagos (Azevedo *et al.,* 2012).Diante dos fatos relatados, podemos inferir que a manutenção e organização do citoesqueleto tende a favorecer o processo de manutenção do parasita na célula hospedeira.

Considerando ainda, os estudos sobre as possíveis alterações relacionadas com a comunicação celular no modelo de infecção de células macrofágicas com a

Leishmania amazonensis, foi possível observar pontos de co-localização entre as proteínas Cx43 e F-actina mostrados nas Figuras 21D, 22D, 23D, 24D, 25D e 26D, evidenciando que a interação entre a Cx43 e o citoesqueleto em um possível processo de ancoragem, é essencial para a formação de canais juncionais funcionais. Estudos indicam que um citoesqueleto de actina intacto é necessário para a correta localização e funcionamento do Cx43 (Strauss, Gourdie, 2020).

Giepmans (2004) demonstrou um modelo de organização estrutural e molecular das junções celulares envolvidas com adesão e comunicação celular, esta última por intermédio de junções comunicantes formadas particularmente pela Cx43.

Dentre as proteínas envolvidas neste esquema, merecem destaque a α-catenina e α-actinina, estando estas envolvidas com a formação do citoesqueleto e na inserção da conexina na membrana plasmática. De acordo com Giepmans (2004), a proteína α-catenina está presente no complexo de proteínas que se encontram associadas com a proteína de adesão E-caderina, que está co-localizada e co-imunoprecipitada com a Cx43. Segundo Fujimoto *et al.* (1997), as α-cateninas estão co-localizadas com a Cx43 no início da formação da placa juncional na membrana plasmática, e são essenciais para o endereçamento e inserção da conexina na membrana, como foi observado por microscopia confocal.

Os mesmos experimentos de imunofluorescência foram realizados em culturas de células infectadas com a *Leishmania (L.) amazonensis* e indicaram uma sensível alteração no perfil de marcação para a proteína Cx43 conforme se verifica pelas Figuras 22B, 24B, 26B e 27, associada com oscilação da marcação para a Faloidina (F-actina), observado nas Figuras 22C, 24C, 26C e 28. Tais resultados estão alinhados com Campos de Carvalho *et al*. (1998) e De Carvalho *et al*. (2021), que demonstraram alterações estruturais em miócitos cardíacos e macrófagos, respectivamente, durante a infecção *in vitro* com *T. gondii*.

De acordo com os fatos mencionados e citados, observou-se neste estudo que o parasita *Leishmania amazonensis* é capaz de prejudicar o comportamento da célula hospedeira através de alterações provocadas na comunicação célula-célula.

8 CONCLUSÃO

Considerando, os dados obtidos em nossos estudos, podemos concluir que:

As células da linhagem macrofágica J77-4G8, no microambiente da infecção por *Leishmania (L.) amazonensis*, apresentaram modificações morfológicas em seus aspectos celulares em relação ao aumento no volume celular e aspecto mais granuloso, no período de 72h após a infecção pelo parasita;

O crescimento celular da linhagem macrofágica J774-G8 foi afetado pelo processo infeccioso da *Leishmania (L.) amazonensis* e provocou alterações no microambiente com desprendimento e lise das células infectadas, a partir do período de 48h após o início do processo infeccioso;

A viabilidade celular, das células J774-G8 infectadas, verificada pelos ensaios de MTT, revelou uma expressiva redução do tempo de vida celular a partir de 48h de infecção, o que pode estar relacionada com a morte dos parasitas;

As células de linhagem macrofágica J774-G8 infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis*, apresentaram variações nos níveis de expressão da proteína Cx43, de acordo com o tempo decorrido da infecção, o que pode provocar alterações na modulação e posicionamento da Cx43 e prejudicar o comportamento da célula hospedeira no processo de comunicação célula-célula por junções comunicantes;

As células de linhagem macrofágica J774-G8 infectadas com *Leishmania (L.) amazonensis*, apresentaram através da análise pelo método de Western Blot, um aumento na expressão da Cx43 no período de 48h, quando comparadas com as células não infectadas;

Em relação à proteína F-actina, observamos haver um aumento expressivo níveis da distribuição da F-actina nas culturas de células J774-G8 infectadas com *L. amazonensis*, até o período de 48h, sendo seguido por uma redução até o período de 72h. A alteração no citoesqueleto evidenciada na distribuição da F-actina nos tempos observados, pode indicar uma tentativa da célula hospedeira em direcionar a Cx43 para seu local morfofuncional na membrana celular, a fim de formar as junções comunicantes e manter a comunicação intercelular.

Desta forma, com os resultados obtidos neste trabalho, sugerimos a realização de outros estudos e possibilitar um maior conhecimento sobre o papel das junções comunicantes no microambiente da infecção causada por *Leishmania (Leishmania) amazonensis* e associar os mecanismos da comunicação celular à novas perspectivas

de intervenções terapêuticas que proporcionem medidas para reduzir não só de reduzir a carga parasitária, como também, de amenizar os efeitos imunopatológicos gerados pela leishmaniose.

REFERÊNCIAS

AASEN, T. *et al*. Gap junctions and cancer: communicating for 50 years. **Nature reviews. Cancer**, England, v. 16, n. 12, p. 775-788, 2016. DOI: 10.1038/nrc.2016.105. Erratum in: **Nature reviews. Cancer**, 2017, v. 17, n. 1, p. 74. 10.1038/nrc.2016.142. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5279857/pdf/nihms-843655.pdf.

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular** Elsevier. Rio de Janeiro; 9ª edição. 2019. 576 p. ISBN 9788535290745.

ABDELLAHI, L. *et al*. Vaccination in Leishmaniasis: A Review Article. **Iranian biomedical journal**, Iran, v. 26, n. 1, p. 1-35, 2022. DOI: 10.52547/ibj.26.1.35. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8784899/pdf/ibj-26-01.pdf. Acesso em: 20 mar. 2022.

AKHOUNDI, M. *et al*. A Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of *Leishmania* Parasites and Sandflies. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, United States, v. 10, n. 3, article e0004349, p. 1-40, 2016. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004349. Erratum in: PLoS Negl Trop Dis., United States, v. 10, n. 6, article e0004770, June 2016. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004349. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4777430/pdf/pntd.0004349.pdf.

AKHOUNDI, M. *et al*. *Leishmania* infections: Molecular targets and diagnosis. **Molecular aspects of medicine**, England, v. 57, p. 1-29, 2017. DOI: 10.1016/j.mam.2016.11.012 009. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0098299716300450?via%3Dihub.

AKILOV, O. E.; KHACHEMOUNE, A.; HASAN, T. Clinical manifestations and classification of Old World cutaneous leishmaniasis. **International journal of dermatology**, England, v. 46, n. 2, p. 132-142, 2007. DOI: 10.1111/j.1365-4632.2007.03154.x. Disponível em: https://www.wellesu.com/https://doi.org/10.1111/j.1365-4632.2007.03154.x.

ALCOLEA, P. J. et al. Functional genomics in sand fly-derived Leishmania promastigotes. PLoS **neglected tropical diseases**, United States, v. 13, n. 5, article: e0007288, 2019. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007288. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6508610/pdf/pntd.0007288.pdf.

ALEIXO, J. A. *et al*. Atypical American visceral leishmaniasis caused by disseminated *Leishmania amazonensis* infection presenting with hepatitis and adenopathy. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, England, v. 100, n. 1, p. 79-82, 2006. DOI: 10.1016/j.trstmh.2005.06.025. Disponível em: https://academic.oup.com/trstmh/article-abstract/100/1/79/1872962?redirectedFrom=fulltext&login=false.

ALEXANDER, B.; MAROLI, M. Control of phlebotomine sandflies**. Medical and veterinary entomology**, England, v. 17, n. 1, 2003. DOI: 10.1046/j.1365-2915.2003.00420.x. Disponível em: https://resjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.1365-2915.2003.00420.x?sid=nlm%3Apubmed.

ALEXANDER, D. B.; GOLDBERG, G. S. Transfer of biologically important molecules between cells through gap junction channels. **Current medicinal chemistry**, United Arab Emirates, v. 10, n. 19, p. 2045-2058, 2003. DOI: 10.2174/0929867033456927. Disponível em: https://www.eurekaselect.com/article/8801.

ALEXANDER, J.; SATOSKAR, A. R.; RUSSELL, D. G. *Leishmania* species: models of intracellular parasitism. **Journal of cell science**, England, v. 112, issue 18, p. 2993-3002, 1999. DOI: 10.1242/jcs.112.18.2993. Disponível em: https://journals.biologists.com/jcs/article/112/18/2993/25771/Leishmania-species-models-of-intracellular.

ALVAR, J. *et al*. WHO Leishmaniasis Control Team. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. **PLoS One**, United States, v. 7, issue 5, article e35671, 2012. DOI: 10.1371/journal.pone.0035671. Disponível e: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3365071/pdf/pone.0035671.pdf.Acesso em: 25 May 2018.

ALVES, L. A. *et al*. Are there functional gap junctions or junctional hemichannels in macrophages? **Blood**, United States, v. 88, n. 1, p. 328-334, 1996. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006497120646365?via%3Dihub.

AMATO, V. S.; DE ANDRADE, H. F.; DUARTE, M. I. Mucosal leishmaniasis: in situ characterization of the host inflammatory response, before and after treatment. **Acta tropica**, Netherlands, v. 85, n. 1, p. 39-49, 2003. DOI: 10.1016/s0001-706x(02)00260-7. Disponível em: https://repositorio-api.ipen.br/server/api/core/bitstreams/9b9b7a5e-cb63-4ceb-8f9c-922bc8e28d58/content.

ANAND, R. J. *et al*. A role for connexin43 in macrophage phagocytosis and host survival after bacterial peritoneal infection. **The Journal of immunology**, United States, v. 181, n. 12, p. 8534-8543, 2008. DOI: 10.4049/jimmunol.181.12.8534. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4893811/pdf/nihms-756344.pdf.

ANDRADE-NARVAEZ, F. J. *et al*. Asymptomatic infection with American cutaneous leishmaniasis: epidemiological and immunological studies. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, Brazil, v. 111, n. 10, p. 599-604, 2016. DOI: 10.1590/0074-02760160138. Disponível em: https://www.scielo.br/j/mioc/a/BR8rbJbbJbnFh4nYvfRRVKk/?format=pdf&lang=en.

APPELBERG, R. As células Fagocíticas. In: AZEVEDO, C.; SUNKEL, C. E. **Biologia Celular e molecular**. ed. 5. Lisboa: LIDEL, 2005. cap. 27, p. 491 - 502.

ARANGO DUQUE, G.; DESCOTEAUX, A. *Leishmania* survival in the macrophage: where the ends justify the means. **Current opinion in microbiology**, England, v. 26, p. 32-40, 2015. DOI: 10.1016/j.mib.2015.04.007. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1369527415000508?via%3Dihub.

ASMIS, R. Monocytes and Macrophages: A Fresh Look at Functional and Phenotypic Diversity. **Antioxidants & redox signaling**, United States, v. 25, n. 14, p. 756-757, 2016. DOI: 10.1089/ars.2016.6849. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5098125/pdf/ars.2016.6849.pdf.

ASSIS, L. H. C. Cell Cycle, Telomeres, and Telomerase in *Leishmania* spp.: What Do We Know So Far? **Cells**, Switzerland, v. 10, n. 11, article: 3195, 2021. DOI: 10.3390/cells10113195. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8621916/pdf/cells-10-03195.pdf.

AXELSEN, L. N. *et al*. Managing the complexity of communication: regulation of gap junctions by post-translational modification. **Frontiers in pharmacology**, Switzerland, v. 4, article 130, 2013. DOI: 10.3389/fphar.2013.00130. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3804956/pdf/fphar-04-00130.pdf.

AZAMI-CONESA, I.; GÓMEZ-MUÑOZ, M. T.; MARTÍNEZ-DÍAZ, R. A. A Systematic Review (1990-2021) of Wild Animals Infected with Zoonotic *Leishmania*. **Microorganisms**, Switzerland, v. 9, issue 5, article1101, 2021. DOI: 10.3390/microorganisms9051101. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8160881/pdf/microorganisms-09-01101.pdf.

AZEVEDO, E. *et al*. Interactions between *Leishmania braziliensis* and Macrophages Are Dependent on the Cytoskeleton and Myosin Va. **Journal of parasitology research**, United States, p. 275-436, 2012. DOI: 10.1155/2012/275436. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3391898/pdf/JPR2012-275436.pdf.

BAHRAMI, F.; HARANDI, A. M.; RAFATI, S. Biomarkers of Cutaneous Leishmaniasis. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, Switzerland, n. 8, article 222, 2018. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00222. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6029629/pdf/fcimb-08-00222.pdf.

BARRAL, A. *et al*. Leishmaniasis in Bahia, Brazil: evidence that *Leishmania amazonensis* produces a wide spectrum of clinical disease. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, United States, v. 44, n. 5, p. 536-546, 1991. DOI: 10.4269/ajtmh.1991.44.536. Disponível em: https://www.ajtmh.org/view/journals/tpmd/44/5/article-p536.xml.

BATES, P. A. Transmission of *Leishmania* metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies**. International journal for parasitology**, England, v. 37, n.10, p. 1097-1106, 2007. DOI: 10.1016/j.ijpara.2007.04.003. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0020751907001269?via%3Dihub.

BATES, P. A. *Leishmania* sand fly interaction: progress and challenges. Curr Opin Microbiol, **Current opinion in microbiology**, England, v. 11, n. 4, p. 340-344, 2008. DOI: 10.1016/j.mib.2008.06.003. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2675783/pdf/ukmss-4824.pdf.

BATES, P. A.; ROGERS, M. E. New insights into the developmental biology and transmission mechanisms of *Leishmania*. **Current molecular medicine**, Netherlands, v. 4, n. 6, p. 601-609, 2004. DOI: 10.2174/1566524043360285. Disponível em: https://www.eurekaselect.com/article/7641.

BENCHIMOL, M.; DE SOUZA, W. *Leishmania mexicana amazonensis*: attachment to the membrane of the phagocytic vacuole of macrophages in vivo. **Zeitschrift für Parasitenkunde**, Germany, v. 66, n.1, p. 25-29, 1981. DOI: 10.1007/BF00941942. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/BF00941942.

BENNETT, M. V. *et al*. Gap junctions: new tools, new answers, new questions. **Neuron**, United States, v. 6, n. 3, p. 305-320, 1991. DOI: 10.1016/0896-6273(91)90241-Q. Disponível em: https://www.cell.com/neuron/abstract/0896-6273(91)90241-Q?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2F08966273919024 1Q%3Fshowall%3Dtrue.

BENNETT, M. V. *et al*. New roles for astrocytes: gap junction hemichannels have something to communicate. **Trends in neurosciences**, England, v. 26, n. 11, p. 610-617, 2003. DOI: 10.1016/j.tins.2003.09.008. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3694339/pdf/nihms434659.pdf.

BENNETT, M. V.; ZUKIN, R. S. Electrical coupling and neuronal synchronization in the Mammalian brain. **Neuron**, United States, v.41, n. 4, p. 495-511, 2004. DOI: 10.1016/s0896-6273(04)00043-1. Disponível em: https://www.cell.com/neuron/fulltext/S0896-6273(04)00043-1?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0896627304000431%3Fshowall%3Dtrue.

BENNETT, P. B. *et al*. On the molecular nature of the lidocaine receptor of cardiac Na+ channels. Modification of block by alterations in the alpha-subunit III-IV interdomain. **Circulation research**, United States, v. 77, n. 3, p. 584-592, 1995. DOI: 10.1161/01.RES.77.3.584. Disponível em: https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/01.res.77.3.584?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%200pubmed.

BENNIS, I. *et al*. "The mosquitoes that destroy your face". Social impact of Cutaneous Leishmaniasis in South-eastern Morocco, A qualitative study. **PLoS One**, United States, v. 12, issue12, article e0189906, 2017. DOI: 10.1371/journal.pone.0189906. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5738074/pdf/pone.0189906.pdf.

BENOIT, M.; DESNUES, B.; MEGE, J. L. Macrophage polarization in bacterial infections. **The Journal of immunology**, United States, v. 181, n. 6, p. 3733-3739, 2008. DOI: 10.4049/jimmunol.181.6.3733. Disponível em: https://journals.aai.org/jimmunol/article/181/6/3733/84764/Macrophage-Polarization-in-Bacterial-Infections.

BERGTHALER, A.; MENCHE, J. The immune system is a social network. **Nature immunology**, United States, v. 18, n. 5, p. 481-482, 2017. DOI: 10.1038/ni.3727. Disponível em: https://www.nature.com/articles/ni.3727.

BERMUDEZ-FAJARDO *et al*. CD4+ T lymphocyte subsets express connexin 43 and establish gap junction channel communication with macrophages in vitro. **Journal of leukocyte biology**, England, v. 82, n. 3, p. 608-612, 2007. DOI: 10.1189/jlb.0307134. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2847614/pdf/ukmss-29192.pdf.

BERN, C.; MAGUIRE, J. H.; ALVAR, J. Complexities of assessing the disease burden attributable to leishmaniasis. **A PLoS negligenciou doenças tropicais**, United States, v.2, issue 10, article e313, 2008. DOI: 10.1371/journal.pntd.0000313. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2569207/pdf/pntd.0000313.pdf. Acesso em: 25 nov. 2019.

BERRIDGE, M. V.; HERST, P. M.; TAN, A. S. Tetrazolium dyes as tools in cell biology: new insights into their cellular reduction. **Biotechnology annual review**, Netherlands, v. 11, p. 127-52, 2005. DOI: 10.1016/S1387-2656(05)11004-7. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1387265605110047?via%3Dihub.

BEYER, E. C.; BERTHOUD, V. M. Gap junction gene and protein families: Connexins, innexins, and pannexins. **Biochimica et biophysica acta**. Biomembranes, Netherlands, v. 1860, n. 1, p. 5-8, 2018. DOI: 10.1016/j.bbamem.2017.05.016. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5704981/pdf/nihms885096.pdf.

BEYER, E. C.; EBIHARA, L.; BERTHOUD, V. M. Connexin mutants and cataracts. **Frontiers in pharmacology**, Switzerland, v. 4, article 43, 2013. DOI: 10.3389/fphar.2013.00043. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3625720/pdf/fphar-04-00043.pdf.

BEYER, E. C.; PAUL, D. L.; GOODENOUGH, D. A. Connexin43: a protein from rat heart homologous to a gap junction protein from liver. **The Journal of cell biology**, United States, v. 105, n. 6, Pt 1, p. 2621-2629, 1987. DOI: 10.1083/jcb.105.6.2621. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2114703/pdf/jc10562621.pdf.

BEYER, E. C.; STEINBERG, T. H. Evidence that the gap junction protein connexin-43 is the ATP-induced pore of mouse macrophages. **The Journal of biological chemistry**, United States, v. 266, n. 13, p. 7971-7974, 1991. Disponível em: https://www.jbc.org/article/S0021-9258(18)92924-8/pdf.

BHAT, A.; WOOTEN, R. M.; JAYASURIYA, A. C. Secretion of growth factors from macrophages when cultured with microparticles. **Journal of biomedical materials research. Part A**, United States, v. 101, n. 11, p. 3170-3180, 2013. DOI: 10.1002/jbm.a.34604. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4106031/pdf/nihms473502.pdf.

BHATTACHARJEE A, BISWAS A, DAS, P. K. The Tale of Mastering Macrophage Environment through the Control of Inflammasome-Mediated Macrophage Activation and cAMP Homeostasis by the Protozoan Parasite Leishmania [Internet]. In: **Macrophages - Celebrating 140 Years of Discovery.** IntechOpen, 2022. 392 p. Disponível em: http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.102671. Acesso em 12 mar 2022.

BIRKLE, T.; BROWN, G. C. I'm Infected, Eat Me! Innate Immunity Mediated by Live, Infected Cells Signaling To Be Phagocytosed. **Infection and immunity**, United States, v. 89, n. 5, article e00476-20, 2021. DOI: 10.1128/IAI.00476-20. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8091084/pdf/IAI.00476-20.pdf.

BITTENCOURT, A. L. *et al*. Leishmaniasis recidiva cutis in American cutaneous leishmaniasis. **International journal of dermatology**, England, v. 32, n. 11, p. 802-805, 1993. DOI: 10.1111/j.1365-4362.1993.tb02767.x. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-4362.1993.tb02767.x?sid=nlm%3Apubmed.

BLOM, J. M. C.; OTTAVIANI, E. Immune-Neuroendocrine Interactions: Evolution, Ecology, and Susceptibility to Illness. **Medical science monitor basic research**, United States, v. 23, p. 362-367, 2017. eISSN 2325-4416 DOI: 10.12659/msmbr.907637. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5701458/pdf/medscimonitbasicres-23-362.pdf. Acesso em: 16 ago 2019.

BLUM, J. A.; HATZ, C. F. Treatment of cutaneous leishmaniasis in travelers. **Journal of travel medicine**, England, v. 16, issue 2, p. 123-31, 2009. DOI: 10.1111/j.1708-8305.2008.00286.x. Disponível em: https://academic.oup.com/jtm/article/16/2/123/1800822?login=false.

BOENGLER, K. *et al*. Importance of Cx43 for Right Ventricular Function. **International journal of molecular sciences**, Switzerland, v. 22, n. 3, article 987, 2021. DOI: 10.3390/ijms22030987. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7863922/pdf/ijms-22-00987.pdf.

BOGDAN, C.; RÖLLINGHOFF, M.; SOLBACH, W. Evasion strategies of *Leishmania* parasites. **Parasitology today**, England, v. 6, n. 6, p. 183-187, 1990. DOI: 10.1016/0169-4758(90)90350-d. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/016947589090350D?via%3Dihub.

BONILLA, F. A.; OETTGEN, H. C. Adaptive immunity. **The Journal of allergy and clinical immunology**, United States, v. 125, n. 2, Suppl 2, p. S33-S40, 2010. DOI: 10.1016/j.jaci.2009.09.017. Disponível em: https://www.jacionline.org/article/S0091-6749(09)01405-5/fulltext.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, United States, v. 72, p. 248-54, 1976. DOI: 10.1016/0003-2697(76)90527-3. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0003269776905273?via%3Dihub.

BRAHIM, L.R. *et al*. Low dose systemic or intralesional meglumine antimoniate treatment for American tegumentary leishmaniasis results in low lethality, low incidence of relapse, and low late mucosal involvement in a referral center in Rio de Janeiro, Brazil (2001-2013). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. Brazil, v. 112, n. 12, p. 838-843, 2017. DOI: 10.1590/0074-02760160478. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5719553/pdf/0074-0276-mioc-112-12-0838.pdf.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar [recurso eletrônico]**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2017. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_leishmaniose_tegumentar.pdf . Acesso em: 15 ago. 2018.

BRITTINGHAM, A. *et al*. Interaction of *Leishmania* gp63 with cellular receptors for fibronectin. **Infection and immunity**, United States, v. 67, n. 9, p. 4477-4484, 1999. DOI: 10.1128/IAI.67.9.4477-4484.1999. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC96767/pdf/ii004477.pdf.

BRUZZONE, R.; WHITE, T. W.; GOODENOUGH, D. A. The cellular Internet: on-line with connexins. **Bioessays**, United States, v. 18, n. 9, p. 709-718, 1996. DOI: 10.1002/bies.950180906. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bies.950180906.

BURCHMORE, R.; BARRETT MP. Life in vacuoles--nutrient acquisition by *Leishmania* amastigotes. **International journal for parasitology**, England, v. 31, n. 12, p. 1311-1320, 2001. DOI: 10.1016/s0020-7519(01)00259-4. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0020751901002594?via%3Dihub.

BULSTRA, C. A. *et al*. Visceral leishmaniasis: spatiotemporal heterogeneity and drivers underlying the hotspots in Muzaffarpur, Bihar, India. **PLoS neglected tropical diseases**, United States, v. 12, n. 12, 2018. DOI: 10.1371/journal.pntd.0006888. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6283467/pdf/pntd.0006888.pdf.

BURZA, S.; CROFT, S. L.; BOELAERT, M. Leishmaniasis. **The Lancet**, England, v. 392, issue 10151, p. 951-970, 2018. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)31204-2. Disponível em: https://www.thelancet.com/action/showPdf?pii=S0140-6736%2818%2931204-2.

CARNEIRO, M. B.; PETERS, N. C. The Paradox of a Phagosomal Lifestyle: How Innate Host Cell-*Leishmania amazonensis* Interactions Lead to a Progressive Chronic Disease. **Frontiers in immunology**, Switzerland, v. 7, n. 12, article: 728848, 2021. DOI: 10.3389/fimmu.2021.728848. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8452962/pdf/fimmu-12-728848.pdf.

CAMPOS DE CARVALHO, A. C. *et al*. Gap junction disappearance in astrocytes and leptomeningeal cells as a consequence of protozoan infection. **Brain research**, Netherlands, v. 790, issue 1-2, p. 304-314, 1998. DOI: 10.1016/s0006-8993(97)01523-0. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006899397015230?via%3Dihub.

CARVALHO, B. M. *et al*. Ecological Niche Modelling Predicts Southward Expansion of *Lutzomyia (Nyssomyia) flaviscutellata* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), Vector of *Leishmania (Leishmania) amazonensis* in South America, under Climate Change. **PLoS One**, United States, v.10, n. 11, article: e0143282, 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0143282. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4664266/pdf/pone.0143282.pdf. Acesso em: 23 abr. 2019.

CAVAILLON, J. M. The historical milestones in the understanding of leukocyte biology initiated by Elie Metchnikoff. **Journal of leukocyte biology**, England, v. 90, n. 3, p. 413-424, 2011. DOI: 10.1189/jlb.0211094. Disponível em: https://academic.oup.com/jleukbio/article-abstract/90/3/413/6960314?redirectedFrom=fulltext&login=false.

CECÍLIO, P. *et al*. Deception and manipulation: the arms of *Leishmania*, a successful parasite. **Frontiers in immunology**, Switzerland, v. 5, article 480, 2014. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00480. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4202772/pdf/fimmu-05-00480.pdf.

CECÍLIO, P.; CORDEIRO-DA-SILVA, A.; OLIVEIRA, F. Sand flies: Basic information on the vectors of leishmaniasis and their interactions with *Leishmania* parasites. **Communications biology**, England, v. 5, n. 1, article: 305, 2022. DOI: 10.1038/s42003-022-03240-z. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8979968/pdf/42003_2022_Article_3240.pdf

CHAGAS, E. C. D. S. *et al*. Composition of sand fly fauna (Diptera: Psychodidae) and detection of *Leishmania* DNA (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) in different ecotopes from a rural settlement in the central Amazon, Brazil. **Parasites & vectors**, England, v. 11, n. 1, article 180, 2018. DOI: 10.1186/s13071-018-2743-6. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5848579/pdf/13071_2018_Article_2743.pdf.

CHANG, K. P.; CHAUDHURI, G.; FONG, D. Molecular determinants of *Leishmania* virulence. **Annual review of microbiology**, United States, v. 44, p. 499-529, 1990. DOI: 10.1146/annurev.mi.44.100190.002435. Disponível em: https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev.mi.44.100190.002435.

CHANG, K. P. *et al*. *Leishmania* model for microbial virulence: the relevance of parasite multiplication and pathoantigenicity. **Acta tropica**, Netherlands, v. 85, n. 3, p. 375-390, 2003. DOI: 10.1016/s0001-706x(02)00238-3. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0001706X02002383?via%3Dihub.

CHAZAUD, B. Inflammation and Skeletal Muscle Regeneration: Leave It to the Macrophages! **Trends in immunology**, England, v. 41, n. 6, p. 481-492, 2020. DOI: 10.1016/j.it.2020.04.006. Disponível em: https://www.cell.com/trends/immunology/abstract/S1471-4906(20)30071-5?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1471490620300715%3Fshowall%3Dtrue.

CHEN, C. Y. *et al*. Beyond defense: regulation of neuronal morphogenesis and brain functions via Toll-like receptors. **Journal of Biomedical**, England, v. 26, n. 1, p. 90, 2019. DOI: 10.1186/s12929-019-0584-z. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6827257/pdf/12929_2019_Article_584.pdf.

COJEAN, S.; NICOLAS, V.; LIÉVIN-LE MOAL, V. The macrophage microtubule network acts as a key cellular controller of the intracellular fate of *Leishmania infantum*. **PLoS neglected tropical diseases**, United States, v. 14, n. 7, article e0008396, p. 1-28, 2020. DOI: 10.1371/journal. pntd.0008396. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7386624/pdf/pntd.0008396.pdf. Acesso em: 10 jan. 2021.

CONCEIÇÃO-SILVA, F.; ALVES, C. R. **Leishmanioses do continente americano** [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2014, 511 p., eISBN 978-85-7541-568-9. DOI: 10.7476/9788575415689. Disponível em: https://books.scielo.org/id/dgkx2/pdf/conceicao-9788575415689.pdf. Acesso em: 23 jul. 2023.

CONCEIÇÃO-SILVA, F.; LEITE-SILVA, J.; MORGADO, F. N. The binomial parasite-host iImmunity in the healing process and in reactivation of human tegumentary leishmaniasis. **Frontiers in microbiology**, Switzerland, v. 9, article 1308, 2018. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01308. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6018218/pdf/fmicb-09-01308.pdf.

CORMAN, H. N.; MCNAMARA, C. W.; BAKOWSKI, M. A. Drug Discovery for Cutaneous Leishmaniasis: A Review of Developments in the Past 15 Years. **Microorganisms**, Switzerland, v. 11, n. 12, article 2845, 2023. DOI: 10.3390/microorganisms11122845. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10745741/pdf/microorganisms-11-02845.pdf. Acesso em: 20 jan. 2024.

COSTA, C. H. N. *et al*. From Infection to Death: An Overview of the Pathogenesis of Visceral Leishmaniasis. **Pathogens**, Switzerland, v. 12, n. 7, article 969, 2023. DOI: 10.3390/pathogens12070969. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10384967/pdf/pathogens-12-00969.pdf.

COSTA-DA-SILVA, A. C. *et al*. Immune Responses in Leishmaniasis: An Overview. **Tropical medicine and infectious disease**, Switzerland, v. 7, n. 4, article 54, 2022. DOI: 10.3390/tropicalmed7040054. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9029249/pdf/tropicalmed-07-00054.pdf.

COSTA, D.L.; COSTA, C.H.N. Leishmaniose Visceral. In: CONCEIÇÃO-SILVA, F., and ALVES, C. R., comps. **Leishmanioses do continente americano [online]**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2014, pp. 327-353. eISBN 978-85-7541-568-9. DOI: 10.7476/9788575415689. Disponível em: https://books.scielo.org/id/dgkx2/pdf/conceicao-9788575415689.pdf. Acesso em: 22 maio 2018.

COURRET, N. *et al*. Biogenesis of *Leishmania*-harbouring parasitophorous vacuoles following phagocytosis of the metacyclic promastigote or amastigote stages of the parasites. **Journal of cell science**, England, v. 115, Pt 11, p. 2303-2016, 2002. DOI: 10.1242/jcs.115.11.2303. Disponível em: https://journals.biologists.com/jcs/article/115/11/2303/2850/Biogenesis-of-Leishmania-harbouring#skipNav.

COURTENAY, O. *et al.* Combining epidemiology with basic biology of sand flies, parasites, and host to inform leishmaniasis transmission dynamic and control. **PLoS pathogens**. United States, v.13, n.10, p.1-13, 2017. DOI: 10.1371/journal.ppat.1006571. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5648254/pdf/ppat.1006571.pdf.

COUTINHO-ABREU, I. V. *et al*. Distinct gene expression patterns in vector-residing *Leishmania infantum* identify parasite stage-enriched markers. **PLoS neglected tropical diseases**, United States, v. 14, n. 3, article: e0008014, 2020. DOI: 10.1371/journal.pntd.0008014. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7053709/pdf/pntd.0008014.pdf. Acesso em: 20 jun.2021.

CRUVINEL, W. M. *et al*. Immune system - part I. Fundamentals of innate immunity with emphasis on molecular and cellular mechanisms of inflammatory response. **Revista Brasileira de Reumatologia**, Brazil, v. 50, n. 4, p. 434-461, 2010. DOI: 10.1590/S0482-50042010000400008. Disponível em: https://www.scielo.br/j/rbr/a/QdW9KFBP3XsLvCYRJ8Q7SRb/?format=pdf&lang=pt.

CUNNINGHAM, A.C. Parasitic adaptive mechanisms in infection by *Leishmania*. **Experimental and molecular pathology**, Netherlands, v. 72, n. 2, p. 132-141, 2002. DOI: 10.1006/exmp.2002.2418. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0014480002924184?via%3Dihub.

DABI, Y. T.; AJAGBE, A. O.; DEGECHISA, S. T. Toll-like receptors in pathogenesis of neurodegenerative diseases and their therapeutic potential. **Immunity, inflammation and disease**, England, v. 11, 4, article: e839, 2023. DOI: 10.1002/iid3.839. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10116887/pdf/IID3-11-e839.pdf. Acesso em 24 out. 2023.

DAGENAIS, A.; VILLALBA-GUERRERO, C.; OLIVIER, M. Trained immunity: A "new" weapon in the fight against infectious diseases. **Frontiers in Immunology**, Switzerland, v. 14, p. 1147476, 2023. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1147476. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10040606/pdf/fimmu-14-1147476.pdf.

DAS, A. *et al*. Monocyte and macrophage plasticity in tissue repair and regeneration. **The American journal of pathology**, United States, v. 185, n. 10, p. 2596-2606, 2015. DOI: 10.1016/j.ajpath.2015.06.001. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4607753/pdf/main.pdf.

DA SILVA, I. A. Jr. *et al*. In vitro metacyclogenesis of *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *Leishmania (Leishmania) amazonensis* clinical field isolates, as evaluated by morphology, complement resistance, and infectivity to human macrophages. **BioMed research international**, United States, 2015:393049, 2015. DOI: 10.1155/2015/393049. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4324811/pdf/BMRI2015-393049.pdf.

DAS SARMA, J. *et* al. Multimeric connexin interactions prior to the trans-Golgi network. **Journal of cell science**, England, v. 114, Pt 22, p. 4013-4024, 2001. DOI: 10.1242/jcs.114.22.4013. Disponível em: https://journals.biologists.com/jcs/article/114/22/4013/35505/Multimeric-connexin-interactions-prior-to-the.

DAVID, C. V.; CRAFT, N. Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Dermatologic therapy**, United States, v. 22, n. 6, p. 491-502, 2009. eISSN1529-8019. DOI: 10.1111/j.1529-8019.2009.01272.x. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1529-8019.2009.01272.x. Acesso em: 14 set. 2019.

DAVIES, C. R. *et al*. Leishmaniasis: new approaches to disease control. **British medical journal / British Medical Association**, England, v. 326, n. 7385, p. 377-382, 2003. DOI: 10.1136/bmj.326.7385.377. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1125241/pdf/377.pdf. Acesso em: 10 mar. 2019.

DAVIES, L. C. *et al*. Tissue-resident macrophages. **Nature immunology**, United States, v. 14, n. 10, p. 986-995, 2013. DOI: 10.1038/ni.2705. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4045180/pdf/emss-58335.pdf.

DAVIES, L. C.; TAYLOR, P. R. Tissue-resident macrophages: then and now. **Immunology**, England, v. 144, n. 4, p. 541-548, 2015. DOI: 10.1111/imm.12451. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4368161/pdf/imm0144-0541.pdf.

DBOUK, H. A. *et al*. Connexins: a myriad of functions extending beyond assembly of gap junction channels. **Cell communication and signaling**, England, v. 7, article 4, 2009. DOI: 10.1186/1478-811X-7-4. Disponível em: https://biosignaling.biomedcentral.com/articles/10.1186/1478-811X-7-4.

DEAN, C.; PICHERSKY, E.; DUNSMUIR, P. Structure, evolution, and regulation of RbcS genes in higher plants. **Annual Review of Plant Biology**, [*s.l.*], v. 40, p. 415-439, 1989. DOI: 10.1146/annurev.pp.40.060189.002215. Disponível em: https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev.pp.40.060189.002215.

DE CARVALHO, G. O. A. M. *et al*. Morphological evaluation of macrophage infected with Toxoplasma gondii. **Brazilian Journal of Development**, Brazil, v. 7, n. 1, p. 4035-4050, 2021. DOI: 10.34117/bjdv7n1-273. Disponível em: https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/22992/18473.

DE FREITAS BALANCO, J. M. *et al.* Apoptotic mimicry by an obligate intracellular parasite downregulates macrophage microbicidal activity. **Current biology: CB**, England, v. 11, n. 23, p. 1870-1873, 2001. DOI: 10.1016/s0960-9822(01)00563-2. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6964003/pdf/12964_2019_Article_482.pdf.

DE MORAIS, C. G. *et al*. The Dialogue of the Host-Parasite Relationship: *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi* Infection. **BioMed research international**, United States, issue 2015, article 324915, 2015. DOI: 10.1155/2015/324915. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4450238/pdf/BMRI2015-324915.pdf.

DEN BOER, M. *et al*. Leishmaniasis impact and treatment access. **Clinical Microbiology and Infection**, England, v. 17, n. 10, p. 1471-1477, 2011. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2011.03635.x. Disponível em: https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/action/showPdf?pii=S1198-743X%2814%2961861-9.

DE OLIVEIRA, J. P. *et al*. Genetic diversity of *Leishmania amazonensis* strains isolated in northeastern Brazil as revealed by DNA sequencing, PCR-based analyses and molecular karyotyping. **Kinetoplastid biology and disease**, England, v. 6, n. 5, p. 1-8, 2007. DOI: 10.1186/1475-9292-6-5. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1919383/pdf/1475-9292-6-5.pdf.

DERMIETZEL, R.; SPRAY, D. C. Gap junctions in the brain: where, what type, how many and why? **Trends in neurosciences**, England, v. 16, n. 5, p. 186-192, 1993. DOI: 10.1016/0166-2236(93)90151-b. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/016622369390151B?via%3Dihub.

DESCOTEAUX, A.; TURCO, S. J. Glycoconjugates in Leishmania infectivity. **Biochimica et biophysica acta**, Netherlands, v. 1455, n. 2-3, p. 341-352, 1999. DOI: 10.1016/s0925-4439(99)00065-4. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925443999000654?via%3Dihub.

DESJARDINS, M.; DESCOTEAUX, A. Inhibition of phagolysosomal biogenesis by the *Leishmania* lipophosphoglycan. **The Journal of experimental medicine**, United States, v. 185, 12, p. 2061-2068, 1997. DOI: 10.1084/jem.185.12.2061. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2196352/pdf/96-2224.pdf.

DHEIN, S. Gap junction channels in the cardiovascular system: pharmacological and physiological modulation. **Trends in pharmacological sciences**, England, v. 19, n. 6, p. 229-241, 1998. DOI: 10.1016/S0165-6147(98)01192-4. Disponível em: https://www.cell.com/trends/pharmacological-sciences/abstract/S0165-6147(98)01192-4?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0165614798011924%3Fshowall%3Dtrue.

DOSCH, M. *et al.* Connexin-43-dependent ATP release mediates macrophage activation during sepsis. **eLife**, England, v. 8, article: e42670, 2019. DOI: 10.7554/eLife.42670Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6415938/pdf/elife-42670.pdf. Acesso em: 17 mar. 2019.

DOS SANTOS MEIRA, C.; GEDAMU, L. Protective or Detrimental? Understanding the Role of Host Immunity in Leishmaniasis. **Microorganisms**, Switzerland, v. 7, n. 12, article 695, 2019. DOI: 10.3390/microorganisms7120695. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6956275/pdf/microorganisms-07-00695.pdf.

DOSTÁLOVÁ, A.; VOLF, P. *Leishmania* development in sand flies: parasite-vector interactions overview. **Parasites & vectors**, England, v. 5, n. 276, p.1-12, 2012. DOI: http://www.parasitesandvectors.com/content/5/1/276. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3533922/pdf/1756-3305-5-276.pdf. Acesso em: 15 jul. 2019.

DUCLOS, S.; DESJARDINS, M. Subversion of a young phagosome: the survival strategies of intracellular pathogens. **Cellular microbiology**, United States, v. 2, n. 5, p. 365-377, 2000. DOI: 10.1046/j.1462-5822.2000.00066.x. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.1462-5822.2000.00066.x?sid=nlm%3Apubmed.

DUFFY, H. S.; DELMAR, M.; SPRAY, D. C. Formation of the gap junction nexus: binding partners for connexins. **Journal of physiology**, Paris, v. 96, n. 3-4, p. 243-249, 2002. DOI: 10.1016/s0928-4257(02)00012-8. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0928425702000128?via%3Dihub.

EBRAHIM, T.; EBRAHIM, A. S.; KANDOUZ, M. Diversity of Intercellular Communication Modes: A Cancer Biology Perspective. **Cells**, Switzerland, v. 13, n. 6, article 495, 2024. DOI: 10.3390/cells13060495. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10969453/pdf/cells-13-00495.pdf.

EDITORIAL - "O que sabemos é uma gota, o que ignoramos é um oceano" (Sir Isaac Newton). **Observatorium: Revista Eletrônica de Geografia**, *[S. l.]*, v. 1, n. 1, 2018. Disponível em: https://seer.ufu.br/index.php/Observatorium/article/view/43365. Acesso em: 19 out. 2024.

ELGUETA, R. *et al*. Molecular mechanism and function of CD40/CD40L engagement in the immune system. **Immunological Reviews**, England, v. 229, n. 1, p. 152-172, 2009. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2009.00782.x. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3826168/pdf/nihms-525684.pdf.

ELMAHALLAWY, E. K.; ALKHALDI, A. A. M. Insights into *Leishmania* Molecules and Their Potential Contribution to the Virulence of the Parasite. **Veterinary sciences**, Switzerland, v. 8, issue 2, article 33, Feb. 2021. DOI: 10.3390/vetsci8020033. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7924612/pdf/vetsci-08-00033.pdf.

EPELMAN, S.; LAVINE, K. J. Randolph GJ. Origin and functions of tissue macrophages. **Immunity**, United States, v. 41, n. 1, p. 21-35, 2014. DOI: 10.1016/j.immuni.2014.06.013. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4470379/pdf/nihms-697959.pdf.

ESPIR, T. T. *et al*. Evaluation of different diagnostic methods of American Cutaneous Leishmaniasis in the Brazilian Amazon. **Experimental Parasitology**, United States, v. 167, p. 1-6, 2016. DOI: 10.1016/j.exppara.2016.04.010 . Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014489416300728?via%3Dihub.

EUGENIN, E. A. Role of connexin/pannexin containing channels in infectious diseases. **FEBS letters**, England, v. 588, n. 8, p. 1389-1395, 2014. DOI: 10.1016/j.febslet.2014.01.030. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4229019/pdf/nihms561340.pdf.

EUGENIN, E. A. Role of cell-to-cell communication in cancer: New features, insights, and directions. **Cancer reports**, United States, v. 2, n. 6, article e1228, 2019. DOI: 10.1002/cnr2.1228. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7941562/pdf/CNR2-2-e1228.pdf.

EUGENIN, E. A. *et al*. The role of gap junction channels during physiologic and pathologic conditions of the human central nervous system. **Journal of neuroimmune pharmacology**, United States, v. 7, n. 3, p. 499-518, 2012. DOI: 10.1007/s11481-012-9352-5. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3638201/pdf/nihms406617.pdf.

EUGENÍN, E. A. *et al*. TNF-alpha plus IFN-gamma induce connexin43 expression and formation of gap junctions between human monocytes/macrophages that enhance physiological responses. **The Journal of immunology**, United States, v. 170, issue 3, p. 1320-1308, 2003. DOI: 10.4049/jimmunol.170.3.1320. Disponível em: https://journals.aai.org/jimmunol/article/170/3/1320/71218/TNF-Plus-IFN-Induce-Connexin43-Expression-and.

EVANS, W. H.; DE VUYST, E.; LEYBAERT, L. The gap junction cellular internet: connexin hemichannels enter the signalling limelight. **The Biochemical journal**, England, v. 397, n. 1, p. 1-14, 2006. DOI: 10.1042/BJ20060175. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1479757/pdf/bj3970001.pdf.

EVANS, W. H.; MARTIN, P. E. Gap junctions: structure and function (Review). **Molecular membrane biology**, England, v. 19, n. 2, p. 121-136, 2002. DOI: 10.1080/09687680210139839. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/09687680210139839.

FAFIÁN-LABORA, J. A.; O'LOGHLEN, A. Classical and Nonclassical Intercellular Communication in Senescence and Ageing. **Trends in cell biology**, England, v. 30, n. 8, p. 628-639, 2020. DOI: 10.1016/j.tcb.2020.05.003. Disponível em: https://www.cell.com/trends/cell-biology/fulltext/S0962-8924(20)30100-8?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0962892420301008%3Fshowall%3Dtrue#f0020.

FAYAZ, S. *et al*. An overview of the sand fly salivary proteins in vaccine development against leishmaniases. **Iranian journal of microbiology**, Iran, v. 14, n. 6, p. 792-801,.2022. DOI: 10.18502/ijm.v14i6.11253.Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9867623/pdf/IJM-14-792.pdf.

FERNANDES, J. C. R.; ZAMBONI, D. S. Mechanisms regulating host cell death during *Leishmania* infection. **mBio**, United States, v. 15, n. 11, article e0198023, 2024. DOI: 10.1128/mbio.01980-23. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11559009/pdf/mbio.01980-23.pdf. Acesso em: 16 jan. 2025.

FERRAZ, E.G. *et al*. Receptores Toll-Like: ativação e regulação da resposta imune. **RGO**, **Revista Gaúcha de Odontologia**, [online]. Porto Alegre, v. 59, n. 3, p. 483-490, 2011. ISSN 1981-8637. Disponível em: http://revodonto.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1981-86372011000400019. Acesso em: 22 jun 2023.

FINDLAY, R. C. *et al*. High-speed, three-dimensional imaging reveals chemotactic behaviour specific to human-infective *Leishmania* parasites. **eLife**, England, v. 10, article: e65051, 2021. DOI: 10.7554/eLife.65051. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8238501/pdf/elife-65051.pdf.

FIOCRUZ - Fundação Oswaldo Cruz: **Ciência e saúde pela vida**. Comunicação e informação: notícias, FIOCRUZ. 22 de novembro de 2023. Disponível em: https://portal.fiocruz.br/noticia/fiocruz-e-opas-padronizam-diagnostico-para-leishmaniose-cutanea-nas-americas. Acesso em 12 dez. 2023.

FITZGERALD, K. A.; KAGAN, J. C. Toll-like receptors and the control of immunity. **Cell**, United States, v. 180, n. 6, p. 1044 -1066, 2020. DOI: 10.1016/j.cell.2020.02.041. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9358771/pdf/nihms-1573424.pdf.

FLAGG-NEWTON, J.; SIMPSON, I.; LOEWENSTEIN, W. R. Permeability of the cell-to-cell membrane channels in mammalian cell junction. **Science**, , v. 205, n. 4404, p. 404-407, 1979. DOI: 10.1126/science.377490. Disponível em: https://www.science.org/doi/10.1126/science.377490?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%200pubmed.

FLEGONTOV, P. *et al*. Paratrypanosoma is a novel early branching trypanosomatid. **Current biology: CB**, England, v. 23, n. 18, p. 1787-1793, 2013. DOI: 10.1016/j.cub.2013.07.045. Disponível em: https://www.cell.com/current-biology/fulltext/S0960-9822(13)00868-3?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0960982213008683%3Fshowall%3Dtrue.

FORTES, F. S. *et al*. Modulation of intercellular communication in macrophages: possible interactions between GAP junctions and P2 receptors. **Journal of cell science**, England, v.117, issue 20, p. 4717-4726, 2004. DOI: 10.1242/jcs.01345. Disponível em: https://journals.biologists.com/jcs/article/117/20/4717/2931/Modulation-of-intercellular-communication-in.

FRANKEN, L.; SCHIWON, M.; KURTS, C. Macrophages: sentinels and regulators of the immune system. **Cellular microbiology**, United States, v. 18, n. 4, p. 475-487, 2016. DOI: 10.1111/cmi.12580. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/cmi.12580.

FUJIMOTO, J. *et al*. Molecular cloning and characterization of focal adhesion kinase of Drosophila melanogaster. Molecular biology of the cell, [*s.l*]. v. 8 (Suppl.): 399a, 1997.

FURSHPAN, E. J.; POTTER, D. D. Transmission at the giant motor synapses of the crayfish. **The Journal of physiology**, England, v. 145, n. 2, p. 289-325, 1959. DOI: 10.1113/jfisiol.1959.sp006143. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1356828/pdf/jphysiol01309-0068.pdf.

GAIETTA, G. *et al*. Multicolor and electron microscopic imaging of connexin trafficking. **Science**, United States, v. 296, n. 5567, p. 503-507, 2002. DOI: 10.1126/science.1068793. Disponível em: https://www.science.org/doi/10.1126/science.1068793?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%200pubmed.

GALLUZZI, L. *et al*. Real-time PCR applications for diagnosis of leishmaniasis. **Parasites & vectors**, England, v. 11, n. 1, article 273, 2018. DOI: 10.1186/s13071-018-2859-8. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5930967/pdf/13071_2018_Article_2859.pdf. Acesso em: 14 set. 2018.

GÁLVEZ, R. *et al*. Controlling phlebotomine sand flies to prevent canine *Leishmania infantum* infection: A case of knowing your enemy. **Research in veterinary science**, England, v. 121, p. 94-103, 2018. DOI: 10.1016/j.rvsc.2018.10.008. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0034528818303552?via%3Dihub.

GARCÍA, I. E. *et al*. Connexinopathies: a structural and functional glimpse. **BMC cell biology**, England, v. 17, Suppl 1, article 17, 2016. DOI: 10.1186/s12860-016-0092-x. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4896260/pdf/12860_2016_Article_92.pdf.

GARCÍA, I. E. *et* al. Redox-mediated regulation of connexin proteins; focus on nitric oxide. **Biochimica et biophysica acta**. Biomembranes, Netherlands, v. 1860, n. 1, p. 91-95, 2018. DOI: 10.1016/j.bbamem.2017.10.006. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0005273617303164?via%3Dihub.

GARCIA, M. S. A. *et al*. *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. Trends in parasitology, England, v. 41, issue: 1, p. 66-67, Jan. 2025. DOI: 10.1016/j.pt.2024.10.023. Acesso em: 30 abr. 2025. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1471492224003313.

GEBREMICHAEL, D. Zoonotic impact and epidemiological changes of leishmaniasis in Ethiopia. **Open veterinary journal**, Libya, v. 8, n. 4, p. 432-440, 2018. DOI: 10.4314/ovj.v8i4.13. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6258520/pdf/OpenVetJ-8-432.pdf.

GEISSMANN, F. *et al*. Development of monocytes, macrophages, and dendritic cells. **Science**, United States, v. 327, n. 5966, p. 656-661, 2010. DOI: 10.1126/science.1178331. Erratum in: **Science**, v. 330, n. 6009, p. 1319, Dec. 2010. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2887389/pdf/nihms175606.pdf.

GERLIER, D.; THOMASSET, N. Use of MTT colorimetric assay to measure cell activation. **Journal of immunological methods**, Netherlands, v. 94, v. 1-2, p. 57-63, 1986. DOI: 10.1016/0022-1759(86)90215-2. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0022175986902152?via%3Dihub.

GHASEMI, M. *et al*. The MTT Assay: Utility, Limitations, Pitfalls, and Interpretation in Bulk and Single-Cell Analysis. **International journal of molecular sciences**, Switzerland, v. 22, n. 23, article 12827, 2021. DOI: 10.3390/ijms222312827. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8657538/pdf/ijms-22-12827.pdf.

GIEPMANS, B. N. Gap junctions and connexin-interacting proteins. **Cardiovascular research**. England, v. 62, n. 2, p. 233-245, 2004. DOI: 10.1016/j.cardiores.2003.12.009. Disponível em: https://academic.oup.com/cardiovascres/article-abstract/62/2/233/315558?redirectedFrom=fulltext.

GILULA, N. B.; REEVES, O. R.; STEINBACH, A. Metabolic coupling, ionic coupling and cell contacts. **Nature**, England, v. 235, n. 5336, p. 262-265, 1972. DOI: 10.1038/235262a0. Disponível em: https://www.nature.com/articles/235262a0.

GIRAUD, E. *et al*. Promastigote secretory gel from natural and unnatural sand fly vectors exacerbate *Leishmania major* and *Leishmania tropica* cutaneous leishmaniasis in mice. **Parasitology**, England, v. 146, n. 14, p. 1796-1802, 2019. DOI: 10.1017/S0031182019001069. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6939171/pdf/S0031182019001069a.pdf.

GLASS, A. M.; SNYDER, E. G.; TAFFET, S. M. Connexins and pannexins in the immune system and lymphatic organs. **Cellular and molecular life sciences: CMLS**, Switzerland, v. 72, n. 15, p. 2899-2910, 2015. DOI: 10.1007/s00018-015-1966-3. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11113820/pdf/18_2015_Article_1966.pdf.

GLEISNER, M. A. *et al*. Atenção às lacunas na imunidade tumoral: impacto das conexões intercelulares mediadas por conexina. **Frontiers in immunology**, Switzerland, v. 8, article 1067, 2017. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01067. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5585150/pdf/fimmu-08-01067.pdf.

GOMES R, OLIVEIRA F. The immune response to sand fly salivary proteins and its influence on *Leishmania* immunity. **Frontiers in immunology**, Switzerland, v. 11, n. 3, article: 110, 2012. DOI: 10.3389/fimmu.2012.00110. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3349933/pdf/fimmu-03-00110.pdf.

GONTIJO, B.; CARVALHO, M. DE L. R. DE. Leishmaniose tegumentar americana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasil, v. 36, n. 1, p. 71–80, 2003. DOI: 10.1590/S0037-86822003000100011. Disponível em: https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/ZXND5L6KxmWJ8grGMsJMPDr/?format=pdf&lang=pt

GOODENOUGH, D. A.; PAUL, D. L. Gap junctions. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, United States, v. 1, n. 1, article a002576, 2009. DOI: 10.1101/cshperspect.a002576. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2742079/pdf/cshperspect-JCT-a002576.pdf.

GOONOO, N. *et al.* Nanomedicine-based strategies to improve treatment of cutaneous leishmaniasis**. Royal Society open science**, England, v. 9, n. 6, article: 220058, 2022. DOI: 10.1098/rsos.220058. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9198523/pdf/rsos.220058.pdf.

GORDON, S. Alternative activation of macrophages. **Nature reviews. Immunology**, England, v. 3, n. 1, p. 23-35, 2003. DOI: 10.1038/nri978. Disponível em: https://www.nature.com/articles/nri978.

GORDON, S. Elie Metchnikoff, the Man and the Myth. **Journal of innate immunity**, Switzerland, v. 8, n. 3, p. 223-227, 2016. DOI: 10.1159/000443331. Disponível em: https://karger.com/jin/article-abstract/8/3/223/180517/Elie-Metchnikoff-the-Man-and-the-Myth?redirectedFrom=fulltext.

GORDON, S. Phagocytosis: An Immunobiologic Process. **Immunity**, United States, v. 44, n. 3, p. 463-475, 2016. DOI: 10.1016/j.immuni.2016.02.026. Disponível em: https://www.cell.com/immunity/fulltext/S1074-7613(16)30065-6?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1074761316300656%3Fshowall%3Dtrue.

GORDON, S.; MARTINEZ, F. O. Alternative activation of macrophages: mechanism and functions. **Immunity**, United States, v. 32, n. 5, p. 593-604, 2010. DOI: 10.1016/j.immuni.2010.05.007. Disponível em: https://www.cell.com/immunity/fulltext/S1074-7613(10)00173-1?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1074761310001731%3Fshowall%3Dtrue.

GORDON S, TAYLOR PR. Monocyte and macrophage heterogeneity. **Nature reviews. Immunology**, England, v. 5, n. 12, p. 953-964, 2005. DOI: 10.1038/nri1733. Disponível em: https://www.nature.com/articles/nri1733.

GOSSAGE, S. M.; ROGERS, M. E.; BATES, P. A. Two separate growth phases during the development of *Leishmania* in sand flies: implications for understanding the life cycle. **International journal for parasitology**, England, v. 33, n. 10, p. 1027-1034, Esp. 2003. DOI: 10.1016/S0020-7519(03)00142-5. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0020751903001425?via%3Dihub.

GOTO, H., LAULETTA LINDOSO, J. A. Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Infectious disease clinics of North America**, United States, v. 26, issue 2, p. 293-307, 2012. DOI: 10.1016/j.idc.2012.03.001. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0891552012000104?via%3Dihub.

GOTO, H.; LINDOSO, J. A. L. Current diagnosis and treatment of cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Expert review of anti-infective therapy**, England, n. 8, issue 4, p. 419-433, 2010. DOI: 10.1586/eri.10.19. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/epdf/10.1586/eri.10.19?needAccess=true.

GOVERNO DE SANTA CATARINA. SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE. SUS. **Guia de Orientação / Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**. Diretoria de Vigilância Epidemiológica. Gerência de Vigilância em Zoonoses, Acidentes por Animais Peçonhentos e Doenças Transmitidas por Vetores. 7.ed. Santa Catarina: SES Santa Catarina, 2021. 75 p. Disponível em: https://dive.sc.gov.br/phocadownload/doencas-agravos/Leishmaniose%20Tegumentar%20Americana%20(LTA)/Publica%C3%A7%C3%B5es/Manual-orientacao-LTA-19-10-2022.pdf. Acesso em: 15 mar. 2022. p.14.

GROS, D. B.; NICHOLSON, B. J.; REVEL, J. P. Comparative analysis of the gap junction protein from rat heart and liver: is there a tissue specificity of gap junctions? **Cell**, United States, v. 35, n. 2, Pt 1, p. 539-549, 1983. DOI: 10.1016/0092-8674(83)90188-5. Disponível em: https://www.cell.com/cell/abstract/0092-8674(83)90188-5?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2F0092867483901885%3Fshowall%3Dtrue.

GULL K. The biology of kinetoplastid parasites: insights and challenges from genomics and post-genomics. **International journal for parasitology**, England, v. 31, issue 5-6, p. 443-452, 2001. DOI: 10.1016/s0020-7519(01)00154-0. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0020751901001540?via%3Dihub.

GUPTA, A. K. *et al.* The pathogenicity and virulence of *Leishmania* - interplay of virulence factors with host defenses. **Virulence**, United States, v. 13, n. 1, p. 903-935, 2022. DOI: 10.1080/21505594.2022.2074130. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9154802/pdf/KVIR_13_2074130.pdf.

GUPTA, G.; OGHUMU, S.; SATOSKAR, A. R. Mechanisms of immune evasion in leishmaniasis. **Advances in applied microbiology**, United States, v. 82, p. 155-84, 2013. DOI: 10.1016/B978-0-12-407679-2.00005-3. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3697132/pdf/nihms469225.pdf.

GUSEV, E.; ZHURAVLEVA, Y. Inflammation: A New Look at an Old Problem. **International journal of molecular sciences**, Switzerland, v. 23, n. 9, article 4596, 2022. DOI: 10.3390/ijms23094596. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9100490/pdf/ijms-23-04596.pdf.

HALLIDAY, C. *et al.* Cellular landmarks of *Trypanosoma brucei* and *Leishmania mexicana*. **Molecular and biochemical parasitology**, Netherlands, v. 230, p. 24-36, 2019. DOI: 10.1016/j.molbiopara.2018.12.003. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6529878/pdf/main.pdf.

HANDEL, A. *et al*. Gap junction-mediated antigen transport in immune responses. **Trends in immunology**, England, v. 28, issue 11, p. 463-466, 2007. DOI: 10.1016/j.it.2007.08.006. disponível em: https://www.cell.com/trends/immunology/abstract/S1471-4906(07)00226-8?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1471490607002268%3Fshowall%3Dtrue.

HANDMAN, E.; BULLEN, D. V. Interaction of *Leishmania* with the host macrophage. **Trends in parasitology**, England, v. 18, n. 8, p. 332-334, 2002. DOI: 10.1016/s1471-4922(02)02352-8. Disponível em: https://www.cell.com/trends/parasitology/abstract/S1471-4922(02)02352-8?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1471492202023528%3Fshowall%3Dtrue.

HAO, S. *et al*. Network Approaches for Dissecting the Immune System. **iScience**, United States, v. 23, n. 8, p. 101354, 2020. ISSN: 25890042. DOI: 10.1016/j.isci.2020.101354. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7390880/pdf/main.pdf. Acesso em: 03 maio 2021.

HARRINGTON, V.; GURUNG, P. Reconciling protective and pathogenic roles of the NLRP3 inflammasome in leishmaniasis. **Immunological reviews**, England, v. 297, n. 1, p. 53-66, 2020. DOI: 10.1111/imr.12886. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7643606/pdf/nihms-1641860.pdf.

HARRIS, A. L. Connexin channel permeability to cytoplasmic molecules. **Progress in biophysics and molecular biology**, England, v. 94, issues 1-2, p. 120-43, 2007. DOI: 10.1016/j.pbiomolbio.2007.03.011 . Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1995164/pdf/nihms25313.pdf.

HARRIS, A. L. Electrical coupling and its channels, **The Journal of general physiology**, United States, v. 150, n. 12, p. 1606-1639, 2018. DOI: 10.1085/jgp.201812203 1. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6279368/pdf/JGP_201812203.pdf.

HASSAN, A. A. *et al*. Antileishmanial Activities of Medicinal Herbs and Phytochemicals In Vitro and In Vivo: An Update for the Years 2015 to 2021. **Molecules**, Switzerland, v. 27, n. 21, article 7579, 2022. DOI: 10.3390/molecules27217579. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9656935/pdf/molecules-27-07579.pdf.

HERVÉ, J. C.; BOURMEYSTER, N.; SARROUILHE, D. Diversity in protein-protein interactions of connexins: emerging roles. **Biochimica et biophysica acta**, Netherlands, v. 1662, issues 1-2, p. 22-41, 2004. DOI: 10.1016/j.bbamem.2003.10.022. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0005273604000380?via%3Dihub.

HERVÉ, J. C. *et al.* Gap junctional complexes: from partners to functions. **Progress in biophysics and molecular biology**, England, v. 94, n. 1-2, p. 29-65, 2007. DOI: 10.1016/j.pbiomolbio.2007.03.010. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079610707000089?via%3Dihub.

HERWALDT, B. L. Leishmaniasis. **Lancet**, England, v. 354, n. 9185, p.1191-1199, 1999. DOI: 10.1016/S0140-6736(98)10178-2. Disponível em: https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(98)10178-2/abstract.

HOEFFEL, G., GINHOUX, F. Fetal monocytes and the origins of tissue-resident macrophages. **Cellular immunology**, Netherlands, v. 330, p. 5-15, 2018. DOI: 10.1016/j.cellimm.2018.01.001. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0008874918300017?via%3Dihub.

HOPPER, K. E.; WOOD, P. R.; NELSON, D. S. Macrophage heterogeneity. **Vox sanguinis**, England, v. 36, n. 5, p. 257-274, 1979. DOI: 10.1111/j.1423-0410.1979.tb04434.x. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1423-0410.1979.tb04434.x?sid=nlm%3Apubmed.

HORRILLO, L. *et al*. Atypical presentation in adults in the largest community outbreak of leishmaniasis in Europe (Fuenlabrada, Spain). **Clinical Microbiology Infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, England, v. 21, n. 3, p. 269-273, 2015. DOI: 10.1016/j.cmi.2014.10.017. Disponível em: https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X(14)00079-2/fulltext.

HUANG, Y. *et al*. Connexin43 Is Required for the Effective Activation of Spleen Cells and Immunoglobulin Production. **International journal of molecular sciences**, Switzerland, v. 20, issue 22, article 5789, 2019. DOI: 10.3390/ijms20225789. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6888161/pdf/ijms-20-05789.pdf. Acesso em: 9 abr.2020.

HULSMANS, M, *et al*. Macrophages Facilitate Electrical Conduction in the Heart. **Cell**, United States, v. 169, n. 3, p. 510-522.e20, 2017. DOI: 10.1016/j.cell.2017.03.050. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5474950/pdf/nihms866089.pdf.

HUME, D. A. The mononuclear phagocyte system. **Current opinion in immunology**, England, v. 18, n. 1, p. 49-53, 2006. DOI: 10.1016/j.coi.2005.11.008. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0952791505002013?via%3Dihub.

IKEOGU, N. M. e*t al*. *Leishmania* Immunity: Advancing Immunotherapy and Vaccine Development. **Microorganisms**, Switzerland, v. 8, n. 8, article 1201, 2020. DOI: 10.3390/microorganisms8081201. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7465679/pdf/microorganisms-08-01201.pdf.

IVANOVA, D. L. *et al*. Innate Lymphoid Cells in Protection, Pathology, and Adaptive Immunity During Apicomplexan Infection. **Frontiers in Immunology**, Switzerland, v. 10, n. 196, 2019. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00196. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6403415/pdf/fimmu-10-00196.pdf.

JAGADESH, S. *et al*. Spatial variations in Leishmaniasis: A biogeographic approach to mapping the distribution of *Leishmania* species. **One Health**, Netherlands, v. 12, n. 13, article 100307, 2021. DOI: 10.1016/j.onehlt.2021.100307. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8368019/pdf/main.pdf.

JAGIELNICKI, M. *et al*. Connexin Gap Junction Channels and Hemichannels: Insights from High-Resolution Structures. **Biology**, Switzerland, v. 13, n. 5, article 298, 2024. DOI: 10.3390/biology13050298. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11117596/pdf/biology-13-00298.pdf.

JARAMILLO, M. *et al*. *Leishmania* repression of host translation through mTOR cleavage is required for parasite survival and infection. **Cell host & Microbe**, United States, v. 9, n. 4, p. 331-341, 2011. DOI: 10.1016/j.chom.2011.03.008. Disponível em: https://www.cell.com/cell-host-microbe/fulltext/S1931-3128(11)00095-3?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1931312811000953%3Fshowall%3Dtrue.

JAMES, S. L. Role of nitric oxide in parasitic infections. **Microbiological reviews**, United States, v. 59, n. 4, p. 533-547, 1995. DOI: 10.1128/mr.59.4.533-547.1995. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC239385/pdf/590533.pdf.

JAIMES, J. R. Severe mucosal leishmaniasis with torpid and fatal evolution. **Clinical Case Reports**, England, v. 10, issue 8, article e6220, 2022. DOI: 10.1002/ccr3.6220. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9376139/pdf/CCR3-10-e6220.pdf.

JESSEN, H.; MOE, H. The fine structure of macrophages in the enamel organ, with special reference to the microtubular system. **Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie**, Austria, v. 126, n. 4, p. 466-482, 1972. DOI: 10.1007/BF00306907. Disponível em: https://www.wellesu.com/10.1007/bf00306907.

JIMÉNEZ-DALMARONI, M. J.; GERSWHIN, M. E.; ADAMOPOULOS, I. E. The critical role of toll-like receptors--From microbial recognition to autoimmunity: A comprehensive review. **Autoimmunity reviews**, Netherlands, v. 15, n. 1, p. 1-8, 2016. DOI: 10.1016/j.autrev.2015.08.009. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4679489/pdf/nihms-719769.pdf.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica** – texto e atlas. 13ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. 568 p. ISBN: 9788527731812.

KAMERITSCH, P.; POGODA, K. The Role of Connexin 43 and Pannexin 1 During Acute Inflammation. **Frontiers in physiology**, Switzerland, v. 11, article 594097, 2020. DOI: 10.3389/fphys.2020.594097. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7658380/pdf/fphys-11-594097.pdf.

KAMHAWI, S. Phlebotomine sand flies and *Leishmania* parasites: friends or foes? **Trends in parasitology**, England, v. 22, n. 9, p. 439-445, 2006. DOI: 10.1016/j.pt.2006.06.012. Disponível em: https://www.cell.com/trends/parasitology/abstract/S1471-4922(06)00173-5?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1471492206001735%3Fshowall%3Dtrue.

KANE, A. B.; BOLS, N. C. A study of metabolic cooperation with rat peritoneal macrophages. **Journal of cellular physiology**, United States, v. 102, n. 3, p. 385-393, 1980. DOI: 10.1002/jcp.1041020313. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcp.1041020313.

KAYE, P. M. *et al*. Overcoming roadblocks in the development of vaccines for leishmaniasis. **Expert review of vaccines**, England, v. 20, n. 11, p. 1419-1430, 2021. DOI: 10.1080/14760584.2021.1990043. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9844205/pdf/IERV_20_1990043.pdf.

KAYE, P.; SCOTT, P. Leishmaniasis: complexity at the host-pathogen interface. **Nature reviews. Microbiology**, England, v.9, n. 8, p. 604-615, 2011. DOI: 10.1038/nrmicro2608. Disponível em: https://www.nature.com/articles/nrmicro2608.
KELSELL, D. P. *et al*. Connexin 26 mutations in hereditary non-syndromic sensorineural deafness. **Nature**, England, v. 387, n. 6628, p. 80-83, 1997. DOI: 10.1038/387080a0. Disponível em: https://www.nature.com/articles/387080a0.

KEVRIC, I.; CAPPEL, M. A. KEELING, J. H. New World and Old World *Leishmania* Infections: A Practical Review. **Dermatologic Clinics**, United States, v. 33, n. 3, p. 579-593, 2015. DOI: 10.1016/j.det.2015.03.018. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0733863515000315?via%3Dihub

KIEŁBOWSKI, K.; BAKINOWSKA, E.; PAWLIK, A. The Potential Role of Connexins in the Pathogenesis of Atherosclerosis. **International journal of molecular sciences**, Switzerland, v. 24, n. 3, article 2600, 2023. DOI: 10.3390/ijms24032600. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9916887/pdf/ijms-24-02600.pdf. Acesso em: 23 mar. 2023.

KIELIAN, T. Glial connexins and gap junctions in CNS inflammation and disease. **Journal of neurochemistry**, England, v. 106, n. 3, p. 1000-1016, 2008. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2008.05405.x. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2648839/pdf/nihms94003.pdf. Acesso em: 14 fev. 2018.

KIMA, P. E. The amastigote forms of *Leishmania* are experts at exploiting host cell processes to establish infection and persist. **International journal for parasitology**, England, v. 37, n. 10, p. 1087-1096, 2007. DOI: 10.1016/j.ijpara.2007.04.007. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2043126/pdf/nihms-27940.pdf.

KIM, I. S.; GANESAN, P.; CHOI, D. K. Cx43 Mediates Resistance against MPP^{+}-Induced Apoptosis in SH-SY5Y Neuroblastoma Cells via Modulating the Mitochondrial Apoptosis Pathway. **International journal of molecular sciences**, Switzerland, v. 17, n. 11, article 1819, 2016. DOI: 10.3390/ijms17111819. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5133820/pdf/ijms-17-01819.pdf.

KIRICHENKO, E. Y.; SKATCHKOV, S. N.; ERMAKOV, A. M. Structure and Functions of Gap Junctions and Their Constituent Connexins in the Mammalian CNS. **Biochemistry (Moscow) Supplement. Series A, Membrane and cell biology**, Russia, v. 15, n. 2, p. 107-119, 2021. DOI: 10.1134/s1990747821020069. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8432592/pdf/nihms-1737580.pdf.

KLEOPA, K. A. The role of gap junctions in Charcot-Marie-Tooth disease. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, United States, v. 31, n. 49, p. 17753-17760, 2011. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4824-11.2011. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6634164/pdf/zns17753.pdf.

KOLÁŘOVÁ, I.; VALIGUROVÁ, A. Hide-and-Seek: A Game Played between Parasitic Protists and Their Hosts. **Microorganisms**, Switzerland, v. 9, n. 12, article 2434, 2021. DOI: 10.3390/microorganismos9122434. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8707157/pdf/microorganisms-09-02434.pdf.

KOVAL, M.; MOLINA, S. A.; BURT, J. M. Mix and match: investigating heteromeric and heterotypic gap junction channels in model systems and native tissues**. FEBS letters**, England, v. 588, n. 8, p. 1193-204, 2014. DOI: 10.1016/j.febslet.2014.02.025. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3992227/pdf/nihms-569767.pdf.

KULKARNI, M. M. *et al.* The major surface-metalloprotease of the parasitic protozoan, *Leishmania*, protects against antimicrobial peptide-induced apoptotic killing. **Molecular microbiology**, England, v. 62, n. 5, p. 1484-1497, 2006. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2006.05459.x. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2958.2006.05459.x.

KUMAGAI, Y.; AKIRA, S. Identification and functions of pattern-recognition receptors. **Journal of allergy and clinical immunology**, United States, v. 125, n. 5, p. 985-992, 2010. DOI: 10.1016/j.jaci.2010.01.058. Disponível em: https://www.jacionline.org/article/S0091-6749(10)00353-2/fulltext.

KUMAR, V. Macrophages: The potent immunoregulatory innate immune cells. In: **Macrophage Activation - Biology and Disease**. [Internet]. IntechOpen: 2020. 132 p. Disponível em: https://www.intechopen.com/chapters/68185. Acesso em: 16 nov 2020.

KUMAR, N. M.; GILULA, N. B. The gap junction communication channel. **Cell**. United States, v. 84, issue 3, p. 381-388, 1996. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81282-9. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867400812829.

ACOMBLE, S. *et al.* Three-dimensional cellular architecture of the flagellar pocket and associated cytoskeleton in trypanosomes revealed by electron microscope tomography. **Journal of cell science**, England, v. 122, Pt 8, p. 1081-1090, 2009. DOI: 10.1242/jcs.045740. Disponível em: https://journals.biologists.com/jcs/article/122/8/1081/31042/Three-dimensional-cellular-architecture-of-the.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, England, v. 227, n. 5259, p. 680-685, 1970. DOI: 10.1038/227680a0. Disponível em: https://www.nature.com/articles/227680a0.

LAINSON, R. Espécies neotropicais de *Leishmania*: uma breve revisão histórica sobre sua descoberta, ecologia e taxonomia. **Rev Pan-Amaz Saude**, Ananindeua , v. 1, n. 2, p. 13-32, 2010. ISSN 2176-6223. DOI: 10.5123/S2176-62232010000200002. Disponível em: http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2176-62232010000200002&lng=pt&nrm=iso. Acesso em: 16 ago. 2019.

LAIRD, D. W. Life cycle of connexins in health and disease. **The Biochemical journal**, England, v. 394, issue 3, p. 527-543, 2006. DOI: 10.1042/BJ20051922. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1383703/pdf/bj3940527.pdf.

LAIRD, D. W.; LAMPE, P. D. Therapeutic strategies targeting connexins. **Nature reviews. Drug discovery**, England, v. 17, n. 12, p. 905-921, 2018. DOI: 10.1038/nrd.2018.138. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6461534/pdf/nihms-994330.pdf.

LAIRD, D. W.; LAMPE, P. D. Cellular mechanisms of connexin-based inherited diseases. **Trends in cell biology**, England, v. 32, n. 1, p. 58-69, 2022. DOI: 10.1016/j.tcb.2021.07.007. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8688313/pdf/nihms-1730858.pdf.

LAMPE, P. D.; LAIRD, D. W. Recent advances in connexin gap junction biology. **Faculty reviews**, England, v. 11, article 14, 2022. DOI: 10.12703/r/11-14. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9171797/pdf/facrev-11-14.pdf.

LAMPE, P. D.; LAU, A. F. The effects of connexin phosphorylation on gap junctional communication. **The international journal of biochemistry & cell biology**, Netherlands, v. 36, n. 7, p. 1171-1186, 2004. DOI: 10.1016/S1357-2725(03)00264-4. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2878204/pdf/nihms203122.pdf.

LANDFEAR, S. M. Nutrient transport and pathogenesis in selected parasitic protozoa. **Eukaryot Cell**, United States, v. 10, n. 4, p. 483-93, 2011. DOI: 10.1128/EC.00287-10. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3127635/pdf/zek483.pdf.

LANG, T. *et al*. Distribution of MHC class I and of MHC class II molecules in macrophages infected with *Leishmania amazonensis*. **Journal of cell science**, England, v. 107, Pt 1, p. 69-82, 1994. DOI: 10.1242/jcs.107.1.69. Disponível em: https://journals.biologists.com/jcs/article-abstract/107/1/69/23935/Distribution-of-mhc-class-i-and-of-mhc-class-ii?redirectedFrom=fulltext.

LASSER, A. The mononuclear phagocytic system: a review. **Human pathology**, United States, v. 14, n. 2, p. 108-126, 1983. DOI: 10.1016/s0046-8177(83)80239-1. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0046817783802391?via%3Dihub.

LAUF, U. *et al*. Dynamic trafficking and delivery of connexons to the plasma membrane and accretion to gap junctions in living cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, United States, v. 99, n. 16, p. 10446-10451, 2002. DOI: 10.1073/pnas.162055899. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC124935/pdf/pq1602010446.pdf.

LEDERMAN, E. R. *et al*. Dermatologic conditions of the ill returned traveler: an analysis from the GeoSentinel Surveillance Network. **International journal of infectious diseases**, Canada, v. 12, issue 6, p. 593-602, 2008. DOI: 10.1016/j.ijid.2007.12.008. Disponível em: https://www.ijidonline.com/action/showPdf?pii=S1201-9712%2808%2900026-X.

LEHANE, M. J. Peritrophic matrix structure and function. **Annual review of entomology**, United States, v. 42, p. 525-550, 1997. DOI: 10.1146/annurev.ento.42.1.525. Disponível em: https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev.ento.42.1.525.

LEITHE, E.; MESNIL, M.; AASEN, T. The connexin 43 C-terminus: A tail of many tales. **Biochimica et biophysica acta. Biomembranes**, Netherlands, v. 1860, n. 1, p. 48-64, 2018. DOI: 10.1016/j.bbamem.2017.05.008. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000527361730161X?via%3Dihub.

LESTINOVA, T. *et al*. Insights into the sand fly saliva: Blood-feeding and immune interactions between sand flies, hosts, and *Leishmania*. **PLoS neglected tropical diseases**, United States, v. 11, n. 7, article e0005600, 2017. DOI: 10.1371/journal.pntd.0005600. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5509103/pdf/pntd.0005600.pdf.

LEVY, J. A. *et al*. Possible communication between murine macrophages oriented in linear chains in tissue culture. **Experimental cell research**, United States, v. 103, issue 2, p. 375-385, 1976. DOI: 10.1016/0014-4827(76)90273-1. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0014482776902731.

LEYBAERT, L. *et al*. Connexins in Cardiovascular and Neurovascular Health and Disease: Pharmacological Implications. **Pharmacological reviews**, United States, v. 69,n. 4, p. 396-478, 2017. DOI: 10.1124/pr.115.012062. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5612248/pdf/pr.115.012062.pdf.

LI, Y.; ACOSTA, F. M.; JIANG, J. X. Gap Junctions or Hemichannel-Dependent and Independent Roles of Connexins in Fibrosis, Epithelial-Mesenchymal Transitions, and Wound Healing. **Biomolecules**, Switzerland, v. 13, n. 12, article 1796, 2023. DOI: 10.3390/biom13121796. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10742173/pdf/biomolecules-13-01796.pdf.

LIÉVIN-LE MOAL, V.; LOISEAU, P. M. *Leishmania* hijacking of the macrophage intracellular compartments. **The FEBS journal**, England, v. 283, n.4, p. 598-607, 2016. DOI: 10.1111/febs.13601. Disponível em: https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/febs.13601.

LILLY, E. *et al*. Connexin channels in congenital skin disorders. **Seminars in cell & developmental biology**, England, v. 50, p. 4-12, 2016. DOI: 10.1016/j.semcdb.2015.11.018. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4779425/pdf/nihms-754255.pdf.

LIMA, L. F.*et al*. Importância das comunicações intercelulares para o desenvolvimento de folículos ovarianos. **Reprodução & Climatério**, [*s. l.*], Volume 31, Issue 2, p. 93-104, 2016. ISSN 1413-2087. DOI: 10.1016/j.recli.2015.12.005. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1413208716000054.

LINDOSO, J. A. *et al*. Visceral leishmaniasis and HIV coinfection in Latin America. **PLoS neglected tropical diseases**, United States, v. 8, n. 9, article: e3136, 2014. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003136. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4169383/pdf/pntd.0003136.pdf. Acesso em: 29 set. 2018.

LINDOSO, J. A. *et al*. Leishmaniasis-HIV coinfection: current challenges. **HIV/AIDS: research and palliative care**, New Zealand, v. 8, p. 147-156, 2016. DOI: 10.2147/HIV.S93789. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5063600/pdf/hiv-8-147.pdf.

LIU, D.; UZONNA, J. 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**, Switzerland, v. 12, n. 2, article 83, p. 1-8, 2012. DOI: 10.3389/fcimb.2012.00083. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3417671/pdf/fcimb-02-00083.pdf.

LOCATI, M.; CURTALE, G.; MANTOVANI, A. Diversity, Mechanisms, and Significance of Macrophage Plasticity. **Annual review of pathology**, United States, v. 15, p. 123-147, 2020. DOI: 10.1146/annurev-pathmechdis-012418-012718. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7176483/pdf/EMS86220.pdf.

LOEWENSTEIN, W. R. Junctional intercellular communication: the cell-to-cell membrane channel. **Physiological reviews**, United States, v. 61, n. 4, p. 829-913,1981. DOI: 10.1152/physrev.1981.61.4.829. Disponível em: https://journals.physiology.org/doi/abs/10.1152/physrev.1981.61.4.829?rfr_dat=cr_pub++0pubmed&url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org.

LOPES, M. F.; COSTA-DA-SILVA, A. C.; DOSREIS, G. A. Innate immunity to *Leishmania* infection: within phagocytes. **Mediators of inflammation**, United States, v. 2014, article 754965, 2014. DOI: 10.1155/2014/754965. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4119695/pdf/MI2014-754965.pdf.

LUCACIU, S. A. *et al*. Diversity in connexin biology. **The Journal of biological chemistry**, United States, v. 299, n. 11, article 105263, 2023. DOI: 10.1016/j.jbc.2023.105263. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10598745/pdf/main.pdf.

MACHADO, G. U.; PRATES, F. V.; MACHADO, P. R. L. Disseminated leishmaniasis: clinical, pathogenic, and therapeutic aspects. **Anais brasileiros de dermatologian**, Spain, v. 94, n. 1, p. 9-16, 2019. DOI: 10.1590/abd1806-4841.20198775. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6360961/pdf/abd-94-01-0009.pdf.

MAEDA, S.; TSUKIHARA, T. Structure of the gap junction channel and its implications for its biological functions. **Cellular and molecular life sciences: CMLS**, Switzerland, v. 68, n. 7, p. 1115-1129, 2011. DOI: 10.1007/s00018-010-0551-z. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11114897/pdf/18_2010_Article_551.pdf.

MAHAJAN, V. K.; SHARMA, N. L. Therapeutic options for cutaneous leishmaniasis. **The Journal of dermatological treatment**, England, v. 18, n. 2, p. 97-104, 2007. DOI: 10.1080/09546630601159474. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09546630601159474.

MAKOWSKI, L. *et al*. Gap junction structures. II. Analysis of the x-ray diffraction data. **The Journal of cell biology**, United States, v. 74, n. 2, p. 629-645, 1977. DOI: 10.1083/jcb.74.2.629. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2110084/pdf/629.pdf.

MAMILOS, A. *et al*. Macrophages: From Simple Phagocyte to an Integrative Regulatory Cell for Inflammation and Tissue Regeneration-A Review of the Literature. **Cells**, Switzerland, v. 12, n. 2, article 276, 2023. DOI: 10.3390/células12020276. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9856654/pdf/cells-12-00276.pdf.

MANICASSAMY, S.; PULENDRAN, B. Modulation of adaptive immunity with Toll-like receptors. **Seminars in immunology**, England, v. 21, n. 4, p. 185-193, 2009. DOI: 10.1016/j.smim.2009.05.005. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4125416/pdf/nihms148711.pdf.

MAROLI, M. *et al*. Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniases and other diseases of public health concern. **Medical and veterinary entomology**, England, v. 27, 2, p. 123-147, 2013. DOI: 10.1111/j.1365-2915.2012.01034.x. Disponível em: https://resjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1365-2915.2012.01034.x.

MARSHALL, J. S. *et al*. An introduction to immunology and immunopathology. **Allergy, Asthma, and Clinical Immunology**, England, v. 14, Suppl 2, article: 49, 2018. DOI: 10.1186/s13223-018-0278-1. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6156898/pdf/13223_2018_Article_278.pdf.

MARTINEZ, F. O.; GORDON, S. The evolution of our understanding of macrophages and translation of findings toward the clinic**. Expert review of clinical immunology**, England, v. 11, n. 1, p. 5-13, 2015. DOI: 10.1586/1744666X.2015.985658. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/10.1586/1744666X.2015.985658?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%200pubmed.

MARTINEZ, F. O.; HELMING, L.; GORDON, S. Alternative activation of macrophages: an immunologic functional perspective. **Annual review of immunology**, United States, v. 27, p. 451-483, 2009. DOI: 10.1146/annurev.immunol.021908.132532. Disponível em: https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev.immunol.021908.132532.

MARTÍNEZ-LÓPEZ, M. *et al*. *Leishmania* Hijacks Myeloid Cells for Immune Escape. **Frontiers in microbiology**, Switzerland, v. 9, article 883, 2018. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00883.Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5949370/pdf/fmicb-09-00883.pdf.

MATTHEWS, K. R. Controlling and coordinating development in vector-transmitted parasites. **Science**, United States, v. 331, n. 6021, p.1149-1153, 2011. DOI: 10.1126/science.1198077. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3834321/pdf/emss-55592.pdf.

MAURER, M.; DONDJI, B.; VON STEBUT, E. What determines the success or failure of intracellular cutaneous parasites? Lessons learned from leishmaniasis**. Medical microbiology and immunology**, Germany, v. 198, n. 3, p. 137-146, 2009. DOI: 10.1007/s00430-009-0114-9. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s00430-009-0114-9.

MAXFIELD, L.; CRANE, J. S. Leishmaniasis. In: **StatPearls** [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023. PMID: 30285351. Bookshelf ID: NBK531456. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK531456/. Acesso em: 20 nov 2023.

MCCONVILLE, M. J. *et al*. Living in a phagolysosome; metabolism of *Leishmania* amastigotes. **Trends in Parasitology**, England, v. 23, n. 8, p. 368-375, 2007. DOI: 10.1016/j.pt.2007.06.009. Disponível em: https://www.cell.com/trends/parasitology/abstract/S1471-4922(07)00168-7?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1471492207001687%3Fshowall%3Dtrue.

MCCONVILLE, M. J.; NADERER, T. Metabolic pathways required for the intracellular survival of *Leishmania*. **Annual review of microbiology**, United States, v. 65, p. 543-561, 2011. DOI: 10.1146/annurev-micro-090110-102913. Disponível em: https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev-micro-090110-102913.

MCGWIRE, B. S.; CHANG, K. P.; ENGMAN, D. M. Migration through the extracellular matrix by the parasitic protozoan Leishmania is enhanced by surface metalloprotease gp63. **Infection and immunity**, United States, v. 71, n. 2, p. 1008-1010, 2003. DOI: 10.1128/IAI.71.2.1008-1010.2003. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC145380/pdf/1145.pdf.

MCGWIRE, B. S.; SATOSKAR, A. R. Leishmaniasis: clinical syndromes and treatment. **QJM: monthly journal of the Association of Physicians**, England, v.107, n. 1, p. 7-14, 2014. DOI: 10.1093/qjmed/hct116. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3869292/pdf/hct116.pdf.

MCMAHON-PRATT, D.; ALEXANDER, J. Does the Leishmania major paradigm of pathogenesis and protection hold for New World cutaneous leishmaniases or the visceral disease? **Immunological reviews**, England, v. 201, n.1, p. 206-224, 2004. DOI: 10.1111/j.0105-2896.2004.00190.x. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.0105-2896.2004.00190.x?sid=nlm%3Apubmed.

MENEZES, J. A. *et al*. Fatores de risco peridomiciliares e conhecimento sobre leishmaniose visceral da população de Formiga, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, Brasil, v. 19, n. 2, p. 362-374, 2016. DOI: 10.1590/1980-5497201600020013. Disponível em: https://www.scielo.br/j/rbepid/a/STnv3Cpm3H8w53MqpZMHMQp/?format=pdf&lang=pt.

MENG, J. H. *et al*. Cross-Activation of Hemichannels/Gap Junctions and Immunoglobulin-Like Domains in Innate-Adaptive Immune Responses. **Frontiers in Immunology**, Switzerland, v. 13, article 882706, 2022. DOI: 10.3389/fimmu.2022.882706. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9334851/pdf/fimmu-13-882706.pdf.

MONGE-MAILLO, B.; LÓPEZ-VÉLEZ, R. Therapeutic options for old world cutaneous leishmaniasis and new world cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Drugs**, New Zealand, v.73, n. 17, p. 1889-1920, 2013. DOI: 10.1007/s40265-013-0132-1. Disponível em: file:///C:/Users/Ana%20Carolina/Downloads/s40265-013-0132-1.pdf.

MOREIRA, D.; LÓPEZ-GARCÍA, P.; VICKERMAN, K. An updated view of kinetoplastid phylogeny using environmental sequences and a closer outgroup: proposal for a new classification of the class Kinetoplastea. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, England, v. 54, Pt 5, p. 861-1875, 2004. DOI: 10.1099/ijs.0.63081-0. Disponível em: https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijs.0.63081-0#tab2.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of immunological methods**, Netherlands, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983. DOI: 10.1016/0022-1759(83)90303-4. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0022175983903034?via%3Dihub.

MOSSER, D. M. The many faces of macrophage activation. **Journal of leukocyte biology**, England, v. 73, n. 2, p. 209-212, 2003. DOI: 10.1189/jlb.0602325. Disponível em: https://academic.oup.com/jleukbio/article-abstract/73/2/209/6979376?redirectedFrom=fulltext&login=false.

MOSSER, D. M.; EDWARDS, J. P. Exploring the full spectrum of macrophage activation. **Nature reviews. Immunology**, England, v. 8, n. 12, p. 958-969, Dec. 2008. DOI: 10.1038/nri2448. Erratum in: **Nature reviews. Immunology**, v. 10, n. 6, p. 460, 2010. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2724991/pdf/nihms84393.pdf.

MUBAYI, A.; PAREDES, M.; OSPINA, J. A Comparative Assessment of Epidemiologically Different Cutaneous Leishmaniasis Outbreaks in Madrid, Spain and Tolima, Colombia: An Estimation of the Reproduction Number via a Mathematical Model. **Tropical medicine and infectious disease**, Switzerland, v.3, n. 2, issue 43, p. 1-22, 2018. DOI: 10.3390/tropicalmed3020043. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6073504/pdf/tropicalmed-03-00043.pdf.

MURPHY, D. M.; MILLS, K. H. G.; BASDEO, S. A. The Effects of Trained Innate Immunity on T Cell Responses; Clinical Implications and Knowledge Gaps for Future Research. **Frontiers in immunology**, Switzerland, v. 12, article 706583, 2021. DOI: 10.3389/fimmu.2021.706583. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8417102/pdf/fimmu-12-706583.pdf.

MURPHY, K. **Imunobiologia de Janeway** [recurso eletrônico] / Kenneth Murphy; tradução: Denise C. Machado, Gaby Renard, Lucien Peroni Gualdi; revisão técnica: Denise C. Machado. 8. ed. Dados eletrônicos. Porto Alegre: Artmed, 2014. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4370883/mod_resource/content/1/Imunologia%20-%20Janeway%20-%208ed.pdf. Acesso em: 22 ago. 2020.

MURRAY, H. W. *et al*. Advances in leishmaniasis. **The Lancet**, England, v. 366, issue 9496, p. 1561-1577, 2005. doi: 10.1016/S0140-6736(05)67629-5. Disponível em: https://www.thelancet.com/action/showPdf?pii=S0140-6736%2805%2967629-5.

MURRAY, P. J. *et al*. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. **Immunity**, United States, v. 41, n. 1, p. 14-20, 2014. DOI: 10.1016/j.immuni.2014.06.008. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4123412/pdf/nihms612535.pdf.

MURRAY, P. J.; WYNN, T. A. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. **Nature reviews. Immunology**, England, v. 11, n. 11, p. 723-737, 2011. DOI: 10.1038/nri3073. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3422549/pdf/nihms394253.pdf.

MUSIL, L. S.; GOODENOUGH, D. A. Multisubunit assembly of an integral plasma membrane channel protein, gap junction connexin43, occurs after exit from the ER. **Cell**, United States, v. 74, n. 6, p. 1065-1077, 1993. DOI: 10.1016/0092-8674(93)90728-9. Disponível em: https://www.cell.com/cell/abstract/0092-8674(93)90728-9?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2F0092867493907289%3Fshowall%3Dtrue.

NADERER, T.; MCCONVILLE, M. J. The *Leishmania*-macrophage interaction: a metabolic perspective. **Cellular microbiology**, India, v. 10, n. 2, p. 301-308, 2008. DOI: 10.1111/j.1462-5822.2007.01096.x. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1462-5822.2007.01096.x.

NATION, C. S. *et al*. Transgenic overexpression of heat shock protein (HSP83) enhances protein kinase A activity, disrupts GP63 surface protease expression and alters promastigote morphology in *Leishmania amazonensis*. **Molecular and biochemical parasitology**, Netherlands, v. 255, article:111574, 2023. DOI: 10.1016/j.molbiopara.2023.111574. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0166685123000324?via%3Dihub.

NDJAMEN, B. *et al*. *Leishmania* parasitophorous vacuoles interact continuously with the host cell's endoplasmic reticulum; parasitophorous vacuoles are hybrid compartments. **Cellular microbiology**, United States, v. 12, n. 10, p. 1480-1494, 2010. DOI: 10.1111/j.1462-5822.2010.01483.x. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2974788/pdf/nihms208031.pdf.

NEIJSSEN, J.; PANG, B.; NEEFJES, J. Gap junction-mediated intercellular communication in the immune system. **Progress in biophysics and molecular biology**, England, v. 94, n. 1-2, p. 207-218, 2007. DOI: 10.1016/j.pbiomolbio.2007.03.008. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S007961070700017X?via%3Dihub.

NETEA, M. G. *et al*. A guiding map for inflammation. **Nature** Immunology, United States, v. 18, n. 8, p. 826-831, 2017. DOI: 10.1038/ni.3790. Erratum in: Nat Immunol, v. 22, n 2, p. 254, Feb 2021. DOI: 10.1038/s41590-020-00846-5. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5939996/pdf/emss-77419.pdf.

NETEA, M. G. *et al*. Innate and Adaptive Immune Memory: an Evolutionary Continuum in the Host's Response to Pathogens. **Cell Host & Microbe**, United States, v. 25, issue 1, p. 13-26, 2019. DOI: 10.1016/j.chom.2018.12.006. Disponível em: https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S1931-3128%2818%2930633-4.

NETEA, M. G.; QUINTIN, J.; VAN DER MEER, J. W. Trained immunity: a memory for innate host defense. **Cell host & microbe**, United States, v. 9, n. 5, p. 355-361, 2011. DOI: 10.1016/j.chom.2011.04.006. Disponível em: https://www.cell.com/cell-host-microbe/fulltext/S1931-3128(11)00128-4?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1931312811001284%3Fshowall%3Dtrue.

NEVES, D. P**. Parasitologia Humana**. 13. ed. São Paulo: Atheneu, 2020. 532 p. ISBN 978-85-388-0715-5. Disponível em: https://tga.blv.ifmt.edu.br/media/filer_public/31/76/3176ffaa-16bb-4615-b066-a81a5344d823/neves_-_parasitologia_humana_-_13ed_-_2016.pdf.

NIEDERGANG, F.; DI BARTOLO, V.; ALCOVER, A. Comparative Anatomy of Phagocytic and Immunological Synapses. **Frontiers in immunology**, Switzerland, v. 7, n. 18, 2016. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00018. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4729869/pdf/fimmu-07-00018.pdf.

NIELSEN, M. S. *et al*. Gap junctions. **Comprehensive Physiology**, United States, v. 2, n. 3, p. 1981-2035, 2012. DOI: 10.1002/cphy.c110051. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3821273/pdf/nihms-525905.pdf.

NYLÉN, S.; GAUTAM, S. Immunological perspectives of leishmaniasis. **Journal of global infectious diseases**, India, v. 2, n. 2, p. 135-146, 2010. DOI: 10.4103/0974-777X.62876. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2889653/pdf/JGID-02-135.pdf.

OGHUMU, S. *et al*. Role of chemokines in regulation of immunity against leishmaniasis. **Experimental parasitology**, United States, v. 126, n.3, p. 389-396, 2010. DOI: 10.1016/j.exppara.2010.02.010. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3661772/pdf/nihms186009.pdf.

OISHI, Y.; MANABE, I. Macrophages in inflammation, repair and regeneration. **International immunology**, England, v. 30, n. 11, p. 511-528, 2018. DOI: 10.1093/intimm/dxy054. Disponível em: https://academic.oup.com/intimm/article-abstract/30/11/511/5079207?redirectedFrom=fulltext&login=false.

OKOLO, C. A. *et al*. Correlative light and X-ray tomography jointly unveil the critical role of connexin43 channels on inflammation-induced cellular ultrastructural alterations. **Heliyon**, England, v. 10, n. 7, article e27888, 2024. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e27888. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10979075/pdf/main.pdf.

OLIVIER, M.; GREGORY, D. J.; FORGET, G. Subversion mechanisms by which *Leishmania* parasites can escape the host immune response: a signaling point of view. **Clinical microbiology reviews**, United States, v. 18, n. 2, p. 293-305, 2005. DOI: 10.1128/CMR.18.2.293-305.2005. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1082797/pdf/0037-04.pdf.

O'NEILL, L. A.; KISHTON, R. J.; RATHMELL, J. A guide to immunometabolism for immunologists. **Nature reviews. Immunology**, England, v. 16, n. 9, p. 553-565, 2016. DOI: 10.1038/nri.2016.70. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5001910/pdf/nihms808179.pdf.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). **Leishmanioses**: informe epidemiológico da Região das Américas. Nº 13, dezembro de 2024. Epidemiological Report of the Americas 2024. 11 p. Disponível em: https://iris.paho.org/handle/10665.2/63166. Acesso em: 19 jan 2025.

OSEI SAAHENE, R.; BARNES, P.; VICTOR NUVOR, S. The Interactive Role of Macrophages in Innate Immunity [Internet]. In: KUMAR, V. **Macrophages - Celebrating 140 Years of Discovery**. IntechOpen; 2022. 392 p. DOI: 10.5772/intechopen.103924. p.342. Disponível em: http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.103924. Acesso em: 22 fev 2022.

OSORIO Y FORTÉA, J. *et al*. Unveiling pathways used by *Leishmania amazonensis* amastigotes to subvert macrophage function. **Immunological reviews**, England, v. 219, n. 1, p. 66-74, 2007. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2007.00559.x. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1600-065X.2007.00559.x.

OVIEDO-ORTA, E.; HOWARD EVANS, W. Gap junctions and connexin-mediated communication in the immune system. **Biochimica et biophysica acta**, Netherlands, v. 1662, n. 1-2, p. 102-112, 2004. DOI: 10.1016/j.bbamem.2003.10.021. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0005273604000379?via%3Dihub.

PALATNIK-DE-SOUSA, C. B.; DAY, M. J. One Health: the global challenge of epidemic and endemic leishmaniasis. **Parasites & vectors**, England, v. 10, n. 4, p. 197, 2011. DOI: 10.1186/1756-3305-4-197. disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3214158/pdf/1756-3305-4-197.pdf.

PARSONS, M. *et al*. Comparative analysis of the kinomes of three pathogenic trypanosomatids: *Leishmania major*, *Trypanosoma brucei* and *Trypanosoma cruzi*. **BMC genomics**, England, v. 6, article: 127, 2005. DOI: 10.1186/1471-2164-6-127. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1266030/pdf/1471-2164-6-127.pdf.

PATINO, L. H. *et al*. Genomic analyses reveal moderate levels of ploidy, high heterozygosity and structural variations in a Colombian isolate of *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. **Acta tropica**, Netherlands, v. 203, n. 105296, 2020. DOI: 10.1016/j.actatropica.2019.105296. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0001706X19308083?via%3Dihub.

PAUL, D. L. Molecular cloning of cDNA for rat liver gap junction protein. **The Journal of cell biology**, United States, v. 103, n. 1, p.123-134, 1986. DOI: 10.1083/jcb.103.1.123. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2113807/pdf/jc1031123.pdf.

PERDIGUERO, E. G.; GEISSMANN, F. The development and maintenance of resident macrophages. **Nature immunology**, United States, v. 17, n. 1, p. 2-8, 2016. DOI: 10.1038/ni.3341. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4950995/pdf/nihms-799730.pdf.

PEREDA, A. E. Electrical synapses and their functional interactions with chemical synapses. **Nature reviews. Neuroscience**, England, v. 15, n.4, p. 250-263, 2014. DOI: 10.1038/nrn3708. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4091911/pdf/nihms595691.pdf.

PEREIRA, S. S. Suscetibilidade vs resistência estudo da infecção por *Leishmania (leishmania) amazonensis* em macrófagos murinos. **Arca repositório institucional da Fiocruz**. 2015. Disponível em: https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/14065. Acesso em: 18 jan. 2024.

PÉREZ-CABEZAS, B. *et al*. More than just exosomes: distinct *Leishmania infantum* extracellular products potentiate the establishment of infection. **Journal of extracellular vesicles**, United States, v. 8, n. 1, article 1541708, 2018. DOI: 10.1080/20013078.2018.1541708. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6237156/pdf/zjev-8-1541708.pdf.

PETERS, N. C. *et al*. In vivo imaging reveals an essential role for neutrophils in leishmaniasis transmitted by sand flies. **Science**, United States, v. 321, n. 5891, p. 970-974, 2008. DOI: 10.1126/science.1159194. Erratum in: **Science**, v. 322, n. 5908, p.1634, Dec. 2008. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2606057/pdf/nihms60258.pdf.

PETERS, N. C.; SACKS, D. L. The impact of vector-mediated neutrophil recruitment on cutaneous leishmaniasis. **Cellular microbiology**, United States, v. 11, n. 9, p. 1290–1296, 2009. DOI: 10.1111/j.1462-5822.2009.01348.x. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3431610/pdf/nihms401043.pdf.

PETITDIDIER, E. *et al*. Recombinant Forms of *Leishmania amazonensis* Excreted / Secreted Promastigote Surface Antigen (PSA) Induce Protective Immune Responses in Dogs. **PLoS neglected tropical diseases**, United States, v. 10, n. 5, article e0004614, 2016. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004614. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4880307/pdf/pntd.0004614.pdf. Acesso em: 20 nov. 2018.

PIMENTA, P. F. *et al*. A novel role for the peritrophic matrix in protecting *Leishmania* from the hydrolytic activities of the sand fly midgut. **Parasitology**, England, v. 115, Pt 4, p. 359-369, 1997. DOI: 10.1017/s0031182097001510. Disponível em: https://www.cambridge.org/core/journals/parasitology/article/abs/novel-role-for-the-peritrophic-matrix-in-protecting-leishmania-from-the-hydrolytic-activities-of-the-sand-fly-midgut/4FA9155A2FCCE79DF2400CCDEBD56909.

PINART, M. *et al*. Interventions for American cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, England, issue 8, article CD004834, 2020. DOI: 10.1002/14651858.CD004834.pub3. Disponível em: https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD004834.pub3/full. Acesso em: 20 set. 2020.

PISCOPO, T. V.; MALLIA, A. C. Leishmaniasis. **Postgraduate medical journal**, England, v. 82, n. 972, p.649-657, 2006. Corrected and republished in: **Postgraduate medical journal**, England, v. 83, n. 976, p. 649-657, 2007. DOI: 10.1136/pgmj.2006.047340. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17068275/.

PODINOVSKAIA, M.; DESCOTEAUX, A. *Leishmania* and the macrophage: a multifaceted interaction. **Future microbiology**, England, v. 10, n. 1, p. 111-129, 2015. DOI: 10.2217/fmb.14.103. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/full/10.2217/fmb.14.103.

POLACEK, D. *et al*. Gap junctional communication between vascular cells. Induction of connexin43 messenger RNA in macrophage foam cells of atherosclerotic lesions. **The American journal of pathology**, United States, v. 142, n. 2, p. 593-606, 1993. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1886737/pdf/amjpathol00074-0239.pdf.

PONTE-SUCRE, A. *et al*. Drug resistance and treatment failure in leishmaniasis: A 21st century challenge. **PLoS neglected tropical diseases**, United States, v. 11, issue 12, article e0006052, p. 1-24, 2017. DOI: 10.1371/journal.pntd.0006052. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5730103/pdf/pntd.0006052.pdf. Acesso em: 23 ago. 2018.

PORVAZNIK, M.; MACVITTIE, T. J. Detection of gap junctions between the progeny of a canine macrophage colony-forming cell in vitro. **The Journal of cell biology**, United States, v. 82, n. 2, p. 555-564, 1979. DOI: 10.1083/jcb.82.2.555. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2110466/pdf/jc822555.pdf.

QI, C. *et al*. Structure of the connexin-43 gap junction channel in a putative closed state. **eLife**. England, v. 3, n. 12, article RP87616, p. 1-27, 2023. DOI: 10.7554/eLife.87616 10.7554/eLife.87616. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10400079/pdf/elife-87616.pdf.

RAMALHO-ORTIGAO, M.; SARAIVA, E. M.; TRAUB - CSEKÖ, Y. M. Sand fly-*Leishmania* interactions: long relationships are not necessarily easy. **The open parasitology journal**, Netherlands, v. 4, p. 195-204, 2010. DOI: 10.2174/1874421401004010195. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3805382/pdf/nihms394690.pdf.

RAMÍREZ, J. D. *et al*. Taxonomy, diversity, temporal and geographical distribution of Cutaneous Leishmaniasis in Colombia: A retrospective study. **Scientific Reports**, England, v. 6, article 28266, 2016. DOI: 10.1038/srep28266. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4916406/pdf/srep28266.pdf.

RANGEL, E. F.; LAINSON, R. **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: Ed. FIOCRUZ, 2003. 360 p. ISBN: 857541-020-2. Disponível em: https://portal.fiocruz.br/livro/flebotomineos-do-brasil.

READY, P.D. Biology of phlebotomine sand flies as vectors of disease agents. **Annual review of entomology**, United States, v. 58, p. 227-250, 2013. DOI: 10.1146/annurev-ento-120811-153557. Disponível em: https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev-ento-120811-153557.

REAL, F. *et al*. Cell-to-cell transfer of *Leishmania amazonensis* amastigotes is mediated by immunomodulatory LAMP-rich parasitophorous extrusions. **Cellular microbiology**, India, v. 16, n. 10, p. 1549-1564, 2014. DOI: 10.1111/cmi.12311. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4353215/pdf/cmi0016-1549.pdf.

REAL, F.; MORTARA, R. A.; RABINOVITCH, M. Fusion between *Leishmania amazonensis* and *Leishmania major* parasitophorous vacuoles: live imaging of coinfected macrophages. **PLoS neglected tropical diseases**, United States, v. 4, n. 12, article: e905, 2010. DOI: 10.1371/journal.pntd.0000905. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2998430/pdf/pntd.0000905.pdf.

REITHINGER, R. *et al*. Cutaneous leishmaniasis. **The Lancet infectious diseases**, United States, v. 7, n. 9, p. 581-596, 2007. DOI: 10.1016/S1473-3099(07)70209-8. Disponível em: https://www.thelancet.com/action/showPdf?pii=S1473-3099%2807%2970209-8.

RETAMAL, M. A. *et al.* Diseases associated with leaky hemichannels. **Frontiers in cellular neuroscience**, Switzerland, v. 9, article 267, 2015. DOI: 10.3389/fncel.2015.00267. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4515567/pdf/fncel-09-00267.pdf.

RETAMAL, M. A. *et al*. Opening of connexin 43 hemichannels is increased by lowering intracellular redox potential. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, United States, v. 104, n. 20, p. 8322-8327, 2007. DOI: 10.1073/pnas.0702456104. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1895948/pdf/zpq8322.pdf.

REVEL, J. P.; KARNOVSKY, M. J. Hexagonal array of subunits in intercellular junctions of the mouse heart and liver. **The Journal of cell biology**, United States, v. 33, n. 3, p. C7-C12, 1967. DOI: 10.1083/jcb.33.3.c7. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2107199/pdf/C7.pdf.

RIBEIRO-RODRIGUES, T. M. *et al*. Role of connexin 43 in different forms of intercellular communication - gap junctions, extracellular vesicles and tunnelling nanotubes. **Journal of cell science**. England, v. 130, n. 21, p. 3619-3630, 2017. DOI: 10.1242/jcs.200667. Disponível em: https://journals.biologists.com/jcs/article/130/21/3619/56387/Role-of-connexin-43-in-different-forms-of.

RIECKMANN, J. C. *et al*. Social network architecture of human immune cells unveiled by quantitative proteomics. **Nature immunology**, United States, v. 18, n. 5, p. 583-593, 2017. DOI: 10.1038/ni.3693. Disponível em: https://www.nature.com/articles/ni.3693.

RODJAKOVIC, D.; SALM, L.; BELDI, G. Function of Connexin-43 in Macrophages. **International journal of molecular sciences**. Switzerland, v. 22, issue 3, article 1412, 2021. DOI: 10.3390/ijms22031412. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7866802/pdf/ijms-22-01412.pdf.

RODRÍGUEZ-SINOVAS, A. *et al*. Connexins in the Heart: Regulation, Function and Involvement in Cardiac Disease.
International journal of molecular sciences. Switzerland, v. 22, issue 9, article 4413, p. 1-64, 2021. DOI: 10.3390/ijms22094413. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8122935/pdf/ijms-22-04413.pdf.

ROGERS, M.E. The role of *Leishmania* proteophosphoglycans in sand fly transmission and infection of the Mammalian host. **Frontiers in microbiology**, Switzerland, v. 3, article: 223, 2012. DOI: 10.3389/fmicb.2012.00223. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3384971/pdf/fmicb-03-00223.pdf.

ROGERS, M. E.; CHANCE, M. L.; BATES, P. A. The role of promastigote secretory gel in the origin and transmission of the infective stage of *Leishmania mexicana* by the sandfly *Lutzomyia longipalpis*. **Parasitology**, England, v. 124, Pt 5, p. 495-507, 2002. DOI: 10.1017/s0031182002001439. Disponível em: https://core.ac.uk/reader/9660754?utm_source=linkout.

ROGERS, M. E; DE PABLOS, L. M.; SUNTER, J. D. Gels and cells: the *Leishmania* biofilm as a space and place for parasite transmission. **Trends in parasitology**, England, v. 40, n. 10, p. 876-885, 2024. DOI: 10.1016/j.pt.2024.08.001. Disponível em: https://www.cell.com/trends/parasitology/fulltext/S1471-4922(24)00216-2?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1471492224002162%3Fshowall%3Dtrue.

ROMERO, G. A.; BOELAERT, M. Control of visceral leishmaniasis in latin america - a systematic review. **PLoS neglected tropical diseases**, United States, v. 4, n. 1, article e584, 2010. DOI: 10.1371/journal.pntd.0000584. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2808217/pdf/pntd.0000584.pdf. Acesso em: 15 jul. 2018.

ROSSI, M.; FASEL, N. How to master the host immune system? *Leishmania* parasites have the solutions! **International immunology**, England, v. 30, n. 3, p. 103-111, 2017. DOI: 10.1093/intimm/dxx075. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5892169/pdf/dxx075.pdf.

ROY, S. *et al*. Integrity of the Actin Cytoskeleton of Host Macrophages is essential for *Leishmania donovani* Infection. **Biochimica et biophysica acta**, Netherlands, n. 1838, n. 8, p. 2011-2018, 2014. DOI: 10.1016/j.bbamem.2014.04.017. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0005273614001527?via%3Dihub

SACKS, D.; KAMHAWI, S. Molecular aspects of parasite-vector and vector-host interactions in leishmaniasis. **Annual review of microbiology**, United States, v. 55, p. 453-483, 2001.DOI: 10.1146/annurev.micro.55.1.453. Disponível em: https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev.micro.55.1.453

SÁEZ, J. C. *et al.* Gap junctions in cells of the immune system: structure, regulation and possible functional roles. **Brazilian journal of medical and biological research**, Brazil, v. 33, n. 4, p. 447-455, 2000. DOI: 10.1590/s0100-879x2000000400011. Disponível em: https://www.scielo.br/j/bjmbr/a/s3FFDxZV45jzYXPdLmNpCwQ/?format=pdf&lang=en.

SÁEZ, J. C. *et al*. Plasma membrane channels formed by connexins: their regulation and functions. **Physiological reviews**, United States, v. 83, n. 4, p. 1359-1400, 2003. DOI: 10.1152/physrev.00007.2003. Disponível em: https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/physrev.00007.2003.

SÁEZ, J. C.; LEYBAERT, L. Hunting for connexin hemichannels. **FEBS letters**, England, v. 588, n. 8, p. 1205-1211, 2014. DOI: 10.1016/j.febslet.2014.03.004. Disponível em: https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1016/j.febslet.2014.03.004.

SÁEZ, P. J. *et al*. Regulation of hemichannels and gap junction channels by cytokines in antigen-presenting cells. **Mediators of inflammation**, United States, v. 2014, article 742734, 2014. DOI: 10.1155/2014/742734. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4180397/pdf/MI2014-742734.pdf. Acesso em: 30 jun. 2019.

SANTI, A. M. M.; MURTA, S. M. F. Impact of Genetic Diversity and Genome Plasticity of *Leishmania* spp. in Treatment and the Search for Novel Chemotherapeutic Targets. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, Switzerland, v. 12, article 826287, 2022. DOI: 10.3389/fcimb.2022.826287. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8819175/pdf/fcimb-12-826287.pdf. Acesso em: 21 fev. 2023.

SATTLER S. The Role of the Immune System Beyond the Fight Against Infection. In: Sattler, S., Kennedy-Lydon, T. (eds) The Immunology of Cardiovascular Homeostasis and Pathology. **Advances in experimental medicine and biology**, United States, Ed. Springer, Cham. v. 1003, p. 3-14, 2017. ISBN on-line978-3-319-57613-8. DOI: 10.1007/978-3-319-57613-8_1. Disponível: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-57613-8_1#citeas. Acesso em: 22 ago 2019.

SCEMES, E. *et al*. Connexin and pannexin mediated cell-cell communication. **Neuron glia biology**. England, v. 3, n. 3, p.199-208, 2007. DOI: 10.1017/S1740925X08000069. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2588549/pdf/nihms-77704.pdf.

SCHWARTZ, E.; HATZ, C.; BLUM, J. New world cutaneous leishmaniasis in travellers. **The Lancet. Infectious diseases**, United States, v. 6, n. 6, p. 342-349, 2006. DOI: 10.1016/S1473-3099(06)70492-3. Disponível em: https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(06)70492-3/abstract.

SCORZA, B. M.; CARVALHO, E. M.; WILSON, M. E. Cutaneous Manifestations of Human and Murine Leishmaniasis. **International journal of molecular sciences**, Switzerland, v. 18, issue 6, article 1296, 2017. DOI: 10.3390/ijms18061296. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5486117/pdf/ijms-18-01296.pdf.

SCOTT, P.; NOVAIS, F. O. Cutaneous leishmaniasis: immune responses in protection and pathogenesis. **Nature reviews. Immunology**, England, v. 16, n. 9, p. 581-592, 2016. DOI: 10.1038/nri.2016.72. Disponível em: https://www.nature.com/articles/nri.2016.72.

SECUNDINO, N. F. *et al*. *Lutzomyia longipalpis* peritrophic matrix: formation, structure, and chemical composition. **Journal of medical entomology**, England, v. 42, n. 6, p. 928-938, 2005. DOI: 10.1093/jmedent/42.6.928. Disponível em: https://academic.oup.com/jme/article/42/6/928/886546.

SEGRETAIN, D.; FALK, M. M. Regulation of connexin biosynthesis, assembly, gap junction formation, and removal. **Biochimica et biophysica acta**, Netherlands, v. 1662, n. 1-2, p. 3-21, 2004. DOI: 10.1016/j.bbamem.2004.01.007. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0005273604000355?via%3Dihub.

SERAFIM, T. D. *et al*. Sequential blood meals promote *Leishmania* replication and reverse metacyclogenesis augmenting vector infectivity. **Nature microbiology**, England, v. 3, n. 5, p. 548-555, 2018. DOI: 10.1038/s41564-018-0125-7. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6007031/pdf/nihms941563.pdf.

SHAPIRO, T. A.; ENGLUND, P. T. The structure and replication of kinetoplast DNA. **Annual review of microbiology**, United States, v. 49, p. 117-143, 1995. DOI: 10.1146/annurev.mi.49.100195.001001. Disponível em: https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev.mi.49.100195.001001.

SHAPOURI-MOGHADDAM, A. *et al*. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. **Journal of cellular physiology**, United States, v. 233, n. 9, p. 6425-6440, 2018. DOI: 10.1002/jcp.26429. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcp.26429.

SHARMA, U.; SINGH, S. Immunobiology of leishmaniasis. **Indian journal of experimental biology**, New Delhi, v. 47, n. 6, p. 412-423, 2009. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/26697763_Immunobiology_of_Leishmaniasis. Acesso em ago. 2018.

SHI, C.; PAMER, E. G. Monocyte recruitment during infection and inflammation. **Nature reviews. Immunology**, England, v. 11, n. 11, p. 762-774, 2011. DOI: 10.1038/nri3070. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3947780/pdf/nihms556423.pdf.

SHI, Y.; LI, X.; YANG, J. Mutations of CX46/CX50 and Cataract Development. **Frontiers in molecular biosciences**, Switzerland, v. 9, article 842399, 2022. DOI: 10.3389/fmolb.2022.842399. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8874012/pdf/fmolb-09-842399.pdf.

SHIO, M. T. *et al*. Host cell signalling and *Leishmania* mechanisms of evasion. **Journal of tropical medicine**, Egypt, v. 2012, article 819512, 2012. DOI: 10.1155/2012/819512. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3216306/pdf/JTM2012-819512.pdf. Acesso em: 14 out. 2019.

SILVA, T. F. *et al.* Phenotypical and genotypical differences among *Leishmania (Leishmania) amazonensis* isolates that caused different clinical frames in humans and dogs: A systematic review. **Acta tropica**, Netherlands, v. 221, article: 106018, 2021. DOI: 10.1016/j.actatropica.2021.106018. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0001706X21001972?via%3Dihub. Acesso em: mar. 2023.

SILVA, C. G. *et al.* Ultraestrutura de Parasitos do Gênero *Leishmania*. In: CONCEIÇÃO-SILVA, F., and ALVES, C. R., comps. **Leishmanioses do continente americano** [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2014, pp. 53-67. ISBN 978-85-7541-568-9. Disponível em: https://doi.org/10.7476/9788575415689.0004. Acesso em: 20 jan. 2020.

SÖHL, G.; WILLECKE, K. An update on connexin genes and their nomenclature in mouse and man. **Cell communication & adhesion**. England, v. 10, issue 4-6, p. 173-180, 2009. ISSN: 1541-9061. DOI: 10.1080/cac.10.4-6.173.180. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/10.1080/cac.10.4-6.173.180?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%200pubmed. Acesso em: 11 out. 2020.

SOLAN, J. L.; LAMPE, P. D. Src Regulation of Cx43 Phosphorylation and Gap Junction Turnover. **Biomolecules**, Switzerland, v.10, n.12, article 1596, 2020. DOI: 10.3390/biom10121596. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7759836/pdf/biomolecules-10-01596.pdf. Acesso em 13 set. 2021.

SOLINAS, G. *et al*. Tumor-associated macrophages (TAM) as major players of the cancer-related inflammation. **Journal of leukocyte biology**, England, v. 86, n. 5, p. 1065-1073, 2009. DOI: 10.1189/jlb.0609385. Disponível em: https://academic.oup.com/jleukbio/article-abstract/86/5/1065/6959976?redirectedFrom=fulltext&login=false.

SOSINSKY, G. E.; NICHOLSON, B. J. Structural organization of gap junction channels. **Biochimica et biophysica acta**, Netherlands, v. 1711, n. 2, p. 99-125, 2005. DOI: 10.1016/j.bbamem.2005.04.001. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0005273605000878?via%3Dihub.

SOUSA, A. E. Imunologia. **Revista Ciência Elementar**, [*s.l.*], v. 8, n. 3, p. 037, 2020. DOI: 10.24927/rce2020.037. Disponível em: https://rce.casadasciencias.org/rceapp/pdf/2020/037/.

SPRAY, D. C. *et al*. Regulation of gap junctional conductance. **The American journal of physiology**, United States, v. 248, n. 6, Pt 2, p. H753-64, 1985. DOI: 10.1152/ajpheart.1985.248.6.H753. Disponível em: https://journals.physiology.org/doi/abs/10.1152/ajpheart.1985.248.6.H753?rfr_dat=cr_pub++0pubmed&url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org. Acesso em 08 jun.2019.

STAMPER, B. D. *et al*. Model-based Evaluation of Gene Expression Changes in Response to *Leishmania* Infection. **Gene regulation and systems biology**, United States, v. 13, article 1177625019828350, p. 1-8, 2019. DOI: 10.1177/1177625019828350. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6376507/pdf/10.1177_1177625019828350.pdf.

STONE, T. W. et al. An integrated cytokine and kynurenine network as the basis of neuroimmune communication. **Frontiers in Neuroscience**, Switzerland, v. 16, p. 1002004, 2022. DOI: 10.3389/fnins.2022.1002004. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9729788/pdf/fnins-16-1002004.pdf.

STOUT, R. D. *et al*. Macrophages sequentially change their functional phenotype in response to changes in microenvironmental influences. **Journal of immunology**, United States, v. 175, n. 1, p. 342-349, 2005. DOI: 10.4049/jimmunol.175.1.342. Disponível em: https://journals.aai.org/jimmunol/article/175/1/342/36739/Macrophages-Sequentially-Change-Their-Functional.

STRAUSS, R. E.; GOURDIE, R. G. Cx43 and the Actin Cytoskeleton: Novel Roles and Implications for Cell-Cell Junction-Based Barrier Function Regulation. Biomolecules, Switzerland, v. 10, n. 12, article1656, 2020. DOI: 10.3390/biom10121656. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7764618/pdf/biomolecules-10-01656.pdf.

STUART, K. *et al*. Kinetoplastids: related protozoan pathogens, different diseases. **The Journal of clinical investigation**, United States, v. 118, n. 4, p. 1301-1310, 2008. DOI: 10.1172/JCI33945. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2276762/pdf/JCI0833945.pdf.

SUN, L. *et al*. Innate-adaptive immunity interplay and redox regulation in immune response. **Redox Biology**, Netherlands, v. 37, p. 101759, 2020. DOI: 10.1016/j.redox.2020.101759. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7575795/pdf/main.pdf.

SUNTER ,J.; GULL, K. SHAPE, form, function and *Leishmania* pathogenicity: from textbook descriptions to biological understanding. **Open biology**, England, v. 7, n. 9, article:170165, 2017. DOI: 10.1098/rsob.170165. Erratum in: **Open biology**, England, v. 8, n. 8, article:180134, 2018. DOI: 10.1098/rsob.180134. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5627057/pdf/rsob-7-170165.pdf.

TAKEDA, K.; AKIRA, S. Toll-like receptors in innate immunity**. International immunology**, England, v. 17, n. 1, p. 1-14, 2005. DOI: 10.1093/intimm/dxh186 Disponível em: https://academic.oup.com/intimm/article-abstract/17/1/1/721976?redirectedFrom=fulltext&login=false.

TAYLOR, P. R. *et al*. Macrophage receptors and immune recognition. **Annual review of immunology**, United States, v. 23, p. 901-944, 2005. DOI: 10.1146/annurev.immunol.23.021704.115816. Disponível em: https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev.immunol.23.021704.115816.

TEIXEIRA, D. E. *et al*. The cell biology of *Leishmania*: how to teach using animations. **PLoS pathogens**, United States, v. 9, n.10, article: e1003594, 2013. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003594. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3795027/pdf/ppat.1003594.pdf. Acesso em: 26 ago. 2019.

TITTARELLI, A. *et al*. Connexin-Mediated Signaling at the Immunological Synapse. **International Journal of Molecular Sciences**, Switzerland, v. 21, n. 10, p. 3736, 2020. DOI: 10.3390/ijms21103736. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7279457/pdf/ijms-21-03736.pdf.

TITUS, R. G.; RIBEIRO, J. M. Salivary gland lysates from the sand fly *Lutzomyia longipalpis* enhance *Leishmania* infectivity. **Science**, v. 239, n. 4845, p. 1306-1308, 1988. DOI: 10.1126/ciência.334443. Disponível em: https://www.science.org/doi/10.1126/science.3344436?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%200pubmed.

TOMIOTTO-PELLISSIER, F. *et al*. Macrophage polarization in leishmaniasis: broadening horizons. **Frontiers in immunology**, Switzerland, v. 9, article 2529, 2018. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02529. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6220043/pdf/fimmu-09-02529.pdf. Acesso em 10 abr. 2019.

TORRES-GUERRERO, E. *et al*. Leishmaniasis: a review. **F1000Research**, England, v. 26, n. 6, issue 750, p. 1-15, 2017. DOI: 10.12688/f1000research.11120.1. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5464238/pdf/f1000research-6-11996.pdf.

TOTLAND, M. Z. *et al*. Endocytic trafficking of connexins in cancer pathogenesis. **Biochimica et biophysica acta. Molecular basis of disease**, Netherlands, v. 1869, n. 7, article 166812, 2023. DOI: 10.1016/j.bbadis.2023.166812. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925443923001783?via%3Dihub.

TURCO, S. J.; DESCOTEAUX, A. The lipophosphoglycan of *Leishmania* parasites. **Annual review of microbiology**, United States, v. 46, n. 1, p. 65-94, 1992. DOI: 10.1146/annurev.mi.46.100192.000433. Disponível em: https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev.mi.46.100192.000433.

TURVEY, S. E.; BROIDE, D. H. Innate immunity. **The Journal of allergy and clinical immunology**, United States, v. 125, n. 2, Suppl 2, p. S24-S32, 2010. DOI: 10.1016/j.jaci.2009.07.016. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2832725/pdf/nihms161342.pdf.

UBRAMANIAN, N. *et al*. Network representations of immune system complexity. **Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med**, EUA, v. 7, n. 1, p. 13-38, 2015. DOI: 10.1002/wsbm.1288. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4339634/pdf/WSBM-7-13.pdf.

UENO, N.; WILSON, M. E. Receptor-mediated phagocytosis of *Leishmania*: implications for intracellular survival. **Trends in parasitology**, England, v, 28, n. 8, p. 335-344, 2012. DOI: 10.1016/j.pt.2012.05.002. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3399048/pdf/nihms388694.pdf.

UNGER, V. M. *et al*. Three-dimensional structure of a recombinant gap junction membrane channel. **Science**, United States, v. 283, n. 5405, p. 1176-1180, 1999. DOI: 10.1126/science.283.5405.1176. Disponível em: https://www.science.org/doi/10.1126/science.283.5405.1176?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%200pubmed.

UNKELESS, J. C. *et al*. Fc-receptor variants of a mouse macrophage cell line. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, United States, v. 76, n. 3, p. 1400-1404, 1979. DOI: 10.1073/pnas.76.3.1400. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC383259/pdf/pnas00003-0398.pdf.

UNWIN, P. N.; ZAMPIGHI, G. Structure of the junction between communicating cells. **Nature**, England, v. 283, n. 5747, p. 545-549, 1980. DOI: 10.1038/283545a0. Disponível em: https://www.nature.com/articles/283545a0.

URIBE-QUEROL, E.; ROSALES, C. Control of Phagocytosis by Microbial Pathogens. **Frontiers in immunology**, Switzerland, v. 8, article1368, 2017. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01368. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5660709/pdf/fimmu-08-01368.pdf.

USMAN, M. *et al*. Molecular identification of phlebotomine sand flies and the harbored *Leishmania* spp. in Sokoto State, Nigeria. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, Switzerland, v. 13, article 1219629, 2023. DOI: 10.3389/fcimb.2023.1219629. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10500309/pdf/fcimb-13-1219629.pdf.

VALDEBENITO, S.; BARRETO, A.; EUGENIN, E. A. The role of connexin and pannexin containing channels in the innate and acquired immune response. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, Netherlands, v. 1860, n. 1, p. 154-165, 2018. DOI: 10.1016/j.bbamem.2017.05.015. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6065251/pdf/nihms982691.pdf.

VAN STEENSEL, M. A. Gap junction diseases of the skin. **American journal of medical genetics**. **Part C, Seminars in medical genetics**, United States, v. 131C, n. 1, p. 12-19, 2004. DOI: 10.1002/ajmg.c.30030. Erratum in: **American journal of medical genetics**. **Part C, Seminars in medical genetics**, v. 142, 1, article 58, 2006. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ajmg.c.30030. Acesso em 18 out. 2019.

VANNIER-SANTOS, M. A.; MARTINY, A.; DE SOUZA, W. Cell biology of *Leishmania* spp.: invading and evading. **Current pharmaceutical design**, United Arab Emirates, v. 8, issue 4, p. 297-318, 2002. DOI: 10.2174/1381612023396230. Disponível em: https://www.eurekaselect.com/article/9686.

VAROL, C.; MILDNER, A.; JUNG, S. Macrophages: development and tissue specialization. **Annual review of immunology**, United States, v. 33, p. 643-675, 2015. DOI: 10.1146/annurev-immunol-032414-112220. Disponível em: https://www.annualreviews.org/docserver/fulltext/immunol/33/1/annurev-immunol-032414-112220.pdf?expires=1738880082&id=id&accname=guest&checksum=E32B3AE768AB2321C7038C1F19E56EC0.

VERSELIS, V. K. Connexin hemichannels and cochlear function. **Neuroscience letters**, Ireland, v. 695, p. 40-45, 2017. DOI: 10.1016/j.neulet.2017.09.020. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5851822/pdf/nihms908765.pdf.

VINKEN, M. *et al*. Connexins and their channels in cell growth and cell death. **Cellular signalling**, England, v. 18, n. 5, p. 592-600, 2006. DOI: 10.1016/j.cellsig.2005.08.012. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0898656805002317?via%3Dihub.

VIZCAÍNO-CASTILLO, A. *et al*. The complexity and diversity of the actin cytoskeleton of trypanosomatids. **Molecular and biochemical parasitology**, Netherlands, v. 237, article:111278, 2020. DOI: 10.1016/j.molbiopara.2020.111278. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0166685120300426?via%3Dihub.

VOLF, P. *et al*. Blocked stomodeal valve of the insect vector: similar mechanism of transmission in two trypanosomatid models. **International journal for parasitology**, England, v. 34, n. 11, p. 1221-1227, 2004. DOI: 10.1016/j.ijpara.2004.07.010. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0020751904001675?via%3Dihub.

WANDERLEY, J. L. M.; DAMATTA, R. A.; BARCINSKI, M. A. Apoptotic mimicry as a strategy for the establishment of parasitic infections: parasite- and host-derived phosphatidylserine as key molecule. **Cell communication and signaling : CCS**, England, v. 18, n. 1, p. 10, 2020. DOI: 10.1186/s12964-019-0482-8. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6964003/pdf/12964_2019_Article_482.pdf.

WANDERLEY, J. L. *et al*. Mimicry of apoptotic cells by exposing phosphatidylserine participates in the establishment of amastigotes of *Leishmania (L) amazonensis* in mammalian hosts. **The Journal of immunology : official journal of the American Association of Immunologists**, United States, v. 176, n. 3, p. 1834-1839, 2006. DOI: 10.4049/jimmunol.176.3.1834. Disponível em: https://journals.aai.org/jimmunol/article/176/3/1834/37579/Mimicry-of-Apoptotic-Cells-by-Exposing.

WANDERLEY, J. L. M. *et al*. Phosphatidylserine exposure on the surface of *Leishmania amazonensis* amastigotes modulates in vivo infection and dendritic cell function. **Parasite Immunology**, England, v. 35, n. 3-4, p. 109-119, 2013. DOI: 10.1111/pim.12019. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3565004/pdf/nihms422699.pdf.

WANG, H.; SUN, X. Carbon Monoxide-Releasing Molecule-2 Inhibits Connexin 43-Hemichannel Activity in Spinal Cord Astrocytes to Attenuate Neuropathic Pain. **Journal of molecular neuroscience : MN**, United States, v. 63, n.1, p. 58-69, 2017. DOI: 10.1007/s12031-017-0957-2. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s12031-017-0957-2.

WANG, X. *et al*. Integrative multi-omics approaches to explore immune cell functions: Challenges and opportunities. **iScience**, United States, v. 26, n.4, article: 106359, 2023. DOI: 10.1016/j.isci. 2023.106359. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10060681/pdf/main.pdf.

WANG, X. G.; PERACCHIA, C. Chemical gating of heteromeric and heterotypic gap junction channels. **The Journal of membrane biology**, United States, v. 162, n. 2, p. 169-176, 1998. DOI: 10.1007/s002329900354. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s002329900354.

WARRINGTON, R. *et al*. An introduction to immunology and immunopathology. **Allergy Asthma and Clinical Immunology**, England, v. 10, n. 7, Suppl 1, p. S1, 2011. DOI: 10.1186/1710-1492-7-S1-S1. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3245432/pdf/1710-1492-7-S1-S1.pdf. Acesso em: 25 out. 2019.

WATANABE, S. *et al.* The role of macrophages in the resolution of inflammation. **The Journal of clinical investigation**, United States, v. 129, n. 7, p. 2619-628, 2019. DOI: 10.1172/JCI124615. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6597225/pdf/jci-129-124615.pdf.

WEI, L. *et al*. Using machine learning to dissect host kinases required for *Leishmania* internalization and development. **bioRxiv: the preprint server for biology**, United States, 2024.05.16.593986, 2024. DOI: 10.1101/2024.05.16.593986. Update in: Mol Biochem Parasitol. 2024 Dec; 260:111651. DOI: 10.1016/j.molbiopara.2024.111651. Disponível em: https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2024.05.16.593986v2. Acesso em jan.2025.

WEIGLE, K.; SARAVIA, N. G. Natural history, clinical evolution, and the host-parasite interaction in New World cutaneous Leishmaniasis. **Clinics in dermatology**, United States, v. 14, n. 5, p. 433-450, 1996. DOI: 10.1016/0738-081x(96)00036-3. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0738081X96000363?via%3Dihub.

WHEELER, R. J.; SUNTER, J. D.; GULL, K. Flagellar pocket restructuring through the *Leishmania* life cycle involves a discrete flagellum attachment zone. **Journal of cell science**, England, v. 129, n. 4, p.854-867, 2016. DOI: 10.1242/jcs.183152. Disponível em: https://journals.biologists.com/jcs/article/129/4/854/55907/Flagellar-pocket-restructuring-through-the.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Leishmaniasis Fact-Sheet** [recurso eletrônico]. WHO; Geneva, Switzerland: 2020. Disponível em: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis. Acesso em: 12 September 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Control of Neglected Tropical Diseases**. WHO. Geneva, Switzerland: 2023.Disponível em: https://www.who.int/teams/control-of-neglected-tropical-diseases/global-report-on-neglected-tropical-diseases-2023. Acesso em: 02 mar 2024.

WILLEBRORDS, J. *et al*. Connexins and their channels in inflammation. **Critical reviews in biochemistry and molecular biology**, England, v. 51, n. 6, p. 413-439, 2016. DOI: 10.1080/10409238.2016.1204980. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5584657/pdf/emss-73952.pdf.

WU, Y.; HIRSCHI, K. K. Tissue-Resident Macrophage Development and Function. **Frontiers in cell and developmental biology**, Switzerland, v. 8, article 617879, 2021. DOI:10.3389/fcell.2020.617879. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7820365/pdf/fcell-08-617879.pdf. Acesso em: 14 fev 2022.

WYNN, T. A.; CHAWLA, A.; POLLARD, J. W. Macrophage biology in development, homeostasis and disease. **Nature**, England, v. 496, n. 7446, p. 445-55, 2013. DOI: 10.1038/nature12034. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3725458/pdf/nihms492945.pdf.

WYNN, T. A.; VANNELLA, K. M. Macrophages in Tissue Repair, Regeneration, and Fibrosis. **Immunity**, United States, v. 44, n. 3, p. 450-462, 2016. DOI: 10.1016/j.immuni.2016.02.015. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4794754/pdf/nihms764286.pdf.

XIONG, X. *et* al. Analysis of the function and therapeutic strategy of connexin 43 from its subcellular localization. **Biochimie**, France, v. 218, p. 1-7, 2024. DOI: 10.1016/j.biochi.2023.08.011. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030090842300202X?via%3Dihub.

YANG, H. *et al.* Inhibition of Connexin 43 and Phosphorylated NR2B in Spinal Astrocytes Attenuates Bone Cancer Pain in Mice. **Frontiers in cellular neuroscience**, Switzerland, v. 12, article 129, 2018. DOI: 10.3389/fncel.2018.00129. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5951934/pdf/fncel-12-00129.pdf.

YAO, J.; OITE, T.; KITAMURA, M. Gap junctional intercellular communication in the juxtaglomerular apparatus. **American journal of physiology**. Renal physiology, United States, v. 296, n. 5, p. F939-46, 2009. DOI: 10.1152/ajprenal.90612.2008. Disponível em: https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/ajprenal.90612.2008?rfr_dat=cr_pub++0pubmed&url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org.

YASARBAS, S. S. *et al*. Connexins in epidermal health and diseases: insights into their mutations, implications, and therapeutic solutions. **Frontiers in physiology**, Switzerland, v. 15, article 1346971, 2024. DOI: 10.3389/fphys.2024.1346971. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11140265/pdf/fphys-15-1346971.pdf.

YONA, S.; JUNG, S. Monocytes: subsets, origins, fates and functions. **Current opinion in hematology**, United States, v. 17, n. 1, p. 53-59, 2010. DOI: 10.1097/MOH.0b013e3283324f80. Disponível em: https://journals.lww.com/co-hematology/abstract/2010/01000/monocytes__subsets,_origins,_fates_and_functions.10.aspx.

YOUNG, J.; KIMA, P. E. The *Leishmania* Parasitophorous Vacuole Membrane at the Parasite-Host Interface. **Yale journal of biology and medicine**, United States, v. 20, n. 92, issue 3, p. 511-521, 2019. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6747952/pdf/yjbm_92_3_511.pdf.

ZHOU, J. Z.; JIANG, J. X. Gap junction and hemichannel-independent actions of connexins on cell and tissue functions--an update. **FEBS letters**, England, v. 588, n. 8, p. 1186-1192, 2014. DOI: 10.1016/j.febslet.2014.01.001. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4122521/pdf/nihms608801.pdf.

ZHU, Y. Gap Junction-Dependent and -Independent Functions of Connexin43 in Biology. **Biology (Basel)**, Switzerland, v. 11, n. 2, p. 283, 2022. DOI: 10.3390/biology11020283. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8869330/pdf/biology-11-00283.pdf.

ZONG, Y. J.*et al.* Cytomembrane Trafficking Pathways of Connexin 26, 30, and 43. **International journal of molecular sciences**, Switzerland, v. 24, 12, article 10349, 2023. DOI: 10.3390/ijms241210349. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10298996/pdf/ijms-24-10349.pdf.