



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA E PARASITOLOGIA
BÁSICAS E APLICADAS

THALISSA MARIANA DE MORAES MARTINS

**Avaliação dos níveis de melatonina e mediadores inflamatórios na infecção
por *Leishmania* em pacientes hiperglicêmicos**

BARRA DO GARÇAS
2021

THALISSA MARIANA DE MORAES MARTINS

Avaliação dos níveis de melatonina e mediadores inflamatórios na infecção por *Leishmania* em pacientes hiperglicêmicos

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso, como requisito para obtenção do título de Mestre em Imunologia e Parasitologia pelo Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Básicas e Aplicadas.

Área de Concentração: Imunomodulação e imunofisiologia

Orientador (a): Profa. Dra. Danny Laura Gomes Fagundes Triches

Coorientador (a): Profa. Dra. Adenilda Cristina Honório França

BARRA DO GARÇAS
2021

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.

M386a Martins, Thalissa Mariana de Moraes.
Avaliação dos níveis de melatonina e mediadores inflamatórios
na infecção por Leishmania em pacientes hiperglicêmicos / Thalissa
Mariana de Moraes Martins. -- 2021
50 f. ; 30 cm.

Orientadora: Danny Laura Gomes Fagundes Triches.
Co-orientadora: Adenilda Cristina Honório França.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso,
Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Programa de Pós-
Graduação em Imunologia e Parasitologia Básicas e Aplicadas,
Barra do Garças, 2021.
Inclui bibliografia.

1. Inflamação. 2. Diabetes. 3. Leishmaniose. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA E PARASITOLOGIA BÁSICAS E APLICADAS

FOLHA DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Avaliação dos níveis de melatonina e mediadores inflamatórios na infecção por leishmania em pacientes hiperglicêmicos.

AUTOR (A): MESTRANDO (A) THALISSA MARIANA DE MORAES MARTINS

Dissertação defendida e aprovada em **20 de dezembro de 2021.**

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA

1. Profa. Dra. Danny Laura Gomes Fagundes Triches (Presidente) - CUA/UFMT
2. Profa. Dra. Viviane Zeringóta Rodrigues Cotta (Examinadora interna) - CUA/UFMT
3. Prof. Dra. Rubian Trindade da Silva Fernandes (Examinador externo) - SSBG/MT

Barra do Garças, 20 de dezembro de 2021.



Documento assinado eletronicamente por **FABRICIO HENRIQUE OLIVEIRA SILVA, Técnico Administrativo em Educação do PPG em Imunol. e Parasit. Bás. Aplicadas - ICBS / CUA - UFMT**, em 09/02/2022, às 09:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **DANNY LAURA GOMES FAGUNDES, Docente da Universidade Federal de Mato Grosso**, em 10/02/2022, às 08:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de](#)

[outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rubian Trindade da Silva Fernandes, Usuário Externo**, em 11/02/2022, às 15:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **VIVIANE ZERINGOTA RODRIGUES COTTA, Docente da Universidade Federal de Mato Grosso**, em 11/02/2022, às 15:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufmt.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4378967** eo código CRC **26889D26**.

*Dedico este trabalho ao meu querido tio
Erivelton Luciano (in memoriam), que se
destinou a fazer aquilo que mais amava,
cuidar do próximo, empenhando-se
corajosamente a salvar vidas na luta contra a
Covid-19, sendo meu exemplo de inspiração.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, pela vida, por me guiar e tornar tudo possível.

Aos meus pais, meus avós e meus irmãos pelo apoio, amor incondicional, encorajamento, suporte e paciência.

Ao meu querido Adryel Kayro por todo incentivo e companheirismo.

Aos meus colegas da Pós-Graduação Felipe Ferrari, Adriele Queiroz, Katleyn Polizeli e Gabriella Regina pelas conversas amigáveis e inspiradoras, pelo suporte, atenção e cooperação.

Ao Prof. Dr. Eduardo França por todo apoio e ensinamentos.

A minha coorientadora Profa. Dra. Adenilda Honório pelo carinho e pelas preciosas contribuições.

A minha orientadora Profa. Dra. Danny Laura pelo carinho, empenho, atenção e conversas motivadoras, me auxiliando a crescer cada vez mais no âmbito acadêmico e pessoal.

A Capes, pelo apoio financeiro.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram na realização deste trabalho.

RESUMO

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é uma doença zoonótica negligenciada, que acomete a pele e as mucosas, resultando em lesões ulcerativas únicas ou múltiplas. O Diabetes Mellitus tipo 2 (DMT2) é uma desordem metabólica, constituída por hiperglicemia crônica, decorrente da falha na secreção e/ou ação da insulina, representando um grave e crescente problema de saúde e uma das principais causas de mortalidade no mundo. Comumente, doenças infecciosas são mais recorrentes em pacientes diabéticos, devido a disfunção imunológica. A inflamação acentuada e crônica é uma característica em comum nessas duas comorbidades. O hormônio melatonina é uma indolamina sintetizada endogenamente, exercendo importantes ações imunomoduladoras e neuroprotetoras, além da manutenção temporal do ritmo biológico. O conhecimento sobre o efeito da infecção por *Leishmania* no relógio biológico do hospedeiro ainda é escasso, portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a relação da melatonina com mediadores inflamatórios na infecção por *Leishmania* em pacientes hiperglicêmicos. Foram avaliados, os níveis séricos do hormônio melatonina, glicose e mediadores inflamatórios (PCR, IL-4, TNF- α) em indivíduos saudáveis, com leishmaniose, com diabetes e com associação das duas doenças. Observou-se um aumento do TNF- α nos grupos testes em relação ao controle. Além disso, níveis reduzidos de melatonina no grupo LTA ($43,12 \pm 4,44$ pg.mL⁻¹), com diferença significativa em relação ao grupo controle ($60,79 \pm 12,09$ pg.mL⁻¹) foram observadas maiores concentrações de melatonina do grupo LTA+DMT2 ($69,65 \pm 7,03$ pg.mL⁻¹) em relação aos grupos isolados. Nosso estudo fornece evidências para considerar que o TNF- α pode afetar a produção de melatonina em pacientes com leishmaniose tegumentar. Por outro lado, pacientes diabéticos acometidos pela LTA, tiveram a produção de melatonina se equiparando aos indivíduos saudáveis, por meio de mecanismos adicionais, que precisam ser compreendidos, buscando esclarecer, se o ritmo diário da melatonina pode ser restaurado em doenças associadas.

Palavras-chave: Inflamação. Diabetes. Leishmaniose.

ABSTRACT

American Cutaneous Leishmaniasis (ACL) is a neglected zoonotic disease that affects the skin and mucous membranes, resulting in single or multiple ulcerative lesions. Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) is a metabolic disorder, consisting of chronic hyperglycemia, resulting from failure in insulin secretion and/or action, representing a serious and growing health problem and one of the main causes of mortality in the world. Commonly, infectious diseases are more recurrent in diabetic patients, due to immune dysfunction. Marked and chronic inflammation is a common feature in these two comorbidities. The hormone melatonin is an endogenously synthesized indolamine, exerting important immunomodulatory and neuroprotective actions, in addition to the temporal maintenance of the biological rhythm. Knowledge about the effect of *Leishmania* infection on the biological clock of the host is still scarce, therefore, the objective of this work was to evaluate the relationship of melatonin with inflammatory mediators in *Leishmania* infection in hyperglycemic patients. Serum levels of the hormone melatonin, glucose and inflammatory mediators (CRP, IL-4, TNF- α) were evaluated in healthy individuals, with leishmaniasis, with diabetes and with an association of both diseases. An increase in TNF- α was observed in the test groups in relation to the control. In addition, reduced levels of melatonin in the ACL group (43.12 ± 4.44 pg.mL⁻¹), with a significant difference in relation to the control group (60.79 ± 12.09 pg.mL⁻¹), were observed higher melatonin concentrations of the ACL +DMT2 group (69.65 ± 7.03 pg.mL⁻¹) in relation to the isolated groups. Our study provides evidence to consider that TNF- α may affect melatonin production in patients with cutaneous leishmaniasis. On the other hand, diabetic patients affected by ACL had melatonin production matching healthy individuals, through additional mechanisms, which need to be understood, seeking to clarify whether the daily rhythm of melatonin can be restored in associated diseases.

Keywords: Inflammation. Diabetes. Leishmaniasis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Concentração glicêmica (mg.dL^{-1}) no plasma humano	25
Figura 2- Concentração da Proteína C reativa (mg.L^{-1}) no plasma humano.	25
Figura 3- Concentração da citocina IL-4 (pg.mL^{-1}) no plasma humano.	26
Figura 4- Concentração da citocina TNF- α em (pg.mL^{-1}) no plasma humano.	27
Figura 5- Concentração de melatonina (pg.mL^{-1}) no plasma humano.	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Caracterização da população estudada.	24
Tabela 2a - Correlação entre os níveis do hormônio melatonina com os mediadores inflamatórios (PCR, IL-4 e TNF- α).	28
Tabela 2b - Correlação entre os níveis do hormônio elatonina com os índices glicêmicos.	28

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

CCL2/ MCP-1- Proteína Quimiotática de Monócitos 1
DCs- Células Dendríticas
DMG- Diabetes Mellitus Gestacional
DMT2- Diabetes Mellitus tipo 2
DT1- Diabetes tipo 1
EDTA- Ácido etilenodiaminotetracético
GCSF- Fator Estimulador de Colônias Granulocitárias
HIV/AIDS- Vírus da Imunodeficiência Humana/ Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
IDF - Federação Internacional de Diabetes
IL -Interleucina
IFN- γ - Interferon Gama
JNKs - Cinases c-Jun N-terminal
LMC- Leishmaniose Mucocutânea
LTA- Leishmaniose Tegumentar Americana
LV – Leishmaniose Visceral
MIP-1 α - Proteína Inflamatória de Macrófago alfa
MLT- Melatonina
MT1/MT2- Receptores de Melatonina 1 e 2
NF κ B -Fator Nuclear Kappa B
NK- Natural Killer
NO- Óxido Nítrico
RNA_m- Ácido Ribonucleico mensageiro
OMS- Organização Mundial da Saúde
PCR- Proteína C Reativa
PDGF- Fator de Crescimento derivado das Plaquetas
PFA- Proteína de Fase Aguda
ROS- Espécies Reativas de Oxigênio
T CD4⁺ - Linfócito T CD4⁺
T CD8⁺ - Linfócito T CD8⁺
Th- Célula T auxiliares
TNF- α Fator de Necrose Tumoral Alfa
TPMP- Poros de transição de permeabilidade mitocondrial

SUMÁRIO

1. Introdução.....	12
1.1. Leishmanioses	12
1.2. Diabetes Mellitus.....	14
1.3. Diabetes e Leishmaniose	16
1.4. Proteína C Reativa	16
1.5. Hormônio melatonina	17
2. Objetivos	20
2.1. Objetivo geral	20
2.2. Objetivos específicos.....	20
3. Materiais e métodos	21
3.1. Área de estudo	21
3.2. Critérios de inclusão e exclusão	21
3.3. Aspectos éticos	21
3.4. Sujeitos e tamanho amostral	21
3.5. Processamento das amostras.....	21
3.5.2. Quantificação de citocinas	22
3.5.3. Determinação da Proteína C Reativa (PCR).....	22
3.5.4. Dosagem hormônio melatonina	22
3.6. Análise estatística	22
4. Resultados	24
4.1. Caracterização da população estudada	24
4.2. Dosagem da glicemia no plasma	24
4.3. Dosagem da Proteína C Reativa (PCR).....	25
4.4. Concentração das citocinas IL-4 e TNF- α	26
4.5. Dosagem do hormônio melatonina no plasma	27
4.6. Correlação do hormônio melatonina e mediadores inflamatórios.....	27
5. Discussão.....	29
6. Conclusão	36
7. Referências	37
APÊNDICE I	48
APÊNDICE II.....	49

1. Introdução

1.1. Leishmanioses

As leishmanioses são um conjunto de doenças negligenciadas, causadas por protozoários do gênero *Leishmania*, ordem Kinetoplastida, família Trypanomastidae, presentes em mais de 98 países, concentrando-se no Sudeste Asiático, África Oriental, América Latina e no Mediterrâneo (ALVAR et al., 2012). Em nível global, ocorrem cerca de 700.000 a 1 milhão de casos ao ano, com 40 mil mortes e mais de 350 milhões de pessoas vivendo em áreas de transmissão ativa, com 14 milhões afetadas diretamente (ALVAR et al., 2012; PACE, 2014; SAVOIA, 2015; WHO, 2021).

Essa enfermidade, apresenta-se por duas formas clínicas principais, a forma tegumentar com comprometimento cutâneo e/ou mucoso, e visceral, com acometimento do baço, fígado e medula óssea (MCGWIRE & SATOSKAR, 2014; PACE, 2014; VASCONCELOS et al., 2018).

A Leishmaniose Visceral (LV), também chamada de Calazar, é caracterizada por febre irregular de longa duração, perda de peso, palidez cutânea, hepatoesplenomegalia, anemia, leucopenia e trombocitopenia, sendo fatal em mais de 95% dos casos não tratados. Calcula-se, que ocorram anualmente cerca de 50 a 90 mil novos casos de LV em todo o mundo, com taxas que variam entre 25 a 45% sendo relatados à Organização Mundial da Saúde (OMS), tornando-se uma das principais doenças parasitárias com potencial de surto e mortalidade (AGUIAR & RODRIGUES, 2017; SAVOIA, 2015; WHO, 2021).

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) ou cutânea é a forma mais comum de leishmaniose e pode se manifestar de diversas formas, desde lesões cutâneas restritas até ulcerações mucocutâneas, podendo ser únicas, múltiplas ou difusas, com bordas elevadas, indolores e com interior granulomatoso, que surgem em semanas ou meses após a picada do vetor, sendo capaz de passar de uma lesão auto resolutiva para uma lesão de caráter crônico. Estima-se que ocorram entre 600.000 a 1 milhão de novos casos anualmente em todo o mundo. (PACE, 2014; REITHINGER et al., 2007; SCOTT & NOVAIS, 2016; WHO, 2021).

A Leishmaniose Mucocutânea (LMC) surge em decorrência de complicações provocadas pela Leishmaniose Cutânea, onde consiste num processo inflamatório crônico, no qual, os parasitas se alastram da lesão cutânea primária por vasos linfáticos e pela corrente sanguínea, atingindo a mucosa do trato respiratório superior, acometendo as mucosas nasal, faríngea e laríngea, levando a destruição deste tecido. Mais de 90% dos casos de LMC ocorrem na Bolívia, Brasil, Etiópia e Peru. (AHLUWALIA et al., 2004; WHO, 2021).

Essas variações nas apresentações clínicas estão habitualmente relacionadas às modificações individuais na resposta imunológica do hospedeiro e da espécie parasitária infectante. Deste modo, a LTA tornou-se uma das infecções dermatológicas mais importantes, devido a sua elevada frequência, pelas dificuldades terapêuticas, deformidades e sequelas que pode gerar no indivíduo (GONTIJO & CARVALHO, 2003; MARTINS et al., 2014; MCGWIRE & SATOSKAR, 2014; MURBACK et al., 2011; REITHINGER, 2007).

Nas últimas décadas, a LTA apresentou modificações em seu comportamento. Considerada anteriormente como uma zoonose de animais silvestres, que acometia eventualmente indivíduos que adentravam nas florestas, ela passou a ocorrer em zonas rurais desmatadas e em regiões urbanas e periurbanas em decorrência da urbanização, de atividades econômicas, garimpos, expansão de fronteiras agrícolas e extrativismo, configurando condições ambientais favoráveis à transmissão da doença (BASANO & CAMARGO, 2004; BRASIL, 2019; DESJEUX, 2004).

A prevalência da LTA no Brasil tem se propagado nos últimos 20 anos, gerando surtos endêmicos em diversos estados, com destaque para as regiões norte, nordeste e centro-oeste (BRASIL, 2005; BRASIL, 2019; GONÇALVES et al., 2011).

A LTA é uma zoonose que acomete tanto o homem como várias espécies de animais silvestres (roedores, marsupiais, edentados e primatas) e doméstico (*Canis lupus familiaris*) (REITHINGER & DAVIES, 1999; ROQUE & JANSEN, 2014)), sendo causada principalmente pelas espécies de *Leishmania mexicana*, *Leishmania panamensis*, *Leishmania braziliensis* e *Leishmania amazonensis*. No Brasil, as 3 principais espécies são *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, *Leishmania (Viannia) guyanensi* e *Leishmania (Viannia) braziliensis* (BASANO & CAMARGO, 2004; BRASIL, 2019; GONTIJO & CARVALHO, 2003; BRASIL, 2000).

A LTA é transmitida através da picada do flebotomíneo fêmea infectado, pertencente ao gênero *Lutzomyia*, que introduz na derme do hospedeiro vertebrado, a forma infectante do parasita chamada de promastigota metacíclico que é fagocitada por células do sistema monocítico fagocitário, onde se diferencia em amastigotas e se multiplicam por divisão binária, ocasionando a lise celular e liberação desses parasitos no meio extracelular, no qual pode infectar outras células, assim como, ser ingerido no repasto sanguíneo por outro flebotomíneo, dando continuidade ao ciclo biológico (DAVID & CRAFT, 2009; GONTIJO & CARVALHO, 2003; MCGWIRE & SATOSKAR, 2014).

A resposta do hospedeiro é dependente de diversos tipos celulares, principalmente neutrófilos, monócitos, que destroem o parasita e se diferenciam em células dendríticas

(DCs), que promovem o desenvolvimento de células T protetoras, além dos macrófagos, que fornecem abrigo ao parasito, atuando como células apresentadoras de antígeno, promovendo a síntese de moléculas que induzem a resposta inflamatória e eliminação do agente infeccioso (CUNHA et al., 2020; SCOTT & NOVAIS, 2016; SILVA, 2018).

Os neutrófilos são ligeiramente atraídos para o local da infecção por *Leishmania*, no entanto, sua finalidade é complexa, pois estes apresentam duplo papel, podendo tanto destruir como proteger os parasitos, de acordo com a espécie parasitária e as características do hospedeiro (PETERS et al., 2008; SCOTT & NOVAIS, 2016).

Monócitos inflamatórios e DCs também são carreados para região da infecção, onde tornam-se células infectadas por *Leishmania* ainda no período inicial do processo infeccioso. O carregamento prematuro de monócitos inflamatórios é dependente da quimiocina CCL2, derivada de células presentes na área de infecção após estimulação pelo Fator de Crescimento derivado das Plaquetas (PDGF). Monócitos exibem um aumento do consumo de oxigênio denominado "explosão respiratória" após a infecção, levando a contenção antecipada dos parasitos. Posteriormente se diferenciam em células dendríticas estimulando o desenvolvimento de células protetoras Th1 (GONCALVES et al., 2011; RIBEIRO-GOMES et al., 2012; SCOTT & NOVAIS, 2016).

Existem muitas complicações na imunidade contra a leishmaniose, devido sua alta complexidade. As citocinas pró e anti-inflamatórias que são produzidas, desempenham papéis diferentes na resistência, suscetibilidade e imunopatologia da infecção por *Leishmania* (MASPI et al., 2016).

A resistência a LTA está relacionada com o surgimento de respostas com a participação de células T CD4⁺ com perfil Th1, através da produção de citocinas pró-inflamatórias como IL-1, IL-2, IL-12, IFN- γ e TNF- α , que levam à ativação de macrófagos e morte dos parasitos (SACKS & NOBEN-TRAUTH, 2002; VON STEBUT et al., 2003). Por outro lado, as células T CD8⁺ exibem um perfil citolítico, lizando as células infectadas sem matar os parasitos e aumentando a produção de citocinas e quimiocinas com perfil Th2, como IL-4, IL-5, IL-13, TGF- β levando à replicação e persistência do parasita (CUNHA et al., 2020; DE OLIVEIRA & BRODSKYN, 2012; KROPF, 2005; SACKS & NOBEN-TRAUTH, 2002; SCOTT & NOVAIS, 2016).

1.2. Diabetes Mellitus

O Diabetes Mellitus (DM) é uma desordem metabólica, constituída por hiperglicemia crônica, ocasionada por distúrbios no metabolismo de carboidratos, que resultam em falhas na secreção e/ou ação da insulina. É considerado um importante e preocupante problema de saúde pública, devido ao grande número de pessoas afetadas e mortalidade precoce, como também, aos custos relacionados no controle e no tratamento das complicações decorrentes da doença (GOMES & ACCARDO, 2019; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2017).

Calcula-se que cerca de 6,7 milhões de mortes por ano decorram dos desdobramentos do DM no mundo. Conforme a *Federação Internacional de Diabetes*, existem cerca de 537 milhões de diabéticos no mundo, destes, 81% vivem em países de baixa e média renda, sendo a perspectiva até 2045 que este número cresça, alcançando cerca de 784 milhões de pessoas (IDF, 2021; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2017).

São descritas 3 formas de Diabetes Mellitus: tipo 1, tipo 2 e gestacional. A mais importante delas é o Diabetes Mellitus tipo 2 (DMT2), sendo a forma predominante de diabetes, encontrada em aproximadamente 90% dos casos da doença, estando ligado à dois mecanismos patogênicos, o primeiro a resistência à ação da insulina nos tecidos, como músculo esquelético, fígado e tecido adiposo, e o segundo a disfunção secretória das células β pancreáticas. Já o Diabetes tipo 1 (DT1), é considerado uma doença autoimune em decorrência da reação de autoanticorpos contra as células beta pancreáticas, que sintetizam a insulina, ocasionando à destruição destas células e desajustando toda a produção deste hormônio (KATSAROU et al., 2017; KEANE et al., 2017; LEAL & VOLTARELLI, 2010).

E por fim, o Diabetes Mellitus Gestacional (DMG) que é considerado como um subtipo de hiperglicemia, diagnosticado pela primeira vez no decurso da gravidez, quando a função das células β maternas não se adaptam a elevada demanda de insulina, sendo considerado a complicação metabólica mais frequente, afetando entre 2% a 5% das gestantes (DO CÉU ALMEIDA et al., 2017; GARCÍA, 2008; GILMARTIN, URAL & REPKE, 2008). Esse distúrbio tem chamado cada vez mais atenção, devido às suas repercussões na mãe, no feto e no futuro da criança (KIM, NEWTON & KNOPP, 2002). Crianças nascidas de mães com DMG apresentam risco aumentado de natimortalidade, complicações perinatais, peso elevado ao nascer, visceromegalia fetal e macrosomia (CORRIGAN, BRAZIL & MCAULIFFE, 2009; HAWDON, 2011).

O sistema imunológico e os mediadores inflamatórios atuam nos dois mecanismos básicos do DMT2, aumentando a liberação de TNF- α , IL-6, MCP-1 e de outros fatores solúveis por macrófagos, além da ativação NF κ B e JNKs, que resultam no comprometimento da

sinalização dos receptores de insulina (GUILHERME et al., 2008; LEAL & VOLTARELLI, 2010).

Embora a participação do sistema imunológico na disfunção e morte das células β do pâncreas no DMT2 seja recente, dados clínicos e experimentais, *in vivo* e *in vitro*, indicam que no DMT2, assim como no DT1, ocorre uma acentuada inflamação na ilhota de Langerhans (insulite), tornando-se uma característica predominante. Adicionalmente, fatores inflamatórios, incluindo IL-1 β , IL-6, IL-8, quimiocinas, GCSF e MIP-1 α , são sintetizados em ilhotas expostas ao estresse metabólico aos altos níveis de glicose no sangue, indicando que o sistema imune local pode estar relacionado no mecanismo de apoptose das células β que acompanha os distúrbios metabólicos iniciais e resultando no DMT2 (DONATH et al., 2008; EHSES et al., 2007; LEAL & VOLTARELLI, 2010).

Ambos os tipos de diabetes estão interligados com complicações secundárias que resultam na diminuição da qualidade de vida de seus portadores. Em conjunto com modificações macro e microvasculares, o diabetes tem sido correlatado com doenças cardiovasculares, retinopatia, nefropatia, neuropatia, amputação de membros inferiores, redução da capacidade de cicatrização e aumento da vulnerabilidade a doenças infecciosas (BOWLING, RASHID & BOULTON, 2015; SILVA, 2018; KATSAROU et al., 2017; VINCENT et al., 2011; WU et al., 2016).

1.3. Diabetes e Leishmaniose

A associação de duas ou mais doenças simultâneas, pode agravar o quadro do indivíduo, decorrente da disputa por tempo, atenção e tratamento (PENTAKOTA et al., 2012). De acordo com Pentakota e colaboradores (2012), demonstrou-se que, cerca 88,6% de pacientes diabéticos possuem uma doença adicional. Comumente, doenças infecciosas são mais recorrentes em pacientes diabéticos, visto que, o ambiente hiperglicêmico beneficia a disfunção imunológica, tal como quimiotaxia, fagocitose e atividade bactericida de neutrófilos e macrófagos (CASQUEIRO, CASQUEIRO & ALVES, 2012; BENFIELD, JENSEN & NORDESTGAARD, 2007).

A inflamação acentuada e crônica é uma característica semelhante nas duas patologias, porém, de causas distintas, sendo de forma localizada na LTA e sistêmica no Diabetes (CASQUEIRO, CASQUEIRO & ALVEZ, 2012; BENFIELD, JENSEN & NORDESTGAARD, 2007).

1.4. Proteína C Reativa

A proteína C reativa (PCR) foi reconhecida em 1930 pelos pesquisadores Tillet e Francis e recebeu este nome por ser capaz de ligar-se ao polissacarídeo C do *Streptococcus pneumoniae* (TILLET & FRANCIS, 1930). Adiante, observou-se que essa reação não acontecia somente na pneumonia pneumocócica, mas em diversas outras infecções, levando à caracterização de outras "proteínas de fase aguda" (MACLEOD & AVERY, 1941). As proteínas de fase aguda têm seus níveis aumentados rapidamente no período de 24 – 48 horas em resposta há diversas condições infecciosas ou inflamatórias (BLACK, KUSHNER & SAMOLS, 2004).

A PCR é sintetizada principalmente pelos hepatócitos, estimulados pelas citocinas inflamatórias como IL-6, IL-1 β e TNF- α , mas também por células musculares lisas, macrófagos, células endoteliais, linfócitos e adipócitos (BORAS et al., 2014; JUPE, 1996; SAHEB et al., 2020).

A concentração da PCR na corrente sanguínea é capaz de elevar-se em até 1000 vezes na presença de uma resposta inflamatória, traumas ou infecções, decrescendo ligeiramente, de acordo com a retomada das condições fisiológicas do organismo (LUZ, 2008; THOMPSON, PEPYS & WOOD, 1999).

Seu papel coadjuvante na resolução de infecções por diversos microrganismos e na regulação de processos inflamatórios tem sido cada vez mais reconhecido e abrangente, deste modo, ela vem sendo empregada cotidianamente na avaliação dos pacientes com doenças inflamatórias de qualquer natureza, no entanto, esta proteína pode sofrer modificações durante processos inflamatórios crônicos (WALLACH, 2000; PEARSON et al., 2003; AGUIAR et al., 2013).

Dentre as principais atividades executadas pela PCR, a defesa contra patógenos e a eliminação de células necróticas e apoptóticas se sobressaem, demonstrando sua participação significativa na resposta imune do hospedeiro, através do recrutamento de inúmeros componentes do sistema imunológico, ativação do sistema complemento e estimulação de sinais inflamatórios (VOLANAKIS, 2001; DU CLOS, 2000; LUZ, 2008).

1.5. Hormônio melatonina

O hormônio melatonina (MLT), conhecido farmacologicamente como *N-acetil-5-metoxitriptamina* é um derivado do aminoácido essencial triptofano, sendo o principal hormônio produzido pela glândula pineal dos vertebrados. Ele foi separado, inicialmente a

partir da glândula pineal de bovinos e estruturalmente identificado em 1958 (AXELROD, 1974; LENER et al., 1958).

A síntese deste hormônio também pode ocorrer em diversas células e tecidos extra pineais como retina, trato gastrointestinal, fígado, rim e baço, placenta humana e células do sistema imunológico (LANOIX et al., 2008; BUBENIK & KONTUREK 2011; CARRILLO-VICO et al., 2004). A produção de MLT varia ao longo do dia de 5 a 200 pg.mL⁻¹, na qual, o pico de produção é maior durante a noite, sendo secretada de acordo com as variações circadianas, desempenhando importante papel na manutenção temporal do ritmo biológico (BOTELHO-FRANÇA et al., 2011; CARDINALI & HARDELAND, 2017; HICKIE & ROGERS, 2011; TERZIEVA et al., 2009).

Por ser uma molécula lipossolúvel, a MLT consegue alcançar alvos intracelulares diretamente, porém, também pode agir através de seus receptores de membrana MT1 (alta afinidade) e MT2 (baixa afinidade), que são encontrados em diversos órgãos e células do sistema imunológico dos mamíferos (LARANJEIRA-SILVA et al., 2015; LUCHETTI et al., 2010).

A MLT exerce importantes ações imunomoduladoras e neuroprotetoras na resposta imunológica. Ela também aprimora a apresentação de antígenos, proliferação de linfócitos, atividade fagocítica e a síntese de células NK, monócitos e diversas citocinas, demonstrando que este indol poderia ser um agente terapêutico alternativo para combater infecções bacterianas, virais e parasitárias por uma variedade de mecanismos (BOTELHO-FRANÇA et al., 2011; FRANÇA et al., 2009; BOTTASSO & MORALES-MONTOR 2009; MARTINEZ-BAKKER & HELM, 2015).

Além disso, este hormônio apresenta ação benéfica no controle de complicações do diabetes e na eliminação de espécies reativas de oxigênio, pois esta, auxilia na melhora dos distúrbios de metabolismo associados ao diabetes e estimula os sistemas celulares antioxidantes. Pacientes diabéticos que exibem níveis reduzidos de melatonina, apresentam comprometimento da secreção de insulina, maior susceptibilidade a doenças secundárias e déficit da resposta imunológica (FRANÇA et al., 2009; PESCHKE, 2008; ROBEVA et al., 2008).

Bem como, é um agente muito importante contra a leishmaniose, pois esta protege a célula-alvo, os macrófagos, de futuras invasões e, em uma exposição prolongada, diminui a viabilidade do parasita (LARANJEIRA-SILVA et al., 2015). O tratamento com MLT exógena reduziu o número de promastigotas de *L. infantum* por meio de alterações dos parâmetros mitocondriais essenciais para a sobrevivência do parasito, a abertura de poros de transição de

permeabilidade mitocondrial (TPMP) após o tratamento, culminou no colapso da cadeia respiratória mitocondrial e a eliminação do parasito (ELMAHALLAWY et al., 2014). Estudo realizado por Laranjeira-Silva e colaboradores (2015) demonstrou que o ritmo circadiano da MLT mediou a atenuação da infectividade por *Leishmania* em roedores, pois quando os parasitos foram inoculados durante a fase escura, houve redução da carga e a replicação destes, retardando o desenvolvimento da lesão.

O conhecimento sobre o efeito da infecção por *Leishmania* no relógio biológico do hospedeiro ainda é bem escasso, Laranjeira-Silva e colaboradores (2015) relataram que a infecção por *L. amazonensis* não modificou os níveis de MLT em hamsters. A MLT reduziu a infecção de macrófagos por *L. amazonensis* de maneira dependente da dose e do tempo em modelo animal (FERNANDES et al., 2019).

O hormônio MLT demonstra ações fisiológicas complexas, envolvendo seu papel na relação parasito-hospedeiro, atuando como um protetor do hospedeiro, ou, como um instrumento utilizado pelo parasita. Portanto, elucidar as lacunas que cercam essa relação é um grande avanço para compreender como esses patógenos atuam, e auxiliar na procura por novas abordagens terapêuticas.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral:

Avaliar a relação do hormônio melatonina com mediadores inflamatórios na infecção por *Leishmania* em pacientes hiperglicêmicos.

2.2. Objetivos específicos:

- Traçar um perfil dos pacientes que apresentam DMT2 e Leishmaniose;
- Dosar os níveis de glicose;
- Avaliar os mediadores inflamatórios como: Citocinas e Proteína C Reativa;
- Medir os níveis do hormônio melatonina;
- Verificar se há correlação entre infecção parasitária, mediadores inflamatórios e concentração hormonal.

3. Materiais e métodos

3.1. Área de estudo

O estudo foi conduzido no município de Barra do Garças, localizado na Região Centro-Oeste, no estado de Mato Grosso, a 516 km de Cuiabá, com latitude 15°53'24" sul. Sendo o município, uma área que apresenta condições favoráveis a instalação e manutenção do ciclo da *Leishmania* em seres humanos e animais domésticos (DE MORAES, 2015).

3.2. Critérios de inclusão e exclusão

Foram incluídos neste trabalho, indivíduos do sexo masculino e feminino, com idade entre 18 a 65 anos, com diagnóstico confirmatório de DMT2 e/ou LTA e excluídos, pacientes que utilizaram medicamentos antiprotozoários (Glucantime®) nos últimos 30 dias e/ou indivíduos portadores de doenças infecciosas graves como HIV/AIDS, Sífilis e Hepatite.

3.3. Aspectos éticos

As considerações éticas foram baseadas no uso do material biológico para fins científicos, com sigilo da identidade do paciente, livre de coação ou conflito de interesses da instituição ou de pessoas envolvidas no projeto. As coletas respeitaram os protocolos técnicos dos serviços envolvidos. Os pacientes foram previamente informados, responderam um questionário (APÊNDICE I) e o material somente foi coletado ou utilizado sob expresso consentimento em formulário específico (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE) (APÊNDICE II), conforme resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

3.4. Sujeitos e tamanho amostral

Foram coletadas amostras de sangue periférico por punção venosa no antebraço de 20 voluntários, utilizando tubos contendo EDTA com volume de 4 mL, no período entre 07:00 as 17:00 horas. Estes indivíduos foram subdivididos em quatro grupos constituídos por 5 voluntários, onde o grupo controle apresentava os voluntários saudáveis, o grupo teste 1 os voluntários que tinham somente LTA, o grupo teste 2 somente DMT2 e o grupo teste 3 com indivíduos que manifestavam ambas as doenças (LTA + DMT2).

3.5. Processamento das amostras

O plasma foi obtido após centrifugação do sangue total, no tempo de 10 minutos, a 1850 rpm e depois armazenado em microtubos de 2 mL em freezer a -80°C, para posteriormente serem realizadas as dosagens bioquímicas e hormonais.

3.5.1. Dosagem glicose

A glicemia foi dosada no plasma humano através do Kit Glicose PP- Gold Analisa Diagnostica®, pelo princípio enzimático-colorimétrico, seguindo as orientações do fabricante. A absorbância foi lida em espectrofotômetro com comprimento de onda de 505 nm e os resultados demonstrados em mg.dL⁻¹.

3.5.2. Quantificação de citocinas

As concentrações de citocinas (IL-4 e TNF- α) presentes nas amostras de plasma foram avaliadas pelo Kit “Cytometric Bead Array” (CBA, BD Bioscience, USA). As análises destas citocinas foram realizadas através de citometria de fluxo (FACSCalibur, BD Bioscience, USA). Os dados foram analisados pelo software FCAP Array (BD Bioscience, USA).

3.5.3. Determinação da Proteína C Reativa (PCR)

A Proteína C reativa foi determinada no plasma humano por meio do Kit PCR LÁTEX - Biotécnica®, pelo método de aglutinação em placa, para a detecção qualitativa e semi-quantitativa da proteína, seguindo todas as orientações do fabricante. Os resultados foram mostrados em mg.L⁻¹. E também, por meio do Kit PCR TURBILÁTEX-- Biotécnica®, através do ensaio de turbidimetria, seguindo todas as orientações do fabricante. A absorbância foi lida em espectrofotômetro com comprimento de onda de 540 nm e os resultados demonstrados em mg.L⁻¹.

3.5.4. Dosagem hormônio melatonina

A melatonina foi quantificada no plasma humano, por meio do kit ELISA (Immune-Biological Laboratories, Hamburgo, Alemanha) (BELYAEV et al., 2011), através da extração por cromatografia de afinidade e concentrada por velocidade-vácuo. As taxas de reação foram medidas por espectrofotômetro de leitura de placa de absorbância com filtro de 405 nm. Os resultados foram calculados de acordo com a curva padrão e apresentados em pg.mL⁻¹.

3.6. Análise estatística

Os resultados foram apresentados por meio de suas médias e desvio padrão. Foi utilizada análise de variância (ANOVA), e pós teste Tukey. Para análise das correlações, aplicou-se o

teste de correlação de Pearson. Foi utilizado o programa Biostat 5.3[®] para execução dos testes utilizados no estudo. Foram considerados significativos os resultados cujos valores de p foram menores do que 0.05 ($p < 0,05$).

4. Resultados

4.1. Caracterização da população estudada

Dentre os 20 voluntários estudados, 13 eram do sexo feminino e 7 do sexo masculino, com faixa etária que variava entre 20 à 65 anos (Tabela 1). Dos 10 voluntários com diagnóstico positivo para Leishmaniose Tegumentar, 6 eram mulheres e 4 eram homens, destes, 5 residiam em zona rural e 5 na região urbana, no qual, 5 desses indivíduos apresentaram lesões nos membros superiores, 3 nos membros inferiores, 1 no abdômen e 1 apresentou diversas lesões simultâneas pelo corpo (boca, nariz, orelha e membros) (Tabela 1).

Tabela 1- Caracterização da população estudada.

Característica	Pacientes com LTA	
	n (%)	n (%)
Total	20 (100)	10 (100)
Sexo		
Masculino	7 (35)	4 (40)
Feminino	13 (65)	6 (60)
Faixa Etária		
20 a 35 anos	5 (25)	1 (10)
36 a 45 anos	5 (25)	4 (40)
46 a 55 anos	5 (25)	2 (20)
56 a 65 anos	5 (25)	3 (30)
Zona de moradia		
Rural	5 (25)	5 (50)
Urbana	15 (75)	5 (50)
Local de lesão		
Membro superior		5 (50)
Membro inferior		3 (30)
Abdômen		1 (10)
Diversos		1 (10)

4.2. Dosagem da glicemia no plasma

Na figura 1 estão apresentados os resultados da concentração da glicemia no plasma dos pacientes, sendo os maiores valores observados no grupo DMT2 ($245,40 \pm 63,54 \text{ mg.dL}^{-1}$), LTA+DMT2 ($180,93 \pm 48,10 \text{ mg.dL}^{-1}$) e no LTA ($123,98 \pm 33,70 \text{ mg.dL}^{-1}$), quando comparados ao grupo controle ($100,98 \pm 18,71 \text{ mg.dL}^{-1}$). Houve um aumento significativo na glicose plasmática no grupo DMT2 em comparação com o grupo LTA ($p < 0,01$).

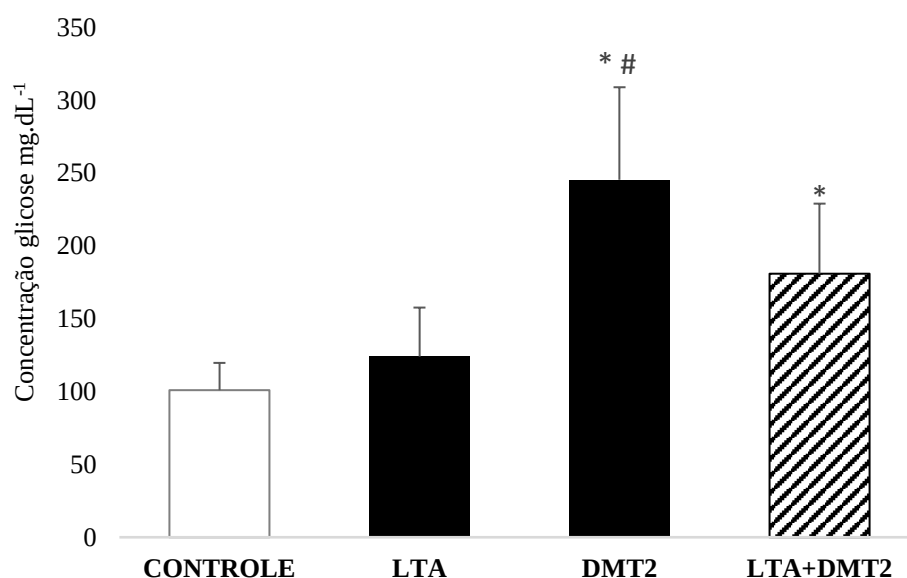


Figura 1- Concentração glicêmica (mg.dL⁻¹) no plasma humano. Os resultados foram avaliados por ANOVA e teste de Tukey, os dados foram expressos em média±DP (n= 5 por grupo), onde: * diferença estatística (p<0,01) em relação ao grupo controle; # diferença estatística (p<0,01) em relação ao grupo LTA.

4.3. Dosagem da Proteína C Reativa (PCR)

Na figura 2 estão representadas as concentrações da PCR nos grupos testados: controle (5,94±3,76 mg.L⁻¹), LTA (16,45±7,35 mg.L⁻¹), DMT2 (28,55±14,19 mg.L⁻¹), LTA+DMT2 (17,79±7,41 mg.L⁻¹). Houve um aumento significativo desta proteína no grupo DMT2 em relação ao controle.

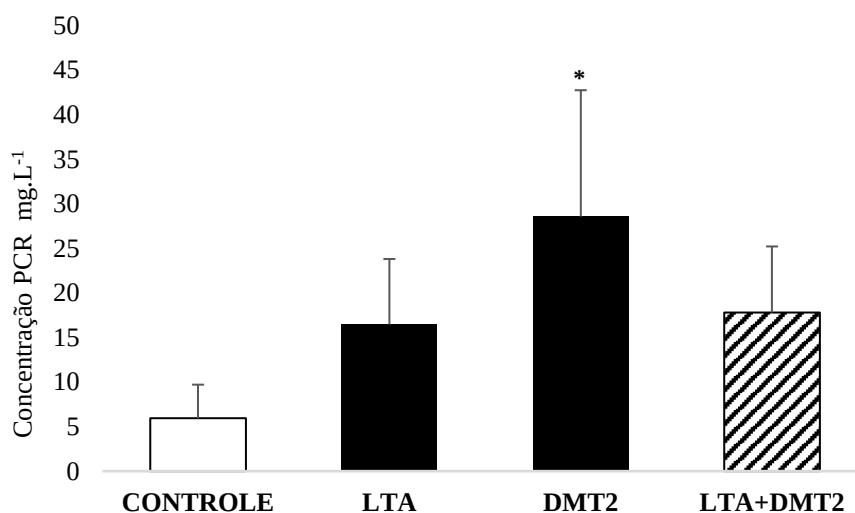


Figura 2- Concentração da Proteína C reativa (mg.L⁻¹) no plasma humano. Os resultados foram avaliados por ANOVA e teste de Tukey, os dados foram expressos em média±DP (n= 5 por grupo), onde: * diferença estatística (p<0,01) em relação ao grupo controle.

4.4. Concentração das citocinas IL-4 e TNF- α

A concentração da citocina IL-4 nos grupos controle ($10,51 \pm 2,99$ pg.mL⁻¹), LTA ($8,33 \pm 0,65$ pg.mL⁻¹), DMT2 ($9,62 \pm 0,62$ pg.mL⁻¹) e LTA+DMT2 ($9,40 \pm 1,26$ pg.mL⁻¹) está representada na figura 3, não havendo diferença estatística entre os valores observados.

Já a concentração da citocina pró-inflamatória TNF- α foi maior nos grupos, LTA ($20,17 \pm 1,63$ pg.mL⁻¹), DMT2 ($23,60 \pm 7,29$ pg.mL⁻¹) e LTA+DMT2 ($23,53 \pm 3,22$ pg.mL⁻¹), quando comparado ao grupo controle ($10,20 \pm 2,67$ pg.mL⁻¹) (Figura 4), sendo observadas diferenças significativas em todos os grupos em relação com o controle.

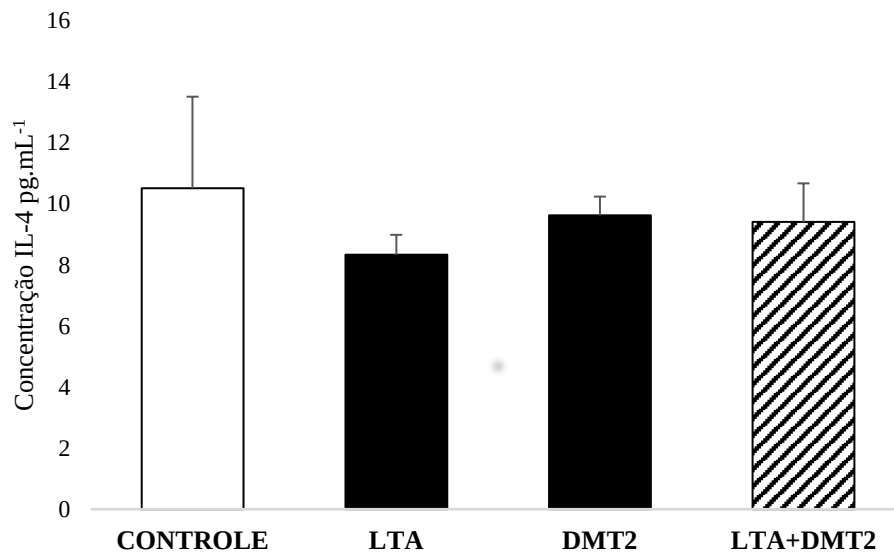


Figura 3- Concentração da citocina IL-4 (pg.mL⁻¹) no plasma humano. Os resultados foram avaliados por ANOVA e teste de Tukey, os dados foram expressos em média $\pm$ DP (n= 5 por grupo).

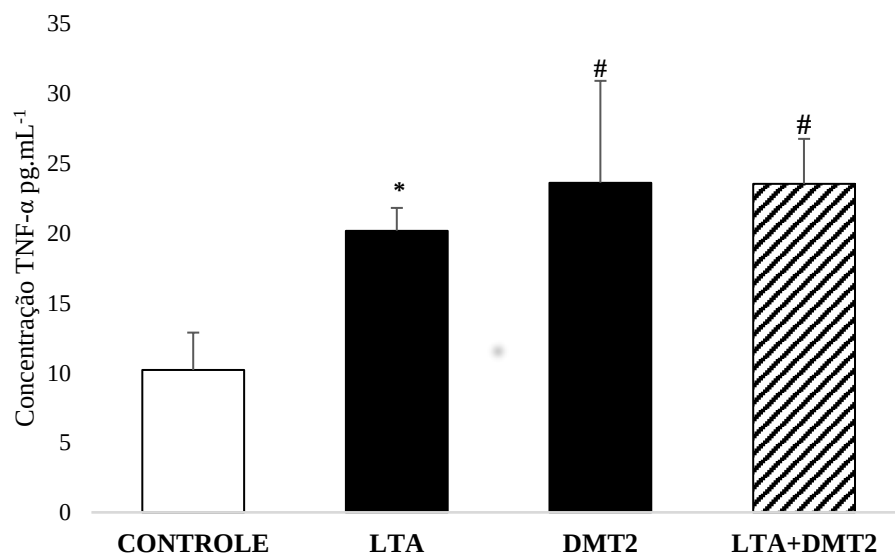


Figura 4- Concentração da citocina TNF- α em (pg.mL^{-1}) no plasma humano. Os resultados foram avaliados por ANOVA e teste de Tukey, os dados foram expressos em média $\pm$ DP ($n= 5$ por grupo), onde: * diferença estatística ($p<0,05$) em relação ao grupo controle; # diferença estatística ($p<0,01$) em relação ao grupo controle.

4.5. Dosagem do hormônio melatonina no plasma

A concentração do hormônio MLT foi maior no grupo LTA+DMT2 ($69,65\pm 7,03 \text{ pg.mL}^{-1}$) e menores nos grupos LTA ($43,12\pm 4,44 \text{ pg.mL}^{-1}$) e DMT2 ($52,08\pm 6,68 \text{ pg.mL}^{-1}$), quando comparado ao grupo controle ($60,79\pm 12,09 \text{ pg.mL}^{-1}$), como exemplificado na figura 5. Houve uma diminuição dos valores da MLT no grupo LTA em relação ao controle. Ocorreu um aumento na concentração da MLT no grupo LTA+DMT2 quando comparado com o grupo só de leishmaniose e só diabéticos. Portanto, o grupo LTA+DMT2 apresentou níveis de MLT equivalentes ao controle e com valores significativamente maiores em comparação com os valores observados nos grupos LTA e DMT2.

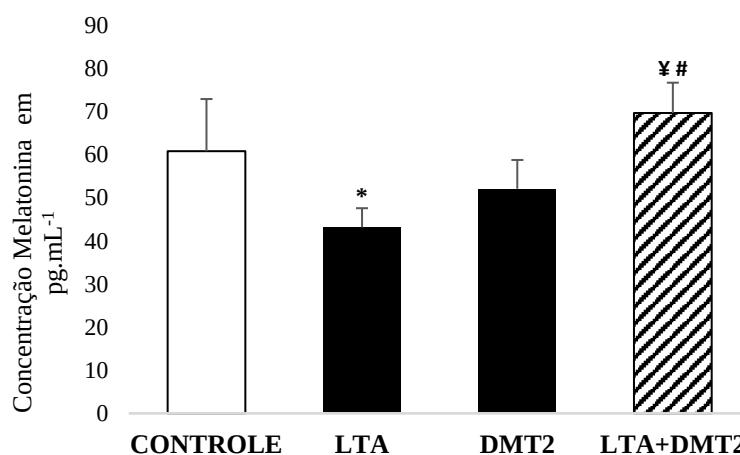


Figura 5- Concentração de melatonina (pg.mL^{-1}) no plasma humano. Os resultados foram avaliados por ANOVA e teste de Tukey, os dados foram expressos em média $\pm$ DP ($n= 5$ por grupo), onde: * diferença estatística ($p<0,05$) em relação ao grupo controle; # diferença estatística ($p<0,01$) em relação ao grupo LTA; § diferença estatística ($p<0,05$) em relação ao grupo DMT2.

4.6. Correlação do hormônio melatonina e mediadores inflamatórios

Foi realizado o teste de correlação de Pearson, entre as concentrações do hormônio melatonina com os mediadores inflamatórios (IL-4, TNF- α e PCR), no qual, observou-se uma correlação negativa entre o grupo controle da melatonina com o grupo controle da Proteína C reativa ($r= -0,914$ e $p=0,029$), ou seja, à medida que uma variável aumenta a outra diminui (Tabela 2a). Em relação a glicemia, houve uma correlação negativa entre o grupo

Melatonina/DMT2 e Glicemia/DMT2 ($r = -0,962$ e $p = 0,008$) e uma tendência de correlação positiva entre o grupo Melatonina/LTA com Glicose/LTA ($r = 0,876$ e $p = 0,051$) (Tabela 2b).

Tabela 2a - Correlação entre os níveis do hormônio melatonina com os mediadores inflamatórios (PCR, IL-4 e TNF- α). *Correlação intragrupo.

Melatonina	PCR	IL-4	TNF-α
	r (valor p)	r (valor p)	r (valor p)
Controle	-0,914 (0,029)*	0,126 (0,873)	0,443 (0,556)
LTA	0,278 (0,650)	0,549 (0,450)	0,681 (0,318)
DMT2	0,538 (0,349)	-0,631 (0,368)	-0,180 (0,819)
LTA+DMT2	0,155 (0,802)	0,343 (0,657)	-0,08 (0,92)

Tabela 2b - Correlação entre os níveis do hormônio melatonina com os índices glicêmicos. *Correlação intragrupo; **Tendência a correlação intragrupo.

Melatonina	GLICEMIA
	r (valor p)
Controle	0,083 (0,894)
LTA	0,876 (0,051)**
DMT2	-0,962 (0,008)*
LTA+DMT2	-0,814 (0,093)

5. Discussão

Nesse trabalho, observou-se que a maior prevalência de LTA foi em mulheres, além disso, não houve diferença no número de casos comparando a região urbana e rural, fatos incomuns, visto que, os homens normalmente são os mais acometidos, devido as suas atividades ocupacionais, que normalmente estão relacionadas as atividades do campo, que apresentam condições favoráveis a transmissão da doença (ALENCAR & FIGUEIREDO, 2019; RAMALHO et al.; 2018; ROCHA, 2007). Por outro lado, as mulheres (82,3%) são as que mais procuram atendimento médico, quando comparado aos homens (69,4%) (PNS,2019). Em relação a idade, a LTA ocorreu em maior frequência nos adultos (35 a 65 anos) e as lesões mais comuns apresentaram-se principalmente nos membros superiores e inferiores, sendo áreas mais expostas do corpo, corroborando com estudos anteriores de Fernandes (2009), Ramalho e colaboradores (2018) e Rocha (2007).

O diabetes é uma doença metabólica, que tem se destacado por sua gravidade e elevada incidência na população mundial (IDF, 2021). Os índices glicêmicos estavam descompensados nos grupos que continham pacientes diabéticos, fato preocupante, uma vez que, ambos os tipos de diabetes estão interligados com complicações secundárias que reduzem a qualidade de vida de seus portadores e mortalidade precoce (KATSAROU et al., 2017; VINCENT et al., 2011; WU et al., 2016).

Como relatado por Pentakota e colaboradores (2012), cerca de 88,6% dos pacientes diabéticos possuem uma doença adicional, em geral, doenças infecciosas são mais frequentes em pacientes diabéticos, pois o ambiente hiperglicêmico aliado a inflamação exacerbada e sistêmica favorecem a disfunção imunológica, além da maior susceptibilidade a infecções cutâneas, decorrente da dificuldade de cicatrização (CASQUEIRO, CASQUEIRO & ALVES, 2012; BENFIELD, JENSEN & NORDESTGAARD, 2007). Um estudo com pacientes hospitalizados revelou que, o aumento de cada 1 mmol/L de glicose sérica, eleva de 6-10% as chances de o indivíduo desenvolver quadros de pneumonia, infecção do trato urinário e infecções dermatológicas (BENFIELD, JENSEN & NORDESTGAARD, 2007).

De acordo com Silva (2018) macrófagos de indivíduos diabéticos são mais susceptíveis infecção por *L. braziliensis* comparado com indivíduos não diabéticos e que o mediador lipídico LTB4 está presente em altos níveis em pacientes hiperglicêmicos, levando a uma resposta ineficaz contra a *Leishmania*, resultando em uma resposta inflamatória crônica e subsequente, dificuldade de cicatrização. Além disso, outro estudo revelou que a *Leishmania* sp. parece modular negativamente a ação do LTB4 com a finalidade de escapar do sistema

imunológico (CHAVES et al., 2014; CHAVES; CANETTI & COUTINHO-SILVA, 2016; MORATO et al., 2014). Reforçando os achados de Filgueiras e colaboradores (2015) que mostraram em modelo experimental de diabetes, maior associação a infecções secundárias e agravamento de sepse.

Para determinar o estado inflamatório dos pacientes em estudo, foram mensurados os níveis da PCR, IL-4 e TNF- α , no qual, a PCR e o TNF- α estavam elevados e a IL-4 relativamente mais baixos nos grupos LTA, DMT2, LTA+DMT2 em relação ao grupo controle.

Os mediadores imunoinflamatórios como TNF- α , resistina, IL-1 e IL-6 promovem a resistência insulínica, decorrente do estresse oxidativo ocasionado pela ingestão excessiva de glicose, diminuindo a sensibilidade à insulina, encontrando-se em níveis elevados na circulação, e também, atuam sobre a regulação da síntese de PCR, importante marcador inflamatório relacionado a lesão tecidual, que inclusive atua na resistência à insulina (CROOK, 2004; LACERDA, MALHEIROS & ABREU, 2016; PETTO et al., 2015; PICKUP, 2004; YUDKIN et al., 1999; ZIMMET & ALBERTI, 1997). Esses achados corroboram com os dados de nossa pesquisa, onde visualizamos níveis elevados do TNF- α e da PCR nos pacientes diabéticos com diferenças significativas em relação ao grupo saudável, configurando um estado inflamatório crônico, resultando em déficits da reparação do tecido e maior susceptibilidade a doenças infecciosas.

Fernandes e colaboradores (2016) evidenciaram uma suprarregulação da expressão gênica de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , TNF- α e IL-6) em macrófagos humanos após infecção por *L. amazonensis* e *L. major*. Por outro lado, foi demonstrado que a MLT foi capaz de inibir a produção destas citocinas mediada pela sinalização de LPS-TLR4 (FERNANDES et al., 2019; XIA et al., 2012).

Sabe-se, que o fator de necrose tumoral é um importante mediador pró-inflamatório (WAJANT et al., 2003) envolvido na imunoproteção e imunopatologia da leishmaniose tegumentar, que sinaliza através dos receptores TNF-R1 e TNF-R2, no qual, o TNF-R1 é expresso em muitas células e tecidos, enquanto o TNF-R2 é encontrado principalmente nas células do sistema imunológico (HEHLGANS & MÄNNEL, 2002). O TNF- α é produzido principalmente por macrófagos que desempenham um papel crucial na eliminação do parasito pela síntese de NO (LIEW et al., 1997). Foi demonstrado que a presença de TNF-R1 em pinealócitos indica fortemente que o TNF- α afeta diretamente a produção de MLT em modelo animal induzido pela noradrenalina (CARVALHO-SOUSA et al., 2011).

Nossos resultados apontaram um aumento significativo do TNF- α e redução dos níveis de MLT em pacientes com LTA corroborando com os achados apontados acima e reforçando os dados clínicos que evidenciaram a supressão do pico noturno de MLT em pacientes com altos níveis de TNF- α circulante, em situações diferentes, como na presença de sepse (MUNDIGLER et al., 2002), acidente vascular cerebral (DOMÍNGUEZ-RODRÍGUEZ et al., 2002), assim como, na análise dos níveis de TNF- α e MLT de mães que realizaram cesariana, procedimento que induz uma resposta inflamatória aguda, na qual a produção diária de MLT foi restaurada apenas em mães sem TNF- α circulante (PONTES et al., 2007). No entanto, é importante destacar que em nosso estudo, a MLT diurna foi avaliada, toda via, esse padrão parece se estender para a produção diária da MLT.

Diferentes estudos demonstraram que a suprarregulação das citocinas pró-inflamatórias em especial o TNF- α está associada ao aumento do dano tecidual no local da infecção, promovendo a formação de úlceras graves e aumento de danos a mucosa (ANTONELLI et al., 2004; BACELAR et al., 2002). Esses fatos foram evidenciados em nossos pacientes, uma vez que estes apresentavam lesões características, com ulcerações bem definidas, e até mesmo, casos de recidivas em mesmo local e um paciente apresentou lesões que se estenderam para região de mucosa.

Diversos estudos tem apontado o poder leishmanicida da PCR na LV, podendo ser considerada como um marcador não invasivo de monitoramento (ANSARI et al., 2007; GASIM et al., 2000; SINGH et al., 1999). Por outro lado, Bodman-Smith e colaboradores (2002) demonstraram que a captação de promastigotas de *L. donovani* por macrófagos humanos através da opsonização inicial da PCR é específica, mas não altera a sobrevivência do parasita ou as respostas de citocinas da célula hospedeira, sugerindo que esse mecanismo exibido pela PCR tem pouco efeito sobre a capacidade dos macrófagos de montar uma resposta leishmanicida, não podendo ser usada como um marcador na leishmaniose tegumentar.

Como vimos, existem muitas divergências relacionadas a atuação da PCR na leishmaniose, pois, ao mesmo tempo que afirmam que ela é capaz de induzir a produção de diversas citocinas inflamatórias como TNF- α em locais de inflamação (CALABRÓ & WILLERSON, 2003; ESPIR, 2013; HAN et al., 2004), outros estudos, apontam contradições, mostrando o efeito inibitório da PCR na produção de TNF- α , sugerindo que esta poderia criar um mecanismo de feedback negativo, pelo qual níveis elevados de PCR reduziriam a produção de TNF- α (INATSU et al., 2009). Em contrapartida, observamos níveis aumentados

da PCR nos pacientes com LTA, porém, não foi significativo com os indivíduos do grupo controle, somados aos níveis elevados de TNF- α nesses pacientes, sugerimos pouca influência desta proteína com a produção desta citocina em nosso trabalho. Esse padrão, também foi observado no grupo de pacientes diabéticos com leishmaniose.

A IL-4 é uma citocina multifuncional desempenhando diversas funções na regulação das respostas imunológicas, exercendo um papel crítico na modulação de células T helper, no entanto, o desequilíbrio desses subconjuntos de linfócitos T tem sido associado a doenças imunológicas, incluindo alergia, inflamação e doenças autoimunes (GANDHI, PIROZZI & GRAHAM 2007; HOU et al., 1994; NELMS et al., 1999).

A IL-4 regula negativamente a produção de quimiocinas que recrutam células do tipo Th1 para o local da infecção (LAZARSKI et al., 2013). Citocinas Th2, como IL-4 e IL-13 estimulam macrófagos a induzirem a atividade de arginase, resultando na sobrevivência do parasito e inibindo o processo inflamatório (GORDON, 2010). O equilíbrio entre o macrófago ativado classicamente e o macrófago ativado alternativamente regula as respostas inflamatórias e leva à homeostase no sistema imunológico e na cicatrização de feridas (GORDON, 2010; HESSE et al., 2001; MUNDER et al., 1999).

Estudos utilizando camundongos transgênicos e knockout para IL-4 verificaram o importante papel da IL-4 na suscetibilidade à infecção por *Leishmania*, no qual, camundongos BALB / c deficientes em IL-4 eram resistentes à infecção por *L. major* e que os camundongos C57BL / 6 transgênicos IL-4 eram mais suscetíveis à infecção por *L. major* em comparação com os camundongos do tipo selvagem (KOPF et al., 1996; RADWANSKA et al., 2007). A neutralização da IL-4 levou à cura completa em 85% dos camundongos infectados e à atenuação da infecção em 100% dos animais (SADICK et al., 1999). No entanto, existem estudos contrários, como de Noben-Trauth e Kropf (1996), que mostraram que a interrupção do gene IL-4 em camundongos BALB / c infectados com *L. major* não promoveu a polarização da resposta Th1 e não foi observado efeito na cicatrização de feridas e na eliminação do parasito.

Ao analisarmos os níveis da IL-4 em pacientes com LTA, não observamos diferenças significativas em relação ao grupo controle, mas associado a níveis mais altos da citocina pró-inflamatória TNF- α e da PCR nesses indivíduos, acreditamos que possa haver a polarização da resposta Th1 e a maior resistência a infecção por *Leishmania* nesses pacientes, sugerindo que esse padrão de resposta possa ser semelhante em humanos.

A IL-4 melhora a sensibilidade à insulina, promovendo depósitos de energia hepática por meio da regulação positiva da captação de glicose e da síntese de lipídios, levando a

tolerância à glicose e a sensibilidade à insulina (HARTMAN et al., 2004; RAPOPORT et al., 1993; YANG et al., 2018). Esta citocina, promove a miogênese e melhora a eficácia metabólica da glicose em células musculares (CHANG et al., 2019), ela também possui capacidade antilipogênica, suprimindo a diferenciação de adipócitos e promovendo a lipólise, assim como, é capaz de modular ativamente o comportamento alimentar e o metabolismo energético em camundongos, pela regulação de leptina e adiponectina (CHANG et al., 2012; HO et al., 2010; TSAO et al., 2014; YANG et al., 2018). No entanto, sob o estado de resistência à insulina, a atividade da lipogênese hepática através da IL-4 torna o fígado mais propenso a desenvolver esteatose, devido ao excesso de ácidos graxos e a síntese endógena de lipídios. Portanto, a produção desequilibrada de citocinas como IL-4 e TNF- α , pode ocasionar desordem metabólica em pacientes diabéticos (CABLE et al., 2009; CHANG et al., 2012; TSAO et al., 2014; YANG et al., 2018).

Por outro lado, nosso estudo demonstrou que os níveis de IL-4 em pacientes diabéticos não apresentou diferença em relação aos indivíduos saudáveis, no entanto, se levarmos em consideração os altos índices de glicose, de TNF- α e PCR nesses pacientes, indica-se uma possível desregulação do metabolismo da glicose/lipídeo, resultando na intolerância a glicose, redução da lipólise, inflamação crônica e resistência à insulina, evidenciando a importância do papel imunorregulador desta citocina na patogênese do DMT2.

Os níveis de MLT coletada no período diurno, curiosamente, apresentam grandes variações na literatura em indivíduos saudáveis, 3,30-93,2 pg.mL⁻¹ (TERZIEVA et al., 2009), 7,5-58,1 pg.mL⁻¹ (MALHBER, 2006) e 25-50 pg.mL⁻¹ (BRUN et al., 1998). Essas divergências, provavelmente, estão ligadas as características de cada população estudada, pois a MLT é um importante marcador do ritmo circadiano e seus níveis podem sofrer alterações, decorrente das variações sazonais (GORMAN, 2020).

A concentração de MLT em pacientes diabéticos com LTA foi significativamente maior, quando analisamos com os grupos LTA e DMT2 isolados, toda via, esse aumento não foi significativo com o controle. Verificou-se, uma correlação negativa entre o controle de MLT e controle da PCR, no qual, a literatura científica evidencia que menores durações de sono estão relacionada com um aumento de TNF- α , PCR e IL-6 (IRWIN & OPP, 2017).

Uma correlação inversa entre MLT e glicemia foi notada nos pacientes diabéticos, corroborando com os achados de Peschke e colaboradores (2006), que evidenciaram uma suposta interação entre a insulina e a MLT em pacientes com DMT2 e em ratos Goto-Kakizaki, no qual, observaram que níveis elevados de glicose e insulina estão associados a

níveis mais baixos de MLT e que os efeitos da MLT na secreção da insulina são mediados pelos receptores MT1 e MT2 presentes nas ilhotas de Langerhans murinas e humanas, preferencialmente nas células β pancreáticas (ESPINO et al., 2011; KEMP, UBEDA & HABENE, 2002; MÜHLBAUER et al., 2004; MÜHLBAUER & PESCHKE, 2007; PESCHKE et al., 2000). Além disso, no estudo de Frese e colaboradores (2009), verificou-se alterações nas quantidades de RNAm das enzimas que atuam na síntese de MLT, como HIOMT em condições diabéticas *in vitro* e que as concentrações de todos os precursores da MLT, incluindo triptofano e serotonina, estavam diminuídas nas glândulas pineais de ratos GK diabéticos.

Ademais, sabe-se, que espécies reativas de oxigênio e óxido nítrico contribuem para a destruição das ilhotas pancreáticas na patogênese do DM (TIEDGE et al., 1999) e a MLT auxilia na melhora dos distúrbios relacionados ao diabetes, reduzindo o estresse oxidativo e estimulando os sistemas celulares antioxidantes (FRANÇA et al., 2009; GURER-ORHAN et al., 2006; PASKALOGLU, SENER & AYANGOLU-DULGER, 2004), destacando que pacientes diabéticos com níveis reduzidos de MLT, como demonstrado em nossa pesquisa, apresentam grande déficit na resposta imunológica (FRANÇA et al., 2009; PESCHKE, 2008; ROBEVA et al., 2008).

A MLT exerce diversas funções no organismo, além da sincronização do ritmo circadiano, tendo efeitos imunomoduladores (REITER et al., 2000; CALVO & GONZALEZ-YANES, 2013), antioxidantes (REITER et al., 2013; ZHANG & ZHANG, 2014) e citoprotetores (LUCHETTI et al., 2010) em infecções bacterianas, virais e parasitárias. Conhece-se o importante papel imunomodulador da MLT na infecção parasitária, no entanto, existem algumas características dos parasitos a serem consideradas, demonstrando que este hormônio exerce ações fisiológicas complexas, podendo atuar como protetor para o hospedeiro, ou, como um instrumento a ser utilizado pelo parasito.

O hormônio MLT foi capaz de modular a sincronicidade de maturação do *Plasmodium*, agente etiológico da malária *in vitro* (HOTTA et al., 2000). O tratamento com MLT reduziu o dano oxidativo e elevou a sobrevivência de camundongos infectados com *Schistosoma mansoni*, reduzindo as alterações histopatológicas encontrados no fígado, rim e baço, evidenciando o papel protetor deste hormônio na esquistossomose (EL-SOKKARY et al., 2009). Na doença de chagas, observou-se proteção contra o *Trypanosoma cruzi* na infecção durante a fase aguda, reduziu os danos no tecido cardíaco e do parasitismo na fase crônica, sugerindo que o uso de MLT pode representar uma terapia alternativa para o controle da replicação do parasito (SANTELLO et al., 2007). França-Botelho e colaboradores (2011) demonstraram que o

tratamento com MLT aumentou a atividade dos leucócitos mononucleares e polimorfonucleares e reduziu significativamente regiões com necrose hepática causadas pela infecção *in vivo* de hamsters por *Entamoeba histolytica*, evidenciando as ações benéficas na imunidade contra esse parasito.

A MLT é um agente muito importante contra a leishmaniose, no entanto, ainda são escassos os estudos na literatura abordando sobre essa temática, com muitas lacunas sem respostas. Estudo realizado por Elmahallawy e colaboradores (2014) descreveram que o tratamento com MLT exógena reduziu o número de promastigotas de *Leishmania infantum* e que este efeito antileishmania foi associado a maior abertura de poros TPMP, alterando a distribuição intracelular de Ca^{2+} e também, ao aumento nos níveis de nitrito mitocondrial e comprometimento da cadeia respiratória, implicando indiretamente na sobrevivência do parasito.

Laranjeira-Silva e colaboradores (2015) demonstraram que a infecção por *Leishmania amazonensis* não interferiu na produção da MLT pineal em hamsters, no qual, o ritmo diário de produção deste hormônio se manteve inalterado durante a infecção por *Leishmania*, fato contrário ao encontrado em nossa pesquisa, onde observamos menor nível de MLT no grupo constituído apenas por pacientes com LTA, com diferença significativa em relação ao grupo controle, indicando uma redução da produção da MLT nesses pacientes, sugerindo que a infecção por *Leishmania* pode interferir da síntese deste hormônio em humanos.

Esses dados apontam a MLT como um agente muito potente contra a leishmaniose, pois esta, protege a célula-alvo (macrófago) de uma nova invasão e, em uma exposição a longo prazo, reduz a viabilidade do parasito. Em contraste, por encontrarmos menores índices de MLT em pacientes com LTA podemos dizer que, provavelmente, existe uma exacerbação na resposta imunológica destes pacientes, favorecendo a infecção por *Leishmania*. No entanto, pacientes com LTA+DMT2 apresentaram níveis elevados de MLT com diferenças significativas em relação aos grupos isolados LTA e DMT2, nos fazendo questionar se a associação destas duas comorbidades traz algum benefício a resposta imunológica mediada pela MLT.

Pacientes com LTA+DMT2 apresentaram perfil inflamatório semelhante aos grupos analisados isoladamente, no entanto, seus níveis de MLT não diferiram dos indivíduos saudáveis, sugerindo um mecanismo adicional, que auxilie no equilíbrio da produção de a, beneficiando o controle da infecção por *Leishmania* e do DMT2 nesses pacientes.

6. Conclusão

As mulheres apresentaram maior número de diagnóstico para LTA em nosso estudo e não houve diferença de casos entre área urbana e área rural.

Já os pacientes diabéticos, apresentaram índices glicêmicos descompensados, um fator crítico, visto que, o diabetes é um problema de saúde global em expansão, que está associado a alto risco de diversas complicações que reduzem a qualidade de vida de seus portadores, resultando em mortalidade precoce.

Em relação ao estado inflamatório, os níveis da PCR e do TNF- α estavam elevados e a IL-4 relativamente mais baixa nos grupos LTA, DMT2, LTA+DMT2 em relação ao grupo controle, configurando um estado inflamatório acentuado nesses pacientes.

Os níveis de MLT diurna foram maiores no grupo de pacientes diabéticos com leishmaniose, quando comparamos com os grupos isoladamente (LTA e DMT2), se equiparando aos indivíduos saudáveis, na tentativa de controlar essas duas comorbidades, através de mecanismos adicionais, que precisam ser compreendidos, para entendermos como a síntese de MLT é essencial para a construção de uma resposta inflamatória adequada, buscando esclarecer, se o ritmo diário da MLT pode ser restaurado em doenças associadas.

Além do mais, uma correlação negativa entre MLT e glicemia foi notada nos pacientes do grupo DMT2, evidenciando a importância deste hormônio no controle dos distúrbios relacionados ao diabetes.

Por fim, nosso estudo traz um questionamento pertinente, referente ao TNF- α , nos indagando, se esta citocina pode ser capaz de interferir na produção de MLT em pacientes com LTA, uma vez que, observamos níveis reduzidos de MLT nestes pacientes, para melhor compreendermos sobre seu papel na resistência ou suscetibilidade frente a essa parasitose e assim, auxiliar na busca de novas abordagens terapêuticas.

7. Referências

- Aguiar FJB, Ferreira-Júnior M, Sales MM, Cruz-Neto LM, Fonseca LAM, Sumita NM, Duarte AJS. **C-reactive protein: clinical applications and proposals for a rational use.** Revista Da Associação Médica Brasileira (English Edition), v. 59, n. 1, p. 85–92, 2013.
- Aguiar PF, Rodrigues RK. **Leishmaniose visceral no Brasil: artigo de revisão.** Unimontes Científica, v. 19, n. 1, p. 191-204, 2017.
- Ahluwalia S, Lawn SD, Kanagalingam J, Grant H, Lockwood DN. **Mucocutaneous leishmaniasis: an imported infection among travellers to central and South America.** The BMJ, v. 329, n. 7470, p. 842-844, 2004.
- Alencar BFP, Figueiredo IA. **Perfil epidemiológico dos casos de Leishmaniose Tegumentar Americana no estado do Maranhão no período de 2015 a 2017.** Revista de Investigação Biomédica, v. 10, n. 3, p. 243-250, 2019.
- Alvar J, Vélez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, WHO. **Equipe de controle da leishmaniose da OMS. Leishmaniose mundial e estimativas globais de sua incidência.** PLoS One, v. 7, p. e35671, 2012.
- American Diabetes Association. **Standards of medical care in diabetes.** Diabetes Care. v. 40, n. 1, p. 1-142, 2017.
- Ansari NA, Sharma P, Salotra P. **Circulating nitric oxide and C-reactive protein levels in Indian kala azar patients: correlation with clinical outcome.** Clinical Immunology, v. 122, n. 3, p. 343-348, 2007.
- Antonelli LRDV, Dutra WO, Almeida RPD, Bacellar O, Gollob KJ. **Correlações específicas de antígenos de respostas imunes celulares na leishmaniose humana sugerem mecanismos para imunorregulação.** Clinical & Experimental Immunology, v. 136, n. 2, p. 341-348, 2004.
- Axelrod J. **The pineal gland: a neurochemical transducer.** Science, v. 184, n. 4144, p. 1341-1348, 1974.
- Bacellar O, Lessa H, Schrieffer A, Machado P, De Jesus AR, Dutra WO, Carvalho EM. **Up-regulation of Th1-type responses in mucosal leishmaniasis patients.** Infection and immunity, v. 70, n. 12, p. 6734-6740, 2002.
- Basano SA, Camargo LMA. **American cutaneous leishmaniasis: history, epidemiology and prospects for control.** Revista brasileira de epidemiologia, v. 7, n. 3, p. 328-337, 2004.
- Belyaev O, Herzog T, Munding J, Bolik B, Vosschulte A, Uhl W, Müller CA. **Protective role of endogenous melatonin in the early course of human acute pancreatitis.** Journal of Pineal Research, v. 50, n. 1, p. 71-77, 2011.
- Benfield T, Jensen JS, Nordestgaard BG. **Influence of diabetes and hyperglycaemia on infectious disease hospitalisation and outcome.** Diabetologia, v. 50, n. 3, p. 549–554, 2007.
- Beraldo FH, Garcia CR. **Produtos do catabolismo do triptofano induzem a liberação de Ca²⁺ + e modulam o ciclo celular de parasitas da malária *Plasmodium falciparum*.** Journal of Pineal Research, v. 39, p. 224–230, 2005.
- Black S, Kushner I, Samols D. **C-reactive protein.** Journal of Biological Chemistry, v. 279, n. 47, p. 48487-48490, 2004.

Bojunga J, Dresar-Mayert B, Usadel KH, Kusterer K, Zeuzem S. **Antioxidative treatment reverses imbalances of nitric oxide synthase isoform expression and attenuates tissue-cGMP activation in diabetic rats.** Biochemical and Biophysical Research Communications, v. 316, n. 3, p. 771-780, 2004.

Boras E, Slevin M, Alexander MY, Aljohi A, Gilmore W, Ashworth J, Matou-Nasri S. **Monomeric C-reactive protein and Notch-3 co-operatively increase angiogenesis through PI3K signalling pathway.** Cytokine, v. 69, n. 2, p. 165-179, 2014.

Bottasso O, Morales-Montor J. **Neuroimmunomodulation during infectious diseases: mechanisms, causes and consequences for the host.** Neuroimmunomodulation, v. 16, n. 2, p. 65-67, 2009.

Bowling FL, Rashid ST, Boulton AJM. **Preventing and treating foot complications associated with diabetes mellitus.** Nature Reviews Endocrinology, v. 11, n. 10, p. 606, 2015.

BRASIL. **Manual de controle da leishmaniose tegumentar americana.** 5. ed. Brasília: Ministério da Saúde/Coordenação de Vigilância Epidemiológica. Centro Nacional de Epidemiologia; [62 p.], 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde do Brasil. Fundação Nacional de Saúde. In: **Guia de Vigilância Epidemiológica**, p. 501-524, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. In: **Guia de Vigilância em Saúde. Brasília**, p. 489 – 496, 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Leishmaniose tegumentar americana. In: **Guia de vigilância epidemiológica.** 6. ed. Brasília: Ministério da Saúde, p. 444, 2005.

Brun J, Chamba G, Khalfallah Y, Girard P, Boissy I, Bastuji H, Claustrat B. **Effect of modafinil on plasma melatonin, cortisol and growth hormone rhythms, rectal temperature and performance in healthy subjects during a 36h sleep deprivation.** Journal of sleep research, v. 7, n. 2, p. 105-114, 1998.

Bubenik GA, Konturek SJ. **Melatonin and aging: prospects for human treatment.** Journal of physiology and pharmacology, v. 62, n. 1, p. 13, 2011.

Cable EE, Finn PD, Stebbins JW, Hou J, Ito BR, Van Poelje PD, Erion MD. **Reduction of hepatic steatosis in rats and mice after treatment with a liver-targeted thyroid hormone receptor agonist.** Hepatology, v. 49, n. 2, p. 407-417, 2009.

Calabró P, Willerson JT, Yeh ETH. **Inflammatory cytokines stimulated C-reactive protein production by human coronary artery smooth muscle cells.** Circulation, v. 108, n. 16, p. 1930-1932, 2003.

Cardinali DP, Hardeland R. **Inflammaging, metabolic syndrome and melatonin: a call for treatment studies.** Neuroendocrinology, v. 104, n. 4, p. 382-397, 2017.

Carrillo-Vico A, Lardone PJ, Álvarez-Sánchez N, Rodríguez-Rodríguez A, Guerrero JM. **Melatonin: buffering the immune system.** International Journal of Molecular Sciences, v. 14, n. 4, p. 8638–8683, 22 abr. 2013.

Carvalho-Sousa CE, da Silveira, CMS, Tamura EK, Fernandes PACM, Pinato L, Muxel SM, Cecon E, Markus RP. **Molecular basis for defining the pineal gland and pinealocytes as targets for tumor necrosis factor.** Frontiers in endocrinology, v. 2, p. 10, 2011.

- Casqueiro J, Casqueiro J, Alves C. **Infections in patients with diabetes mellitus: A review of pathogenesis.** Indian journal of endocrinology and metabolism, v. 16, p. 27, 2012.
- Chang YH, Ho KT, Lu SH, Huang CN, Shiao MY. **Regulation of glucose/lipid metabolism and insulin sensitivity by interleukin-4.** International journal of obesity, v. 36, n. 7, p. 993-998, 2012.
- Chang YH, Tsai JN, Chen TL, Ho KT, Chen GHY, Hsiao CW, Shiao MY. **Interleukin-4 promotes myogenesis and boosts myocyte insulin efficacy.** Mediators of inflammation, v. 2019, 2019.
- Chaves MM, Canetti C, Coutinho-Silva R. **Crosstalk between purinergic receptors and lipid mediators in leishmaniasis.** Parasites & Vectors, v. 9, n. 1, p. 489, 2016.
- Chaves MM, Marques-Da-Silva C, Monteiro APT, Canetti C, Coutinho-Silva R. **Leukotriene B4 Modulates P2X7 Receptor-Mediated *Leishmania amazonensis* Elimination in Murine Macrophages.** The Journal of Immunology, v. 192, n. 10, p. 4765–4773, 2014.
- Crook M. **Type 2 diabetes mellitus: a disease of the innate immune system? An update.** Diabetic Medicine, v. 21, n. 3, p. 203-207, 2004.
- Cunha CF, Ferraz-Nogueira R, Costa VF, Pimentel MIF, Chometon TQ, Lyra MR, Bertho AL. **Contribution of *Leishmania braziliensis* antigen-specific CD4+ T, CD8+ T, NK and CD3+ CD56+ NKT cells in the immunopathogenesis of cutaneous leishmaniasis patients: Cytotoxic, activation and exhaustion profiles.** Plos one, v. 15, n. 3, p. e0229400, 2020.
- De Moraes SC. **Ecoepidemiologia da Leishmaniose Tegumentar Americana no município de Barra do Garças, Mato Grosso, Brasil.** 2015. f. 124. Tese (Doutorado em Parasitologia). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.
- De Oliveira CI, Brodskyn CI. **The immunobiology of *Leishmania braziliensis* infection.** Frontiers in Immunology, v.3, p. 145, 2012.
- Desjeux P. **Leishmaniasis: current situation and new perspectives.** Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases, v. 27, n. 5, p. 305-318, 2004.
- Do Céu Almeida M, De Obstetrícia S, Barreto MB, Rocha RA. **Consenso “diabetes gestacional”: Atualização 2017.** Revista Portuguesa de Diabetes, v. 12, n. 1, p. 24-38, 2017.
- Domínguez-Rodríguez A, Abreu-González P, García MJ, Sanchez J, Marrero,F, Armas-Trujillo D. **Reduction of nocturnal melatonin levels during acute myocardial infarction.** Journal of Pineal Research.v. 33, p. 248–252, 2002.
- Donath MY, Schumann DM, Faulenbach M, Ellingsgaard H, Perren A, Ehses J.A. **Islet inflammation in type 2 diabetes: from metabolic stress to therapy.** Diabetes care, v. 31, n. Supplement 2, p. S161-S164, 2008.
- Du Clos TW. **Function of C-reactive protein.** Ann Med, v.32, n.4, p.274-8. 2000.
- Ehses JA, Perren A, Eppler E, Ribaux P, Pospisilik JA, Maor-Cahn R, Donath MY. **Increased number of islet-associated macrophages in type 2 diabetes.** Diabetes, v. 56, n. 9, p. 2356-2370, 2007.
- Elmahallawy EK, Jiménez-Aranda A, Martínez AS, Rodríguez-Granger J, Navarro-Alarcón M, Gutiérrez-Fernández J, Agil A. **Activity of melatonin against *Leishmania infantum* promastigotes by mitochondrial dependent pathway.** Chemico biological interactions, v. 220, p. 84-93, 2014.

El-Sokkary GH, Omar HM, Hassanein AFM, Cuzzocrea S, Reiter RJ. **Melatonin reduces oxidative damage and increases survival of mice infected with *Schistosoma mansoni***. Free Radical Biology and Medicine, v. 32, n. 4, p. 319-332, 2002.

Espino J, Pariente JA, Rodríguez AB. **Role of melatonin on diabetes-related metabolic disorders**. World Journal of Diabetes, v.2, n. 6, p. 82-91, 2011.

Espir TT, Figueira LDP, Naiff MDF, Da Costa AG, Ramalho-Ortigão M, Malheiro A, Franco AMR. **The role of inflammatory, anti-inflammatory, and regulatory cytokines in patients infected with cutaneous leishmaniasis in Amazonas state, Brazil**. Journal of immunology research, v. 2014, 2014.

Espir, TT. **Características da resposta imune em pacientes com leishmaniose tegumentar americana, antes e após tratamento quimioterápico com antimonial pentavalente**. 2013. 196 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2013.

Fernandes HJ. **Análise da toxicidade relacionada ao uso intralesional de antimoniato de meglumina para tratamento da Leishmaniose cutânea localizada**. 2019. 92 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Instituto René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, 2019.

Fernandes JCR, Aoki JI, Maia Acuña S, Zampieri RA, Markus RP, Floeter-Winter LM, Muxel SM. **Melatonin and leishmania amazonensis infection altered mir-294, mir-30e, and mir-302d impacting on tnfr, mcp-1, and nos2 expression**. Frontiers in cellular and infection microbiology, v. 9, p. 60, 2019.

Fernandes MC., Dillon LA, Belew AT, Bravo HC, Mosser DM, El-Sayed NM. **Dual transcriptome profiling of Leishmania-infected human macrophages reveals distinct reprogramming signatures**. MBio, v. 7, n. 3, p. e00027-16, 2016.

França EL, Mandadori MN, França JL, Botelho ADCF, Ferrari CKB, Honório-França AC. **Epidemiological aspects of American Cutaneous Leishmaniasis in the city of Juína, Mato Grosso state, Brazil**. Scientia Medica, v. 19, n. 3, p. 103-107, 2009.

França-Botelho AC, França JL, Oliveira FM, França EL, Honório-França AC, Caliani MV, Gomes MA. **Melatonin reduces the severity of experimental amoebiasis**. Parasites & vectors, v. 4, n. 1, p. 1-6, 2011.

Gandhi NA, Pirozzi G, Graham NMH. **Commonality of the IL-4/IL-13 pathway in atopic diseases**. Expert review of clinical immunology, v. 13, n. 5, p. 425-437, 2017.

García C. **Diabetes mellitus gestacional**. Medicina interna de México, v. 24, n. 2, p. 148-156, 2008.

Gilmartin AB, Ural SH, Repke JT. **Gestational diabetes mellitus**. Reviews in obstetrics & gynecology, v. 1, n. 3, p. 129-134, 2008.

Gomes BF, Accardo C de M. **Immunoinflammatory mediators in the pathogenesis of diabetes mellitus**. Einstein (São Paulo), v. 17, n. 1, 2019.

Goncalves R, Zhang X, Cohen H, Debrabant A, Mosser DM. **Platelet activation attracts a subpopulation of effector monocytes to sites of Leishmania major infection**. Journal of Experimental Medicine, v. 208, n. 6, p. 1253-1265, 2011.

Gontijo B, Carvalho M de L. R. **Leishmaniose tegumentar americana**. Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 36, n. 1, p. 71–80, 2003.

Gordon S, Martinez FO. **Alternative activation of macrophages: mechanism and functions**. Immunity, v. 32, n. 5, p. 593-604, 2010.

Gorman MR. **Organização temporal da sinalização da melatonina pineal em mamíferos**. Endocrinologia molecular e celular, v. 503, p.110687, 2020.

Guilherme A, Virbasius JV, Puri V, Czech MP. **Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes**. Nature reviews Molecular cell biology, v. 9, n. 5, p. 367-377, 2008.

Gurer-Orhan H, Orhan H, Suzen S, Orhan Püsküllü M, Buyukbingol E. **Synthesis and evaluation of in vitro antioxidant capacities of some benzimidazole derivatives**. Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry, v. 21, n. 2, p. 241-247, 2006.

Han KH, Hong KH, Park JH, Ko J, Kang DH, Choi KJ, Park SJ. **C-reactive protein promotes monocyte chemoattractant protein-1—mediated chemotaxis through upregulating CC chemokine receptor 2 expression in human monocytes**. Circulation, v. 109, n. 21, p. 2566-2571, 2004.

Hartman ME, O'connor JC, Godbout JP, Minor KD, Mazzocco VR, Freund GG. **Insulin receptor substrate-2-dependent interleukin-4 signaling in macrophages is impaired in two models of type 2 diabetes mellitus**. Journal of Biological Chemistry, v. 279, n. 27, p. 28045-28050, 2004.

Hawdon JM. **Babies born after diabetes in pregnancy: what are the short-and long-term risks and how can we minimise them?**. Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology, v. 25, n. 1, p. 91-104, 2011.

Hehlhans T, Männel, DN. **The TNF TNF Receptor System**. Biological Chemistry, v. 383, no. 10, pp. 1581-1585, 2002.

Hesse M, Modolell M, La Flamme AC, Schito M, Fuentes JM, Cheever AW. **Differential regulation of nitric oxide synthase-2 and arginase-1 by Type 1/Type 2 cytokines in vivo: granulomatous pathology is shaped by the pattern of L-arginine metabolism**. The Journal of Immunology. 2001.

Hickie IB, Rogers, NL. **Novel melatonin-based therapies: potential advances in the treatment of major depression**. The Lancet, v. 378, n. 9791, p. 621-631, 2011.

Ho KT, Shiau MY, Chang YH, Chen CM, Yang SC, Huang C. N. **Association of interleukin-4 promoter polymorphisms in Taiwanese patients with type 2 diabetes mellitus**. Metabolism, v. 59, n. 12, p. 1717-1722, 2010.

Hotta CT, Gazarini ML, Beraldo FH, Varotti FP, Lopes C, Markus RP, Garcia CR. **Calcium-dependent modulation by melatonin of the circadian rhythm in malarial parasites**. Nature cell biology, v. 2, n. 7, p. 466-468, 2000.

Hou J, Schindler U, Henzel WJ, Ho TC, Brasseur M, Mcknight SL. **An interleukin-4-induced transcription factor: IL-4 Stat**. Science, v. 265, n. 5179, p. 1701-1706, 1994.

Inatsu A, Kinoshita M, Nakashima H, Shimizu J, Saitoh D, Tamai S, Seki S. **Novel mechanism of C-reactive protein for enhancing mouse liver innate immunity**. Hepatology, v. 49, n. 6, p. 2044-2054, 2009.

International Diabetes Federation. **IDF Diabetes Atlas**, 10th ed. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation; 2021.

Irwin MR, Opp MR. **Sleep health: reciprocal regulation of sleep and innate immunity**. *Neuropsychopharmacology*, v. 42, n. 1, p. 129-155, 2017.

Jupe D. **The acute phase response and laboratory testing**. *Australian family physician*, v. 25, n. 3, p. 324-329, 1996.

Katsarou A, Gudbjörnsdottir S, Rawshani A, Dabelea D, Bonifacio E, Anderson BJ, Lernmark A. **Type 1 diabetes mellitus**. *Nature reviews Disease primers*, v. 3, n. 1, p. 1-17, 2017.

Keane KN, Calton EK, Carlessi R, Hart PH, Newsholme P. **The bioenergetics of inflammation: insights into obesity and type 2 diabetes**. *European Journal of Clinical Nutrition*, v. 71, n. 7, p. 904-912, 2017.

Kemp DM, Ubeda M, Habener JF. **Identification and functional characterization of melatonin Mel 1a receptors in pancreatic beta cells: potential role in incretin-mediated cell function by sensitization of cAMP signaling**. *Molecular and Cellular Endocrinology*, v. 191, n. 2, p. 157-166, 2002.

Kim C, Newton KM, Knopp RH. **Gestational diabetes and the incidence of type 2 diabetes: a systematic review**. *Diabetes care*, v. 25, n. 10, p. 1862-1868, 2002.

Kopf M, Brombacher F, Köhler G, Kienzle G, Widmann KH, Lefrang K, Solbach W. **IL-4-deficient Balb/c mice resist infection with *Leishmania major***. *The Journal of experimental medicine*, v. 184, n. 3, p. 1127-1136, 1996.

Kropf P, Fuentes JM, Fähnrich E, Arpa L, Herath S, Weber V, Müller I. **Arginase and polyamine synthesis are key factors in the regulation of experimental leishmaniasis in vivo**. *The FASEB journal*, v. 19, n. 8, p. 1000-1002, 2005.

Lacerda MS, Malheiros GC, De Abreu AOW. **Tecido adiposo, uma nova visão: as adipocinas e seu papel endócrino**. *Revista Científica da Faculdade de Medicina de Campos*, v. 11, n. 2, p. 25-31, 2016.

Lanoix D, Beghdadi H, Lafond J, Vaillancourt C. **Human placental trophoblasts synthesize melatonin and express its receptors**. *Journal of Pineal Research*, v. 45, n. 1, p. 50-60, 2008.

Laranjeira-Silva MF, Zampieri RA, Muxel SM, Floeter-Winter LM, Markus RP. **Melatonin attenuates *Leishmania (L.) amazonensis* infection by modulating arginine metabolism**. *Journal of Pineal Research*, v. 59, n. 4, p. 478-487, 2015.

Lazarski CA, Ford J, Katzman SD, Rosenberg AF, Fowell DJ. **IL-4 attenuates Th1-associated chemokine expression and Th1 trafficking to inflamed tissues and limits pathogen clearance**. *PloS one*, v. 8, n. 8, p. e71949, 2013.

Leal AM, Voltarelli JC. **Perspectives of stem cell therapy in type 2 diabetes mellitus**. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 32, n. 4, p. 329-334, 2010.

Lener AB, Case JD, Takahashi Y, Lee TH. **Isolation of melatonin, a pineal factor that lightens melanocytes**. *Journal of the American Chemical Society*. 80:2587, 1958.

Liew FY, Wei XQ, Proudfoot L. **Cytokines and nitric oxide as effector molecules against parasitic infections**. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, v. 352, n. 1359, p. 1311-1315, 1997.

Luz PR. **Determinação das concentrações séricas da lectina ligante de manose (MBL) e da proteína C-Reativa (CRP) em portadores da Doença de Chagas crônica.** 2008. 112 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

Macleod CM, Avery OT. **The occurrence during acute infections of a protein not normally present in the blood: II. Isolation and properties of the reactive protein.** The Journal of experimental medicine, v. 73, n. 2, p. 183-190, 1941.

Mahlberg R, Tilmann A, Salewski L, Kunz D. **Normative data on the daily profile of urinary 6-sulfatoxymelatonin in healthy subjects between the ages of 20 and 84.** Psychoneuroendocrinology, v. 31, n. 5, p. 634-641, 2006.

Martinez-Bakker M, Helm B. **The influence of biological rhythms on host-parasite interactions.** Trends in ecology & evolution, v. 30, n. 6, p. 314-326, 2015.

Martins ALGP, Barreto JA, Lauris JRP. **Leishmaniose Tegumentar Americana: correlações entre parâmetros imunológicos, histopatológicos e clínicos.** Anais brasileiros de dermatologia, vol. 89,1: 52-8, 2014.

Maspi N, Abdoli A, Ghaffarifar F. **Pro-and anti-inflammatory cytokines in cutaneous leishmaniasis: a review.** Pathogens and global health, v. 110, n. 6, p. 247-260, 2016.

McGwire BS, Satoskar AR. **Leishmaniasis: clinical syndromes and treatment.** QJM: An International Journal of Medicine, v. 107, n. 1, p. 7-14, 2014.

Morato CI, Da Silva JRIA, Borges AF, Dorta ML, Oliveira MA, Jancar S, Ribeiro-Dias F. **Essential role of leukotriene B4 on *Leishmania (Viannia) braziliensis* killing by human macrophages.** Microbes and Infection, v. 16, n. 11, p. 945-953, 2014.

Mühlbauer E, Peschke E. **Evidence for the expression of both the MT1-and in addition, the MT2-melatonin receptor, in the rat pancreas, islet and beta-cell.** Journal of pineal research, v. 42, n. 1, p. 105-106, 2007.

Mühlbauer E, Wolgast S, Finckh U, Peschke D, Peschke E. **Indication of circadian oscillations in the rat pancreas.** FEBS letters, v. 564, n. 1-2, p. 91-96, 2004.

Munder M, Eichmann K, Morán JM, Centeno F, Soler G, Modolell M. **Th1/Th2-regulated expression of arginase isoforms in murine macrophages and dendritic cells.** The Journal of Immunology, v. 163, n. 7, p. 3771-3777, 1999.

Mundigler G, Delle-Karth G, Koreny M, Zehetgruber M, Steindl-Munda P, Marktl W, Ferti L, Siostrzonek P. **Impaired circadian rhythm of melatonin secretion in critically ill sedated patients with severe sepsis.** Critical Care Medicine, v. 30, p. 536-540, 2002.

Murback NDN, Hans Filho G, Nascimento RAFD, Nakazato KRDO, Dorval MEMC. **Leishmaniose Tegumentar Americana: estudo clínico, epidemiológico e laboratorial realizado no Hospital Universitário de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.** An. Bras. Dermatol. Rio de Janeiro, v. 86, n. 1, p. 55-63, fev. 2011.

Nelms K, Keegan, AD, Zamorano J, Ryan JJ, Paul WE. **The IL-4 receptor: signaling mechanisms and biologic functions.** Annual review of immunology, v. 17, n. 1, p. 701-738, 1999.

Pace D. **Leishmaniasis.** Journal of Infection, v 69, p.10-18, 2014.

Paskaloglu K, Sener L, Ayangolu-Dulger L. **Melatonin treatment protects against diabetes-induced functional and biochemical changes in rat aorta and corpus cavernosum.** European journal of pharmacology, v. 499, n. 3, p. 345-354, 2004.

Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon III RO, Criqui M, Vinicor F. **Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association.** Circulation, v. 107, n. 3, p. 499-511, 2003.

Pentakota SR, Rajan M, Fincke BG, Tseng CL, Miller DR, Christiansen CL, Pogach LM. **Does diabetes care differ by type of chronic comorbidity? An evaluation of the Piette and Kerr framework.** Diabetes care, v. 35, n. 6, p. 1285-1292, 2012.

Peschke E, Ebelt H, Brömme HJ, Peschke D. **‘Classical’ and ‘new’ diabetogens—comparison of their effects on isolated rat pancreatic islets in vitro.** Cellular and Molecular Life Sciences CMLS, v. 57, n. 1, p. 158-164, 2000.

Peschke E, Frese T, Chankiewitz E, Peschke D, Preiss U, Schneyer U, Mühlbauer E. **Diabetic Goto Kakizaki rats as well as type 2 diabetic patients show a decreased diurnal serum melatonin level and an increased pancreatic melatonin-receptor status.** Journal of pineal research, v. 40, n. 2, p. 135-143, 2006.

Peschke E. **Melatonin, endocrine pancreas and diabetes.** Journal of pineal research, v. 44, n. 1, p. 26-40, 2008.

Pesquisa nacional de saúde: 2019: **informações sobre domicílios, acesso e utilização dos serviços de saúde: Brasil, grandes regiões e unidades da federação** / IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento. - Rio de Janeiro: IBGE, 2020.

Peters NC, Egen JG, Secundino N, Debrabant A, Kimblin N, Kamhawi S, Sacks D. **In vivo imaging reveals an essential role for neutrophils in leishmaniasis transmitted by sand flies.** Science, v. 321, n. 5891, p. 970-974, 2008.

Petto J, Santos ACND, Motta MT, Teixeira Filho RS, Santo DGCDE, Ribas JLL, Ladeia AMT. **Adiponectin: characterization, metabolic and cardiovascular action.** International Journal of Cardiovascular Sciences, v. 28, n. 5, p. 424-32, 2015.

Pickup JC. **Inflammation and activated innate immunity in the pathogenesis of type 2 diabetes.** Diabetes care, v. 27, n. 3, p. 813-823, 2004.

Pontes GN, Cardoso EC, Carneiro-Sampaio MM, Markus RP. **Pineal melatonin and the innate immune response: the increase in TNF alpha after cesarean sections suppresses nocturnal melatonin production.** Journal of Pineal Research, v.43, p. 365–371, 2007.

Radwanska M, Cutler AJ, Hoving JC, Magez S, Holscher C, Bohms A, Brombacher F. **Deletion of IL-4Rα on CD4 T cells renders BALB/c mice resistant to *Leishmania major* infection.** PLOS Pathogens, v. 3, n. 5, p. e68, 2007.

Ramalho DB, Silva RED, Senna MCRD, Moreira HSA, Pedras MJ, Avelar DMD, Cota G. **Meglumine antimoniate intralesional infiltration for localised cutaneous leishmaniasis: a single arm, open label, phase II clinical trial.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 113, n. 9, 2018.

Rapoport MJ, Jaramillo A, Zipris D, Lazarus AH, Serreze DV, Leiter EH, Delovitch TL. **Interleukin 4 reverses T cell proliferative unresponsiveness and prevents the onset of**

diabetes in nonobese diabetic mice. The Journal of experimental medicine, v. 178, n. 1, p. 87-99, 1993.

Reithinger R, Davies CR. **Is the domestic dog (*Canis familiaris*) a reservoir host of American cutaneous leishmaniasis? A critical review of the current evidence.** The American journal of tropical medicine and hygiene, v. 61, n. 4, p. 530-541, 1999.

Reithinger R, Dujardin JC, Louzir H, Pirmez C, Alexander B, Brooker S. **Cutaneous leishmaniasis.** The Lancet infectious diseases, v. 7, n. 9, p. 581-596, 2007.

Ribeiro-Gomes FL, Peters NC, Debrabant A, Sacks DL. **Efficient capture of infected neutrophils by dendritic cells in the skin inhibits the early anti-leishmania response.** PLOS Pathogens, v. 8, n. 2, p. e1002536, 2012.

Robeva R, Kirilov G, Tomova A, Kumanov PH. **Melatonin–insulin interactions in patients with metabolic syndrome.** Journal of pineal research, v. 44, n. 1, p. 52-56, 2008.

Rocha MS. **Estudo da ocorrência da leishmaniose cutânea em humanos e a taxa de infecção em flebotomíneos no sul de Roraima (municípios de São João da Baliza e São Luiz do Anauá).** 2007. 108 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). Instituto nacional de pesquisas da Amazônia – INPA, Manaus, 2007.

Roque ALR, Jansen AM. Hospedeiros e reservatórios de *Leishmania* sp. e sua importância na manutenção dos ciclos de transmissão nos ambientes silvestre e sinantrópico. **Conceição-Silva F, Alves CR. Leishmanioses do continente americano.** Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, p. 233-57, 2014.

Sacks D, Noben-Trauth N. **The immunology of susceptibility and resistance to *Leishmania major* in mice.** Nature Reviews Immunology, v. 2, n. 11, p. 845-858, 2002.

Saheb EJ, Kuba RH, Musa IS. **The Role of C-Reactive Protein in the Infections Caused by Parasites.** Diyala Journal of Medicine, v. 19, n. 2, p. 157-164, 2020.

Santello FH, Frare EO, Dos Santos CD, Toldo MPA, Kawasse LM, Zucoloto S, Do Prado JRJC. **Melatonin treatment reduces the severity of experimental *Trypanosoma cruzi* infection.** Journal of pineal research, v. 42, n. 4, p. 359-363, 2007.

Savoia D. **Recent updates and perspectives on leishmaniasis.** The Journal of Infection in Developing Countries, v. 9, n. 6, p. 588-596, 2015.

Scott P, Novais FO. **Cutaneous leishmaniasis: immune responses in protection and pathogenesis.** Nature Reviews Immunology, v. 16, n. 9, p. 581–592, 2016.

Silva IBS. **A influência do diabetes na patogênese da leishmaniose cutânea: o papel do leucotrieno B4.** 2018. 48 f. Dissertação (Mestrado em Patologia). Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2018.

Silveira FT, Müller SR, De Souza AA, Lainson R, Gomes C, Laurenti MD, Corbett CE. **Revisão sobre a patogenia da Leishmaniose Tegumentar Americana na Amazônia, com ênfase à doença causada por *Leishmania (V.) braziliensis* e *Leishmania (L.) amazonensis*.** Revista Paraense de Medicina, v. 22, n. 1, p. 9-20, 2008.

Singh UK, Patwari AK, Sinha RK, Kumar R. **Prognostic value of serum C-reactive protein in kala-azar.** Journal of tropical pediatrics, v. 45, n. 4, p. 226-228, 1999.

Terzieva DD, Mateva ND, Vladimirova-Kitova LG. **Melatonin reference limits at 3: 00 AM and 8: 00 AM in healthy adults.** Clinical laboratory, v. 55, n. 9-10, p. 359-361, 2009.

Thompson D, Pepys MB, Wood SP. **The physiological structure of human C-reactive protein and its complex with phosphocholine.** Structure, v. 7, n. 2, p. 169-177, 1999.

Tiedge M, Lortz S, Munday R, Lenzen S. **Complementary action of antioxidant enzymes in the protection of bioengineered insulin-producing RINm5F cells against the toxicity of reactive oxygen species.** Diabetes, v. 47, n. 10, p. 1578-1585, 1998.

Tillett WS, Francis JRT. **Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus.** The Journal of experimental medicine, v. 52, n. 4, p. 561, 1930.

Tsao CH, Shiau MY, Chuang PH, Chang YH, Hwang J. **Interleukin-4 regulates lipid metabolism by inhibiting adipogenesis and promoting lipolysis.** Journal of lipid research, v. 55, n. 3, p. 385-397, 2014.

Vasconcelos JM, Gomes CG, Sousa A, Teixeira AB, Lima JM. **Leishmaniose tegumentar americana: perfil epidemiológico, diagnóstico e tratamento.** Revista Brasileira de Análises Clínicas, v. 50, n. 3, p. 221-7, 2018.

Vincent AM, Callaghan BC, Smith AL, Feldman EL. **Diabetic neuropathy: cellular mechanisms as therapeutic targets.** Nature Reviews Neurology, v. 7, n. 10, p. 573, 2011.

Volanakis JE. **Human C-reactive protein: expression, structure, and function.** Molecular Immunology, v.38, n.2-3, Aug, p.189-97. 2001.

Von Stebut E, Ehrchen JM, Belkaid Y, Kostka SL, Mölle K, Knop J, Udey MC. **Interleukin 1 α promotes Th1 differentiation and inhibits disease progression in *Leishmania major*-susceptible BALB/c mice.** The Journal of experimental medicine, v. 198, n. 2, p. 191-199, 2003.

Wajant H, Pfizenmaier K, Scheurich P. **Tumor necrosis factor signaling.** Cell Death & Differentiation, v. 10, n. 1, p. 45-65, 2003.

Wallach J. **Interpretação de testes laboratoriais.** 7^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

Weinkopff T, Mariotto A, Simon G, Hauyon-La Torre Y, Auderset F, Schuster S, Tacchini-Cottier F. **Role of Toll-like receptor 9 signaling in experimental *Leishmania braziliensis* infection.** Infection and immunity, v. 81, n. 5, p. 1575-1584, 2013.

WHO. **Leishmaniasis.** World Health Organization data sheet, 2021. Available at: <<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>>. Accessed at: Nov 1, 2021.

Wu Y, Quan Y, Liu Y, Liu K, Li H, Jiang Z, Lai Y. **Hyperglycaemia inhibits REG3A expression to exacerbate TLR3-mediated skin inflammation in diabetes.** Nature Communications, v. 7, p. 13393, 2016.

Xia MZ, Liang YL, Wang H, Chen X, Huang YY, Zhang ZH, Song LH. **Melatonin modulates TLR4-mediated inflammatory genes through MyD88-and TRIF-dependent signaling pathways in lipopolysaccharide-stimulated RAW264. 7 cells.** Journal of pineal research, v. 53, n. 4, p. 325-334, 2012.

Yang CP, Shiau MY, Lai YR, Ho KT, Hsiao CW, Chen CJ, Chang, YH. **Interleukin-4 boosts insulin-induced energy deposits by enhancing glucose uptake and lipogenesis in hepatocytes.** Oxidative medicine and cellular longevity, v. 2018, 2018.

Yudkin JS, Stehouwer C, Emeis J, Coppack S. **C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue?** Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, v. 19, n. 4, p. 972-978, 1999.

Zimmet PZ, Alberti KGM. **The changing face of macrovascular disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus: an epidemic in progress.** The Lancet, v. 350, p. S1-S4, 1997.

APÊNDICE I**QUESTIONÁRIO PARA COLETA DE DADOS DOS PACIENTES**

Nome do(a) paciente: _____

Nº Protocolo: _____

Estado civil: () Casado(a) () Solteiro(a) () Amigado(a) () Viúvo(a)

Profissão: _____

Data de nascimento: _____ Sexo: () Feminino () Masculino

Bairro de origem: _____ Data da coleta (sangue): _____

Leishmaniose Tegumentar: () Suspeita () Diagnóstico

Já teve Leishmaniose anteriormente: () Sim () Não

*Caso positivo, descrever o local: _____

Doença pré-existente (Ex: Diabetes/Hipertensão): () Sim () Não

*Caso positivo, descrever qual(is) doença(s) _____

Realizou exame de glicemia em jejum recentemente? () Sim () Não

*Caso positivo, descrever o valor: _____

Tabagismo: () Sim () Não

Etilismo: () Sim () Não

Drogas ilícitas: () Sim () Não

*Caso positivo, descrever qual(is): _____

Peso: _____ Altura: _____ IMC (calcular): _____

Tem alguma medicação de uso contínuo: () Sim () Não

*Caso positivo, descrever o(s) medicamento(s): _____

Telefone para contato: _____

APÊNDICE II

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO (TCLE)

Projeto: Avaliação dos parâmetros imunológicos e bioquímicos em pacientes diabéticos e com Leishmaniose no município de Barra do Garças-MT.

Pesquisadores e Instituições envolvidas: Profa. Dra. Danny Laura Gomes Fagundes Triches – Campus Universitário do Araguaia – Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Felipe Rubin Ferrari – Aluno do Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Básicas e Aplicadas - Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Thalissa Mariana de Moraes Martins – Aluna do Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Básicas e Aplicadas - Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT).

Objetivos principal: Avaliar através de exames laboratoriais, alterações imunológicas e bioquímicos do sangue de pacientes diabéticos e com Leishmaniose.

Procedimentos: coleta de material biológico- sangue periférico, volume de aproximadamente 4 mL.

Possíveis riscos e desconfortos: não há riscos previsíveis, mas poderá haver desconforto na coleta de sangue, apesar desta ser realizada com técnica adequada e de maneira cuidadosa.

Benefícios previsíveis: Para os participantes do estudo, melhorar a compreensão deste binômio diabetes e Leishmaniose, assistência e orientação sobre as doenças. Para as gerações futuras, com o conhecimento adquirido nesta pesquisa sobre essas doenças, poderá haver melhora no diagnóstico, nas intervenções terapêuticas e nas medidas profiláticas.

Eu..... fui informado(a) dos objetivos, procedimentos, riscos e benefícios desta pesquisa, descritos acima. Entendo que terei garantia de confidencialidade, ou seja, ninguém além dos pesquisadores, terá acesso aos nomes dos participantes desta pesquisa. Entendo também, que tenho direito de receber, sempre que desejar, outras informações sobre o estudo, entrando em contato com a pesquisadora (Dra. Danny Laura G. F. Triches). Fui informado(a), que minha participação é voluntária e que, se eu preferir não participar ou deixar de participar deste estudo em qualquer momento, isso NÃO influenciará no meu atendimento no serviço de Saúde deste município. Compreendendo tudo o que foi explicado sobre o estudo e, estando de acordo em participar, assino embaixo.

Assinatura do participante

Assinatura do pesquisador principal

Profa. Dra. Danny Laura Gomes Fagundes Triches
ICBS/UFMT- dannyauragf@hotmail.com