



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

RODRIGO ALVES DE OLIVEIRA

**DISFUNÇÃO RENAL EM PACIENTES COM LEISHMANIOSE
TEGUMENTAR AMERICANA ANTES E APÓS O USO DO
ANTIMONIATO DE MEGLUMINA**

FORTALEZA

2011

RODRIGO ALVES DE OLIVEIRA

**DISFUNÇÃO RENAL EM PACIENTES COM LEISHMANIOSE
TEGUMENTAR AMERICANA ANTES E APÓS O USO DO
ANTIMONIATO DE MEGLUMINA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Medicina.

Área de Concentração: Clínica Médica

Orientador (a): Prof.^a Dr.^a Elizabeth De Francesco Daher.

FORTALEZA

2011

O51d Oliveira, Rodrigo Alves de
Disfunção renal em pacientes com leishmaniose tegumentar americana antes e após o uso do antimoniato de meglumina/ Rodrigo Alves de Oliveira. – Fortaleza, 2011.
90 f. : il.

Orientador (a): Prof.^a Dr.^a Elizabeth De Francesco Daher.

Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará. Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Fortaleza, Ceará.

1. Leishmaniose Cutânea 2. Exossomos I. Daher, Elizabeth De Francesco (orient.) II. Título.

CDD:616.9364

RODRIGO ALVES DE OLIVEIRA

**DISFUNÇÃO RENAL EM PACIENTES COM *LEISHMANIOSE*
TEGUMENTAR AMERICANA ANTES E APÓS O USO DO
ANTIMONIATO DE MEGLUMINA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Medicina.

Aprovada em: 29 / 04 / 2014

BANCA EXAMINADORA



Prof.^a Dr.^a Elizabeth De Francesco Daher (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará – UFC



Prof. Dr. Antônio Carlos Seguro
Universidade de São Paulo – USP



Prof. Dr. Alexandre Braga Libório
Universidade de Fortaleza – UNIFOR



Prof.^a Dr.^a Sonia Leite da Silva
Universidade de Fortaleza – UNIFOR



Prof. Dr. Anastácio de Queiroz Sousa
Universidade Federal do Ceará – UFC

Aos meus bens mais valiosos: meus filhos Lucas, Rodrigo e Isabela. Que eles perdoem minha ausência em muitos momentos da realização deste projeto.

À minha esposa Nilene, eterna companheira (neste ano fazemos 15 anos de casados), pela sua paciência e compreensão.

Aos meus segundos pais: minha sogra Cilene e meu sogro Nivaldo, por todo o apoio que me deram nesta dura jornada.

Aos meus pais, José Lucena e Maria Márcia, a quem devo toda a minha vida, pelo exemplo de caráter, profissionalismo e toda educação que me concederam.

AGRADECIMENTOS

Ao nosso Deus que não nos deixa fraquejar, mesmo nos momentos mais difíceis, e que nos guia pelos caminhos da vida.

À Prof.^a Dr.^a Elizabeth De Francesco Daher, que foi minha amiga e orientadora, por tudo o que me ensinou e me proporcionou na vida acadêmica. A ela devo todos os créditos pelo que alcancei até hoje na carreira acadêmica e pela conclusão deste projeto. Espero continuar gozando dos seus conhecimentos.

Ao Prof. Dr. Alexandre Braga Libório, que teve a brilhante ideia de incluir a análise dos exossomas urinários nesta pesquisa, enriquecendo-a, e também na preparação dos manuscritos que se originaram deste projeto.

Ao mestre e também doutorando Geraldo Bezerra da Silva Júnior, pela sua valiosa contribuição na preparação dos manuscritos para as publicações.

À Prof.^a Dr.^a Regina Célia Abdulkader, da Faculdade de Medicina da USP, de quem partiu a ideia originária de estudar a função renal de pacientes com leishmaniose tegumentar americana.

Aos acadêmicos de Medicina, hoje médicos, Lúcyo Flávio Bezerra Diniz e Leonardo Teotônio Oliveira, que participaram ativamente deste projeto, principalmente na pesquisa de campo.

À Prof.^a Dr.^a Lúcia Andrade, do Laboratório de Investigação Médica da Faculdade de Medicina da USP (LIM12), que, com todo o seu conhecimento médico, de bancada, deu contribuição ímpar para realização da pesquisa dos transportadores urinários e confecção do artigo publicado.

À Talita Rojas Sanches, bióloga do LIM12 e Doutoranda pela Universidade de São Paulo, que foi fundamental na realização das análises urinárias dos transportadores renais, etapa fundamental para o sucesso deste projeto.

A todos os integrantes do LIM12 da Faculdade de Medicina da USP, que me acolheram como sendo um deles e foram também fundamentais para conclusão deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Seguro, que acreditou neste projeto e abriu as portas do seu laboratório (LIM12) na Faculdade de Medicina da USP.

À Prof.^a Dr.^a Alice Maria Costa Martins do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da UFC, pela realização das dosagens das osmolalidades urinárias e microalbuminúrias.

A todos os funcionários do Centro de Saúde Leão Sampaio integrado à rede de saúde do município de Barbalha, que contribuíram no agendamento das consultas e exames dos pacientes, em especial, o funcionário José Belarmino, que me acompanhou até a residência de alguns pacientes para realização da anamnese.

À CLINIRIM e UNIRIM, que me permitiram realizar os atendimentos e coleta dos exames nas respectivas clínicas.

Ao coordenador pedagógico do Curso de Medicina da UFC no Cariri, Prof. Cláudio Gleidiston Lima Silva, por todo o seu apoio e sugestões além da realização de todos os exames histopatológicos dos nossos pacientes.

Ao diretor da Faculdade de Medicina da UFC/Fortaleza, Prof. Dr. José Luciano Bezerra Moreira, que nos deu a oportunidade de cursar o Doutorado em Ciências Médicas, com a realização da maioria dos créditos em Barbalha-CE, tendo os docentes se deslocado da Capital para o interior para ministrar as aulas, num projeto ousado de levar a pós-graduação para o interior do Estado e qualificar seu corpo docente.

Aos colegas médicos nefrologistas: Dr. Valêncio Pereira Carvalho, Leila Silveira Vieira da Silva e cirurgiões: Antônio Fernando Coutinho e Francisco Gilberto Pinheiro, que deram cobertura em meus plantões para que eu pudesse ir a São Paulo a fim de concluir a pesquisa. Sem a ajuda deles eu não teria concluído este projeto.

Aos pacientes que participaram desta pesquisa, por sua compreensão, cooperação e vontade de contribuir com a Ciência Médica, meu sincero agradecimento.

Aos meus irmãos José Lucena e Iuri Alves, que também me deram apoio incondicional.

RESUMO

A leishmaniose é uma doença infecciosa, não contagiosa, zoonótica em que os seres humanos são hospedeiros incidentais. Vários tipos de lesão renal têm sido relatados em pacientes com leishmaniose visceral. A disfunção renal encontrada na leishmaniose tegumentar americana (LTA) tem sido atribuída aos antimoniais pentavalentes. Objetivos. Para determinar se a LTA e seu tratamento específico podem causar disfunção renal, os pacientes com LTA foram avaliados antes e após o início do tratamento. Pacientes e Métodos. Este foi um estudo controlado, prospectivo e observacional, realizado na cidade de Barbalha, Estado do Ceará, Brasil, entre julho de 2008 e agosto de 2009. O grupo de estudo foi de 37 pacientes com diagnóstico de LTA, baseado em critérios clínicos, epidemiológicos, sorológicos e histopatológicos, bem como na intradermoreação de Montenegro. Antes de iniciar o tratamento específico e ao final da terapia, a função glomerular e tubular foi avaliada e os resultados foram comparados com 10 controles saudáveis. Osmolalidade urinária foi dosada antes e depois (pré e pós-teste) da administração de DDAVP (intranasal, depois de um jejum de 12h noturno). Bicarbonato plasmático (Pbic), pH urinário (UpH) and plasmático (PpH) foram dosados antes e após (pré e pós-teste) a administração de CaCl₂ (teste de acidificação). Os seguintes exossomas urinários foram quantificados antes do início do tratamento: AQP2; NHE3; NKCC2; H-ATPase e pendrina. Resultados. Idade média foi 35,6 ± 12 anos no grupo de estudo e 32,2 ± 11,7 anos no grupo-controle. O grupo de estudo foi composto de 19 homens, sendo 26 não-brancos. Todos os pacientes tinham LTA na forma cutânea (duração média da doença, 28,5 ± 20,6 dias). Dos 37 pacientes 27 tinham apenas uma lesão, sete tinham de duas a quatro lesões e três deles tinham mais que quatro lesões. Não se evidenciou disfunção glomerular importante, nem antes nem depois do tratamento (creatinina plasmática, 0,81 ± 0,16 mg/dl; ClCr, 109 ± 31 ml/min). Defeito na concentração urinária baseado na taxa U/P_{osm} pós-teste (<2,8) esteve presente em 27 pacientes antes do tratamento e em 31 pacientes depois do tratamento (77% x 88%, p=NS) e U_{osm} pós-teste (<700 mOsm/kg) em 22 pacientes (63%). Não houve diferença estatística entre os valores de osmolalidade urinária entre pré e pós-teste (539±43 vs. 618±34 mOsm/kg), assim como quando se comparou a taxa U/P_{osm} em T4 entre pré e pós-tratamento (2,19 ± 0,73 x 1,95 ± 0,73, p=NS). Expressão urinária de AQP2 foi significativamente mais baixa no grupo de estudo do que nos controles (99,5 ± 0,5 x 38,5 ± 12%, p=0,006), enquanto o NKCC2 foi significativamente mais alto (102 ± 2,5 x 147 ± 12%, p=0,02). Defeito de acidificação urinária (pós-teste UpH >5.5) foi identificado em 15 pacientes pré-tratamento e em seis pacientes pós-tratamento (40% x 16%, p=0,012). Bicarbonato plasmático pré-teste foi <21 mEq/L in 12 pacientes (32,5%), e pH plasmático pré-teste foi <7,35 em 14 pacientes (38%). Expressão de NHE3 foi significativamente mais alta nos pacientes do que no grupo-controle (100 ± 0,6 x 176 ± 15%, p=0,015), assim como na H-ATPase (98 ± 0,2 x 190 ± 8%, p=0,04) e pendrina (176 ± 15 x 100 ± 0,6%, P = 0,015). Conclusão. A LTA pode causar disfunção tubular renal assintomática. É provável que o defeito na concentração urinária observado em pacientes com LTA seja causado por uma menor expressão de AQP2 e um aumento na expressão de NKCC2, o que pode representar um mecanismo compensatório. A maior expressão de NHE3 e H-ATPase parecem representar outro mecanismo compensatório ao aumento na expressão da pendrina, uma vez que estes pacientes apresentaram também um defeito na acidificação urinária.

Palavras-chave: Leishmaniose Cutânea. Disfunção Renal. Exossomas Urinários.

ABSTRACT

Leishmaniasis is an infectious, non-contagious zoonotic disease for which humans are incidental hosts. Various types of kidney injury have been reported in cases of visceral leishmaniasis. The renal dysfunction seen in ACL has been attributed to the use of antimonials. Objectives. To determine whether ACL itself and its specific treatment can cause renal dysfunction, we evaluated ACL patients before and after to the initiation of treatment. Patients and methods. This was a controlled, observational prospective study, conducted in the city of Barbalha, state of Ceara, Brazil, between July 2008 and August 2009. The study group comprised 37 patients diagnosed with ACL based on clinical, epidemiological, serological and histopathological criteria, as well as on Montenegro skin test results. Before and after specific treatment, glomerular and renal tubular function were tested, and the results were compared with those obtained from 10 control subjects. Urine and plasma osmolality (U_{osm} and P_{osm}) were tested before and after administration of DDAVP (intranasal, after a 12-h fast), before and after specific treatment. Plasma bicarbonate (P_{bic}), urinary pH (U_{pH}) and plasma pH (P_{pH}) were evaluated before and after oral administration of $CaCl_2$ (acidification test), before and after specific treatment. The following urinary exosomes were quantified before specific treatment: AQP2; NHE3; NKCC2 H-ATPase and pendrin. Results. Mean age was 35.6 ± 12 years in the study group and 32.2 ± 11.7 years in the control group. The study group comprised 19 men and 26 non-whites. All patients had cutaneous ACL (mean disease duration, 28.5 ± 20.6 days). Of the 37 patients, 27 had a single skin lesion, 7 had 2-4 lesions, and 3 had >4 lesions. Significant glomerular dysfunction wasn't shown neither before, nor after specific treatment (plasma creatinine, 0.81 ± 0.16 mg/dl; $ClCr$, 109 ± 31 ml/min). Urinary concentrating defect was identified based on the post-test U/P_{osm} ratio (<2.8) in 27 patients before treatment and in 31 patients after treatment (77% vs 88%, $p=NS$) and post-test U_{osm} (<700 mOsm/kg) in 22 (63%). Significant difference in U/P_{osm} ratio in T4 wasn't shown between before and after treatment (2.19 ± 0.73 vs 1.95 ± 0.73 , $p=NS$). There was no statistical difference between the pre-and post-test osmolality values (539 ± 43 vs. 618 ± 34 mOsm/kg). Urinary expression of AQP2 was significantly lower in patients than in controls (99.5 ± 0.5 vs. $38.5 \pm 12\%$, $p=0.006$), whereas that of NKCC2 was significantly higher (102 ± 2.5 vs. $147 \pm 12\%$, $p=0.02$). Urinary acidification defect (post-test $U_{pH} >5.5$) was detected in 15 patients before specific treatment and in 6 patients after treatment (40% vs 16%, $p=0.012$). Pre-test P_{bic} was <21 mEq/L in 12 patients (32.5%), and pre-test P_{pH} was <7.35 in 14 (38%). Expression of NHE3 was significantly higher in the patients than in the controls (100 ± 0.6 vs. $176 \pm 15\%$, $p=0.015$), as was that of H-ATPase (98 ± 0.2 vs. $190 \pm 8\%$, $p=0.04$) and pendrin (176 ± 15 vs. $100 \pm 0.6\%$, $P = 0.015$). Conclusion. ACL can cause asymptomatic tubular dysfunction. It is likely that the urinary concentrating defect observed in patients with ACL is caused by downregulation of AQP2 expression, and that the increased NKCC2 expression represents a compensatory mechanism. The greater expression of NHE3 and H-ATPase might represent another compensatory mechanism to pendrin expression increase, since ACL patients also presented urinary acidification defect.

Key words: Cutaneous Leishmaniasis. Renal Dysfunction. Urinary Exosomes.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLA

LTA	Leishmaniose tegumentar americana
LCL	Leishmaniose cutânea localizada
LV	Leishmaniose visceral
IDRM	Intradermoreação de Montenegro
FDA	Food and drugs administration
PCR	Polymerase chain reaction
OMS	Organização Mundial de Saúde
IRC	Insuficiência renal crônica
IRA	Insuficiência renal aguda
GN	Glomerulonefrite
GESF	Glomeruloesclerose segmentar e focal
GNMP	Glomerulonefrite membranoproliferativa
TCP	Túbulo contorcido proximal
TCD	Túbulo contorcido distal
NH ₄ Cl	Cloreto de amônio
CaCl ₂	Cloreto de cálcio
U _{osm}	Osmolalidade urinária
P _{pH}	pH sanguíneo
P _{Na+}	Sódio plasmático

P_{K^+}	Potássio plasmático
P_{Cl^-}	Cloro plasmático
$P_{Ca^{++}}$	Cálcio plasmático
$P_{PO_4^-}$	Fósforo plasmático
$P_{Mg^{++}}$	Magnésio plasmático
$P_{HCO_3^-}$	Bicarbonato plasmático
U_{Na^+}	Sódio urinário
U_{K^+}	Potássio urinário
U_{Cl^-}	Cloro urinário
$U_{Ca^{++}}$	Cálcio urinário
$U_{PO_4^-}$	Fósforo urinário
$U_{Mg^{++}}$	Magnésio urinário
U_{pH}	pH urinário
FE_{Na^+}	Fração de excreção de sódio
FE_{K^+}	Fração de excreção de potássio
$FE_{Ca^{++}}$	Fração de excreção de cálcio
$FE_{PO_4^-}$	Fração de excreção de fósforo
$FE_{Mg^{++}}$	Fração de excreção de magnésio
FE_{Cl^-}	Fração de excreção de cloro
U/P_{osm}	Relação osmolalidade urinária / plasmática
$ClCr$	Clearence de creatinina

TFG	Taxa de filtração glomerular
U_{cr}	Creatinina urinária
P_{cr}	Creatinina plasmática
P_{osm}	Osmolalidade plasmática
DDAVP	Desmopressina
AQP2	Aquaporina 2
NKCC2	Cotransportador sódio-potássio 2 cloro
NHE3	Trocador sódio-hidrogênio
H^+ -ATPase	Hidrogênio ATPase
VSH	Velocidade de sedimentação de hemáceas
AG	Anion gap
BUN	Bood urea nitrogen
AST	Aspartatoaminotransferase
ALT	Alanina aminotransferase

LISTA DE FIGURAS

1	Osmolalidade urinária, antes e após o teste com desmopressina em pacientes com concentração urinária normal e anormal com LTA, atendidos na Unidade de Atenção Secundária de Barbalha-CE, entre julho de 2008 e agosto de 2009	52
2	pH urinário, antes e após o teste com cloreto de cálcio (CaCl_2) em pacientes com acidificação urinária normal e anormal com LTA, atendidos na Unidade de Atenção Secundária de Barbalha-CE, entre julho de 2008 e agosto de 2009	53
3	Abundância da AQP2 na fração de exossomas urinários, pelo Western blotting, normalizado pela creatinina em pacientes com LTA e deficit de concentração urinária, atendidos na Unidade de Atenção Secundária de Barbalha-CE, entre julho de 2008 e agosto de 2009, antes do tratamento com glucantime [®] em relação ao controle	56
4	Abundância do NKCC2 na fração de exossomas urinários, pelo Western blotting, normalizado pela creatinina em pacientes com LTA e deficit de concentração urinária, atendidos na Unidade de Atenção Secundária de Barbalha-CE, entre julho de 2008 e agosto de 2009, antes do tratamento com glucantime [®] em relação ao controle	56
5	Abundância do NHE3 na fração de exossomas urinários, pelo Western blotting, normalizado pela creatinina em pacientes com LTA e deficit de acidificação urinária, atendidos na Unidade de Atenção Secundária de Barbalha-CE, entre julho de 2008 e agosto de 2009, antes do tratamento com glucantime [®] em relação ao controle	57
6	Abundância do H^+ -ATPase na fração de exossomas urinários, pelo Western blotting, normalizado pela creatinina em pacientes com LTA e deficit de acidificação urinária atendidos na Unidade de Atenção Secundária de Barbalha-CE, entre julho de 2008 e agosto de 2009, antes do tratamento com glucantime [®] em relação ao controle	57
7	Abundância da pendrina na fração de exossomas urinários, pelo Western blotting, normalizado pela creatinina em pacientes com LTA, e deficit de acidificação urinária atendidos na Unidade de Atenção Secundária de Barbalha-CE, entre julho de 2008 e agosto de 2009, antes do tratamento com glucantime [®] em relação ao controle	58

LISTA DE TABELAS

- 1 Dados clínicos e demográficos de 37 pacientes com diagnóstico de leishmaniose tegumentar americana (LTA) e dez controles, atendidos na Unidade de Atenção Secundária de Barbalha-CE, entre julho de 2008 e agosto de 2009 49
- 2 Dados laboratoriais dos pacientes com LTA atendidos na Unidade de Atenção Secundária de Barbalha-CE, entre julho de 2008 e agosto de 2009, antes e após o tratamento com glucantime® 50
- 3 Comparação da função glomerular e tubular entre pacientes com LTA e controles, atendidos na Unidade de Atenção Secundária de Barbalha-CE, entre julho de 2008 e agosto de 2009, antes e após o tratamento com glucantime® 54
- 4 Prevalência de disfunção renal entre pacientes com LTA, atendidos na Unidade de Atenção Secundária de Barbalha-CE, entre julho de 2008 e agosto de 2009, antes e após o tratamento com glucantime® 55

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
1.1	Etiologia e Transmissão	20
1.2	Apresentação Clínica	22
1.2.1	Leishmaniose cutânea localizada (LCL)	22
1.2.2	Leishmaniose recidiva cutis	22
1.2.3	Leishmaniose cutânea disseminada	23
1.2.4	Leishmaniose cutânea difusa	23
1.2.5	Leishmaniose mucocutânea	23
1.3	Diagnóstico	23
1.3.1	Intradermoreação de Montenegro (IDRM)	24
1.3.2	Reações sorológicas	24
1.3.3	Identificação do DNA da leishmania	24
1.4	Tratamento	25
1.5	Envolvimento Renal na Leishmaniose Visceral (Calazar)	28
1.6	Envolvimento Renal na LTA	29
1.7	Proteínas Transportadoras na Urina	31
2	PERGUNTA DE PARTIDA	34
3	HIPÓTESES	35
4	OBJETIVOS	36
4.1	Geral	36
4.2	Secundários	36

5	METODOLOGIA	37
5.1	Tipo de Estudo.	37
5.2	População do Estudo	37
5.3	Caracterização do Local do Estudo	38
5.4	Critérios de Inclusão	38
5.5	Critérios de Exclusão	38
5.6	Diagnóstico da Leishmaniose Tegumentar Americana	39
5.7	Tratamento Específico da LTA	39
5.8	Parâmetros Estudados	39
5.8.1	Características clínicas	39
5.8.2	Avaliação laboratorial geral	40
5.8.3	Parâmetros calculados	40
5.8.4	Teste de acidificação urinária	42
5.8.5	Teste de concentração urinária	42
5.8.6	Fluxograma da coleta dos exames	43
5.8.7	Avaliação dos transportadores do epitélio tubular na urina	44
5.8.7.1	Eletroforese e imunoblotting	44
5.9	Parâmetros de Disfunção Renal	45
5.10	Métodos Analíticos	45
5.11	Análise Estatística	46
6	RESULTADOS	48
6.1	Avaliação da Função Renal Pré e Pós-Glucontime [®]	51
6.2	Exossomas Urinários Pré-Glucontime [®]	55
6.3	Efeitos Adversos Relacionado ao Tratamento com Glucontime	58

6.4	Efeitos Adversos Relacionados ao Uso da Desmopressina e Cloreto de Cálcio	58
6.5	Limitações	59
7	DISCUSSÃO	60
7.1	Dados Gerais.	60
7.2	Função Glomerular	
7.2.1	Microalbuminúria	62
7.3	Função Tubular	63
7.3.1	Capacidade de concentrar a urina	63
7.3.2	Capacidade de acidificar a urina	64
7.4	Exossomas Urinários Pré-Glucontime [®]	66
8	CONCLUSÕES	69
	REFERÊNCIAS	71
	APENDICE A	83
	ANEXO A	87

1 INTRODUÇÃO

causada por um protozoário intramacrofágico obrigatório do gênero *Leishmania*, cuja transmissão ocorre por meio de um vetor (HERWALDT, 1999). Ela varia desde uma úlcera cutânea com cicatrização espontânea até um quadro sistêmico visceral (ROBERTS et al., 2007). A leishmaniose é classicamente dividida em: leishmaniose do Velho Mundo e do Novo Mundo. A leishmaniose do Velho Mundo é aquela causada por espécies encontradas na bacia do Mediterrâneo, Oriente Médio e África. A leishmaniose do Novo Mundo refere-se àquela causada por espécies predominantes no México, América Central e do Sul (DAVID; CRAFT, 2009).

Os primeiros registros no Continente Americano datam do período colonial, quando, em 1571, Pedro Pizarro descreveu que povos que habitavam vales quentes do Peru eram dizimados por uma enfermidade que desfigurava o nariz, posteriormente denominada leishmaniose (GOLDMAN, 1983). A descoberta dos agentes etiológicos das leishmanioses ocorreu no final do século XIX, com a descrição de formas amastigotas em pacientes indianos com calazar feita em 1885 por Cunningham (RATH et al., 2003).

Em vários países do Novo Mundo, a leishmaniose tegumentar americana (LTA) configura-se um problema de saúde pública, não só pela alta incidência e ampla distribuição geográfica, mas também por causar lesões destrutivas, desfigurantes e incapacitantes, comprometendo o paciente do ponto de vista psicossocial (GONTIJO, 2003).

A leishmaniose tem ampla distribuição geográfica, estando presente em quase todos os continentes. Ela é endêmica em várias áreas tropicais e subtropicais, como nordeste da África, Oriente Médio, partes da Europa e América Central e do Sul (ROBERTS et al., 2000). No mundo todo, dois milhões de novos casos são notificados a cada ano e estima-se que 1/10 da população mundial esteja em risco de contrair a infecção (WHO, 2000). Em 1993, a Organização Mundial de Saúde considerou a leishmaniose como a segunda doença de maior importância causada por protozoário.

A incidência de LTA tem aumentado praticamente em todos os estados do Brasil. Surtos epidêmicos são relatados nas regiões Sudeste, Centro-Oeste, Nordeste e Amazônia, relacionados ao processo predatório de colonização (MARZOCHI, 1992).

As análises dos estudos epidemiológicos demonstra mudanças no padrão da doença. Inicialmente considerada uma zoonose de animais silvestres que ocasionalmente acometia pessoas em contato com florestas, passou a ser uma patologia presente em áreas rurais já desmatadas e em áreas periurbanas. No período de 1985 a 2003, o Brasil apresentou níveis de detecção entre 10,45 a 21,23 por 100.000 habitantes com tendência de aumento da endemia com maiores picos de detecção nos anos de 1994 e 1995. A região Nordeste contribui com o maior número de casos (37,2% do total registrado no período) e a região Norte com o maior coeficiente de detecção (93,84 por 100.000 habitantes) (BRASIL, 2005). Nos municípios pertencentes à região do Cariri cearense, observa-se aumento marcante no número de casos nos últimos três anos, sendo 46 casos notificados no ano de 2008, 219 casos em 2009 e 209 em 2010. Destes, o Município de Barbalha é responsável por mais de 50% do total (SINAN – 21ª CRES).

1.1 Etiologia e Transmissão

A leishmaniose é transmitida por vetores dípteros hematófagos da família Psychodida, pertencendo ao gênero *Phlebotomus* (Velho Mundo) e *Lutzomyia* (Novo Mundo). Somente as fêmeas são hematófagas com atividade crepuscular e pós-crepuscular (RATH et al., 2003). Os reservatórios são geralmente animais silvestres, como a preguiça, o tamanduá, roedores, raposas e cães. O homem é considerado um hospedeiro incidental. No Brasil, os reservatórios mais importantes são os cães e as raposas (BRASIL, 2002).

As fêmeas dos flebotomos infectam-se quando picam os animais que são portadores do parasita, aspirando macrófagos infectados ou formas amastigotas livres no sangue ou tecidos. No tubo digestivo dos vetores, as formas amastigotas transformam-se rapidamente, por divisão binária, em promastigota, que é flagelada e extracelular (GONTIJO, 2003). Esta forma promastigota é inoculada no hospedeiro

vertebrado na próxima refeição do vetor, assumindo a forma amastigota, que é arredondada, imóvel e se multiplica obrigatoriamente dentro das células do sistema fagocítico mononuclear. Os macrófagos infectados rompem-se e liberam mais parasitas que são novamente fagocitados por outros macrófagos (MURRAY et al., 2005).

Do ponto de vista taxonômico, o gênero *Leishmania* possui a seguinte posição sistemática (após LEVINE et al., 1980):

REINO: PROTISTA Haeckel, 1866.

SUB-REINO: PROTOZOA Goldfuss, 1817.

FILO: SARCOMASTIGOPHORA Honigberg e Balamuth, 1963.

SUBFILO: MASTIGOPHORA Deising, 1866.

CLASSE: ZOOMASTIGOPHORA Calkins, 1909.

ORDEM: KINETOPLASTIDA Honigberg, 1963, emend. Virckerman, 1976.

SUBORDEM: TRYPANOSOMATINA Kent, 1880.

FAMÍLIA: TRYPANOSOMATIDAE Doflein, 1901, emend. Grobden, 1905.

GÊNERO: *Leishmania* Ross, 1903.

Existem cerca de 21 espécies de *leishmania* que causam doença em humanos. Na leishmaniose do Velho Mundo, as espécies envolvidas são a *Leishmania (Leishmania) major*, *Leishmania (Leishmania) tropica*, *Leishmania (Leishmania) aethiopica* e *Leishmania (Leishmania) infantum*. No Novo Mundo, predominam dois subgêneros: *Viannia* e *Leishmania*. *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *Leishmania (Viannia) guyanensis*, *Leishmania (Viannia) panamensis*, *Leishmania (Viannia) peruviana*. No outro subgênero: *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, *Leishmania (Leishmania) mexicana* e *Leishmania (Leishmania) pifanoi* (LAINSON; SHAW, 1987).

1.2 Apresentação Clínica

A leishmaniose pode se apresentar clinicamente sob três formas: visceral (calazar), cutânea, mucosa também chamada espúndia ou muco cutânea, com o desenvolvimento do parasita no sistema fagocítico mononuclear, derme e mucosa nasofaríngea, respectivamente (HERWALDT, 1999).

O quadro clínico depende da espécie de *Leishmania* envolvida, assim como de fatores relacionados ao hospedeiro como, por exemplo, o estado imune. O período de incubação pode variar de duas semanas até três meses após a inoculação (GOTO; LINDOSO, 2010). Depois deste período de latência, surge uma pequena pápula eritematosa e pruriginosa ou nódulo, podendo ser precedido de enfartamento ganglionar regional. Esta lesão inicial pode evoluir para a cura espontânea ou para a forma latente com presença de parasitos viáveis por tempo indeterminado. As espécies predominantes no Velho Mundo determinam manifestações clínicas limitadas, quando comparadas com as espécies predominantes no Novo Mundo. Estas últimas determinam manifestações clínicas mais variadas, com quadros mais agressivos e destrutivos e menor remissão espontânea (GOTO; LINDOSO, 2010).

1.2.1 Leishmaniose cutânea localizada (LCL)

É a forma prevalente da doença. As lesões surgem nas áreas expostas do corpo, sendo mais comum em membros inferiores e superiores, variando de uma a dez lesões. Caracteriza-se por lesão ulcerada, arredondada, indolor, bem delimitada, muitas vezes com crostas no centro. Pode curar-se espontaneamente, deixando uma cicatriz atrófica e hipopigmentada. A depender da resposta hospedeiro-parasita e de outros fatores não totalmente definidos, pode evoluir para outras formas da doença.

1.2.2 Leishmaniose recidiva cutis

É mais comum na leishmaniose do Velho Mundo causada pela *Leishmania* (*Leishmania*) *tropica*, sendo rara no Novo Mundo. Pode ser uma lesão papular ou vesicular que aparece após a cura clínica ou ao redor da cicatriz meses ou anos após.

1.2.3 Leishmaniose cutânea disseminada

Caracteriza-se pela presença de múltiplas lesões pleomórficas (dez a 300), acneiforme ou papular em duas ou mais áreas não contíguas da pele (REITHINGER et al., 2007). Lesão de mucosa é mais comum nestes casos.

1.2.4 Leishmaniose cutânea difusa

É a forma anérgica da LTA, sendo caracterizada pela presença de lesões nodulares ricas em parasitos e que não ulceram. É uma condição rara e tem sido descrita na América do Sul, Central e Etiópia.

1.2.5 Leishmaniose mucocutânea

Também chamada de espúndia, ocorre anos após a LCL e caracteriza-se pela destruição oral-nasal e faringe com lesões muitas vezes desfigurantes. Os sintomas iniciais podem ser marcados por congestão e inflamação nasal. Ulceração e perfuração do septo nasal podem ocorrer lentamente. Esta lesão pode se estender à face, ao palato mole, faringe e laringe.

1.3 Diagnóstico

O diagnóstico envolve critérios epidemiológicos, clínicos e laboratoriais. O diagnóstico laboratorial consiste na identificação do parasito por meio da pesquisa direta ou indireta. O exame direto é feito pela identificação de formas amastigotas em material obtido por escarificação da lesão, aspiração ou biópsia da borda da lesão e corada pelo Giemsa ou Leishman. A probabilidade de se encontrar a *Leishmania* é menor quando a duração da lesão é maior, sendo de 100% nos casos em que o agente é a *L. braziliensis* e é pesquisado nos dois primeiros meses de evolução e em apenas 20% dos casos após 12 meses de doença (FURTADO, 1980).

A identificação do agente também pode ser feita por cultura, usando meios específicos, pois a *Leishmania* cresce bem em temperatura ambiente (24 a 26 °C). O mais usado é o ágar-sangue de Novy e McNeal, modificado de Nicolle-NNN. A sensibilidade deste método é de 50% para a *L. braziliensis*. Outra forma de diagnóstico parasitológico é a inoculação em animais de laboratório, como

em hamster; entretanto, além de apresentar variação quanto à espécie inoculada, ainda demora de dois a nove meses para que a lesão se desenvolva.

1.3.1 Intradermoreação de Montenegro (IDRM)

Consiste em injetar 0,1 ml do antígeno da *Leishmania* na face flexora do antebraço. A IDRM é considerada positiva quando, após 48 a 72 horas se detecta uma induração igual ou maior do que 5 mm (MONTENEGRO, 1926).

A IDRM detecta a presença de hipersensibilidade tardia, pois a LTA determina resposta celular durante a doença e após a cura da infecção, espontaneamente ou após o tratamento (CARVALHO et al., 2000). O teste torna-se positivo em torno de quatro meses após o início da lesão, porém não diferencia doença atual e passada, nem faz diferir infecção de doença. Geralmente, é negativo nas formas cutâneas difusas e em pacientes imunodeprimidos. Tem valor presuntivo no diagnóstico de LTA, sendo positiva em 84% nas formas cutâneas e 100% nas mucocutâneas (SHAW, 1975).

1.3.2 Reações sorológicas

A reação sorológica mais usada é a imunofluorescência indireta, sendo sensível, porém pode dar reação cruzada com a doença de Chagas e calazar. Os resultados são variáveis, negativa na forma cutânea difusa. Entretanto com sensibilidade variável nas formas cutâneas e mucosas. Quando a lesão é recente (um a seis meses), é comumente negativa. Quando positiva, os títulos são mais altos nos casos com múltiplas lesões, podendo cair após o tratamento. O ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) tem maior sensibilidade, mas os testes sorológicos não são usados na rotina diagnóstica da LTA.

1.3.3 Identificação do DNA da *Leishmania*

Também não é usada na rotina diagnóstica, pois requer laboratórios bem equipados além do alto custo. Tem alta sensibilidade, em torno de 97,1% na LTA do Novo Mundo (OLIVEIRA et al., 2005) e 100% na LTA do Velho Mundo (NASEREDDIN et al., 2008). Além de detectar a *Leishmania*, pode identificar a espécie envolvida. O método mais usado é o PCR (polymerase chain reaction).

1.4 Tratamento

Na maioria dos casos de LTA do Velho Mundo ocorre cura espontânea entre dois e 15 meses após o início do quadro, dependendo da espécie de *Leishmania* envolvida. Na LTA do Novo Mundo, quando a *Leishmania* envolvida é a *L. braziliensis*, a cura espontânea é lenta e ocorre em apenas 10% dos pacientes, quando a lesão é única e menor do que 10 mm. As lesões não tratadas podem causar cicatrizações desfigurantes com impacto negativo na qualidade de vida com consequências sociais para o paciente.

A maioria das lesões é tratada para acelerar a cicatrização, reduzir as deformidades cicatriciais, prevenir disseminação e reduzir as chances de recorrências (MURRAY et al., 2005). O tratamento é estimulado quando existem várias lesões (>5 a 10), as lesões são grandes (>4 a 5 cm), apresentam duração de mais de seis meses e/ou a lesão é localizada em áreas que possam trazer resultados cosméticos desfavoráveis ou sobre articulações (WEINA et.al., 2004).

O uso medicinal de compostos de antimônio para diversos fins terapêuticos é conhecido desde a Antiguidade. Os antimoniais trivalentes causavam efeitos colaterais graves e indesejáveis como intolerância gastrointestinal e efeitos cardiotoxícos. Eles foram substituídos pelos antimoniais pentavalentes (Sb^V) (RATH. et.al., 2003). Durante a II Guerra Mundial, surgiu na França o antimoniato de N-metilglucamina – antimoniato de meglumina (Glucantime[®]), que é até os dias atuais é um dos mais usados em todo o mundo.

Os dois medicamentos mais usados são antimoniato de meglumina (Glucantime[®]) e o stibogluconato de sódio (PENTOSTAN[®]). O mecanismo de ação não é totalmente conhecido, mas sabe-se que a droga inibe a atividade glicolítica e as vias oxidativas dos ácidos graxos nas formas amastigotas (CROFT et.al., 2006). Os efeitos colaterais mais comuns são artralgia, mialgia, inapetência, cefaleia, febre, vômitos, tonturas. Outros efeitos colaterais mais graves e que limitam o uso destes são a cardiotoxicidade, nefrotoxicidade e hepatotoxicidade, principalmente em pacientes idosos. São contraindicados em gestantes.

No Brasil, o medicamento mais usado é o antimoniato de meglumina, sendo bastante eficaz no tratamento da leishmaniose cutânea, mucocutânea e

visceral. Ele induz rápida regressão das lesões. A Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda a dose de 20 mg/Sb^v/kg/dia por 20 dias seguidos. Não havendo cicatrização completa da lesão após três meses do término do tratamento, o esquema deverá ser repetido, só que por 30 dias. Na forma mucosa deve-se usar a mesma dose por 30 dias seguidos.

Falência no tratamento com antimoniais pentavalentes é descrita, dependendo da espécie de *Leishmania* envolvida. Na LTA do Novo Mundo, observou-se falência no tratamento em 7% dos casos na Bolívia (BERMUDEZ. et al., 2006), 16% no Brasil (OLIVEIRA-NETO et al., 1997) e até 39% na Colômbia (PALACIOS et al., 2001). Em razão desses insucessos com os antimoniais, bem como pelos efeitos tóxicos, medicações opcionais são usadas no tratamento da LTA.

A anfotericina B é a segunda droga mais usada, tanto na sua forma convencional, quanto na forma lipossomal, com bons resultados, inclusive naqueles casos com resistência aos antimoniais. Ela é considerada mais eficaz nos casos de LTA mucosa (GONTIJO; CARVALHO, 2003). Em alguns locais, é utilizada como droga de primeira linha. Recentemente, foi introduzido o uso da anfotericina B lipossomal (AMBISSOME[®]) no tratamento da leishmaniose visceral com sucesso em vários países, inclusive no Brasil (DIETZE et al., 1983). Essa é uma formulação da anfotericina B que praticamente elimina a nefrotoxicidade e mantém a mesma eficácia. Na LTA existem poucos relatos do seu uso no tratamento. O principal fator limitante é o elevado custo, o que inviabiliza seu uso nas regiões mais pobres, coincidentemente aquelas de maior incidência de LTA

Outras drogas opcionais também usadas no tratamento da LTA são: pentamidina, miltefosina, paromomicina e derivados azólicos. A pentamidina age interferindo com a síntese do DNA, modificando a morfologia do cinetoplasto e fragmentação da mitocôndria do parasita (AMATO et al., 1998). Esta droga se mostra tão eficaz quanto os antimonais (TUON et al., 2008), mas também apresenta efeitos colaterais importantes, como hipoglicemia e hiperglicemia, dor no local de injeção, gosto metálico, cefaleia, congestão nasal e dispneia.

O miltefosine, inicialmente usado para tratamento de câncer, foi aprovado pelo Food and Drug Administration (FDA) para tratamento da LTA. Quando usado para

o tratamento da LTA, apresentou taxa de cura similar aos antimonais em alguns países, mas a resposta clínica é variável, devendo-se ter atenção especial quando usado no tratamento de LTA adquirida nas Américas (DAVID; CRAFT, 2009). A cura é mais lenta quando comparada aos antimonais (SOTO et al., 2008). As vantagens do seu uso em relação aos antimonais são o uso via oral e menos efeitos colaterais, principalmente náuseas, vômitos, diarreia e elevação da creatinina (SOTO et al., 2001). É uma opção para pacientes com leishmaniose resistente aos antimonais ou que exibem resistência cruzada à anfotericina B (HADIGUI et al., 2007).

A paromomicina é um aminoglicosídeo que pode ser usado por via parenteral ou intralesional. Estudo de meta-análise demonstrou que ela é tão eficaz quanto os antimonais (KIM et al., 2009). A paromomicina foi comparada recentemente com a anfotericina B no tratamento da LV em Bihar (Índia), demonstrando-se ser tão eficaz quanto a primeira, no entanto, também com efeitos colaterais frequentes (SUNDAR et al., 2007).

Alopurinol isoladamente, ou em associação com antimonais, é usado no tratamento de LTA no Velho Mundo e no Novo Mundo, com resultados controversos (GOTO; LINDOSO, 2010). Outras drogas são foram testadas, porém ainda com resultados inconsistentes, como a azitromicina, cetoconazol, rifampicina.

Terapias locais como uso de paromomicina, cetoconazol, antimonais, azitromicina e imiquimod demonstram resultados variáveis e são mais adotadas na LTA do Velho Mundo, não sendo usadas na LTA do Novo Mundo pelo risco de progressão da doença para a forma mucosa (GOTO; LINDOSO, 2010).

Tratamentos físicos se baseiam no fato de as formas promastigotas serem sensíveis ao uso de calor e frio locais, porém também são usados apenas na LTA do Velho Mundo. A combinação de antimonais e imunomoduladores pode ser um tratamento alternativo para pacientes com LTA refratários ao uso isolado de antimonais (GOTO; LINDOSO, 2010). A imunoterapia pode ser usada em pacientes que têm uma resposta imune deficiente contra o parasita, sendo, portanto, uma forma de aumentar a resposta imune específica. Antígenos da Leishmania, isoladamente ou em associação com outros antígenos, como BCG, são utilizados com sucesso parcial na LTA (GOTO; LINDOSO, 2010).

1.5 Envolvimento Renal na Leishmaniose Visceral (Calazar)

O envolvimento renal na LV é descrito por vários autores, desde alterações inespecíficas no sumário de urina até vários tipos histológicos de glomerulonefrites (SALGADO-FILHO et al., 2003; CHAIGNE et al., 2004; DUVIC et al., 1999). Os relatos das repercussões clínicas destas lesões em seres humanos, entretanto, ainda são escassos. A maioria dos estudos relata as alterações histopatológicas, porém sem correlação com as alterações clínicas e laboratoriais antes e após o tratamento (ANDRADE; LABUKI, 1972; CARAVACA et al., 1991; DUARTE et al., 1983; NIETO et al., 1992). Hematúria microscópica e piúria foram detectados em mais da metade dos pacientes estudados (DUTRA et al., 1985; SALGADO et al., 2003). Dutra et al. (1985) detectaram proteinúria não nefrótica em quase 60% de sua amostra.

Vários tipos histológicos de glomerulonefrites (GN) já foram descritos em pacientes com calazar. Ghaigne et al. (2004) descreveram o caso de um paciente jovem com GN necrotizante associada à LV. Leblond et al. (1984) relataram um caso de glomeruloesclerose focal e segmentar (GESF) na forma colapsante em um paciente com LV. Também já foram descritos casos de síndrome nefrótica, por lesões mínimas, assim como GN membranoproliferativa (GNMP), que é a GN mais comumente associada a infecções crônicas (BOUKTHIR S et al., 1994; DUVIC et al., 1999).

Insuficiência renal aguda é descrita por alguns mecanismos: nefrite intersticial secundária à deposição de componentes do parasita no interstício (animais experimentais) (CONCILMAN, 1988), hipersensibilidade aos antimoniais (CUCÉ et al., 1990; DUARTE S et al., 1983) e por deposição de imunocomplexos nos glomérulos levando à glomerulonefrite rapidamente progressiva (ROBERTS et al., 2000). Esses achados também foram confirmados em cães infectados pela Leishmania, onde se evidenciaram nefrite intersticial, GNMP e GESF (NIETO et al., 1992; PALACIO et al., 1997).

Disfunção tubular renal em pacientes com LV também foi descrita, manifestando-se como defeito na concentração e acidificação da urina, sem

expressão clínica (LIMA-VERDE et al., 2007). Outro estudo prospectivo com 11 pacientes com LV, que analisou a proteína ligadora de retinol (RBP) na urina, também demonstrou lesão tubular proximal em quase metade dos pacientes estudados (SALGADO-FILHO et al., 2003).

Também foram relatados casos de calazar em pacientes transplantados renais, levando ao crescimento da morbimortalidade e IRA reversível com tratamento (RAJARAM et al., 2002; SABATTINI et al., 2002; SIPSAS et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2008b). Oliveira et al. (2008b) demonstraram que, em pacientes transplantados renais que vivem em áreas endêmicas para a LV e que apresentem febre prolongada, este diagnóstico deve ser sempre lembrado, principalmente se associado a alguma citopenia. Dos quatro pacientes relatados, três apresentaram IRA relacionada à desidratação e nefrotoxicidade pelo uso de antibióticos e da anfotericina B lipossomal. Nesses casos, o tratamento com os antimoniais é formalmente contra-indicado, devendo-se usar a anfotericina B lipossomal.

1.6 Envolvimento Renal na LTA

Na LTA, os dados disponíveis na literatura em relação ao desenvolvimento de disfunção renal pela doença são escassos. A disfunção renal, descrita nesses casos está mais relacionada ao uso dos antimoniais pentavalentes.

Os antimoniais pentavalentes são rapidamente eliminados pelos rins (MELBY et al., 1992). Logo, em situações em que os pacientes têm disfunção renal, deve-se evitar seu uso em decorrência do aumento de sua toxicidade cardíaca e piora da função renal. Também é relatado defeito na concentração urinária, sendo o próprio metal pesado usado na composição da droga o principal responsável (CUCÉ et al., 1990). Insuficiência renal aguda pode ocorrer por deposição maciça de imunocomplexos formados pela quebra da *Leishmania* determinada pelos antimonais, similar ao fenômeno de Hexheimer (RODRIGUES et al., 1999). Sampaio et al. (1997) avaliaram 11 pacientes com leishmaniose cutaneomucosa que receberam antimonial pentavalente em dose dobrada 40mg Sb^v/kg/dia por 30 dias. No estudo de Sampaio et al., um paciente apresentou insuficiência renal aguda reversível. Em oito pacientes observou-se uma redução da TFG após 30 dias de tratamento, da mesma forma que

se evidenciou disfunção tubular renal distal e proximal, como diminuição da capacidade de concentração urinária e aumento na fração de excreção de sódio respectivamente.

Excepcionalmente, o antimoniato de meglumina pode causar IRA por nefrite tubulointersticial pela reação de hipersensibilidade (CUCÉ et al., 1990).

Em doses baixas e por curto período, os antimoniais pentavalentes têm baixa toxicidade renal. No tratamento da LTA, entretanto muitas vezes há necessidade de se utilizar doses mais altas e por mais tempo, o que pode aumentar sua toxicidade. Existem relatos de proteinúria e IRA (BALSAN et al., 1992; CUCÉ et al., 1990; SAMPAIO et al., 1980; SAMPAIO et al., 1991). O comprometimento da capacidade de concentração urinária sem redução da TFG foi demonstrado por Veiga et al., ao estudarem modelos de ratos infectados pela *Leishmania* e tratados com doses elevadas e antimoniato de meglumina intraperitoneal. Essa alteração na capacidade de concentração urinária foi acarretada pela interferência na ação do hormônio antidiurético e também por ação direta da droga nas células tubulares (VEIGA et al., 1990). Dose elevada de antimoniato de meglumina também causou redução da filtração glomerular.

A leishmaniose tegumentar americana tem elevada incidência na região do Cariri cearense. A baixa aderência ao tratamento favorece o desenvolvimento de formas mucocutâneas, que requerem doses mais elevadas dos antimoniais por períodos mais prolongados, o que aumenta ainda mais a toxicidade da droga. Por esses motivos, um estudo mais detalhado dos efeitos destas drogas na função renal é fundamental. A escassez de dados na literatura relativos aos efeitos nefrotóxicos dos antimoniais pentavalentes também reforça a importância deste estudo. Como a LTA é uma doença crônica, muitas vezes com meses de evolução, também é importante avaliar se a exposição crônica à elevada carga antigênica do parasito pode, independentemente do tratamento, determinar algum grau de disfunção renal.

1.7 Proteínas Transportadoras na Urina

O uso de biomarcadores na urina para diagnosticar doenças é uma prática antiga, usado na medicina investigativa ao longo de todo século XX e início do século XXI. Os estudos que buscam identificar estes biomarcadores baseiam-se no conhecimento fisiopatológico das doenças (PISITKUM et al., 2006). As proteínas identificadas na urina são aquelas solúveis e presentes nos elementos do sedimento urinário. Estas últimas precipitam em centrifugação de baixa velocidade, já e os exossomas são proteínas de muito baixa densidade que só sedimentam após ultracentrifugação. Num ensaio com urina coletada de seres humanos adultos e saudáveis, observou-se que, do total de proteínas excretadas, cerca de 48% eram de proteínas incluídas no sedimento, 49% eram de proteínas solúveis e apenas 3% estavam em exossomas (ZHOU et al., 2006). As proteínas solúveis na urina são provenientes da filtração glomerular, que impede a perda de grandes quantidades de proteínas de alto peso molecular. Apenas uma pequena quantidade de albumina e globulinas, que são macromoléculas, é eliminada na urina. Peptídeos e proteínas de baixo peso molecular (<10KDa), entretanto, são livremente filtradas. São estas: β 2-microglobulina, cadeias leves de imunoglobulinas, proteínas ligadoras de retinol e aminoácidos. Estas proteínas são rapidamente reabsorvidas no túbulo contorcido proximal (TCP) e proteolisadas. Aumento na excreção destas proteínas na urina final pode ser reflexo de uma redução na concentração plasmática, uma redução da filtração glomerular ou uma redução na reabsorção destas, indicando uma disfunção tubular.

Algumas das proteínas solúveis originam-se como proteínas ligadas à membrana celular clivadas por proteólise. Um exemplo é a proteína de Tamm-Horsfal, também chamada de uromodulina, secretada pelo TCP e alça de Henle. É a mais abundante na urina e sua presença pode interferir na identificação de outras proteínas, caso não seja removida (PISITKUN et al., 2004).

As proteínas dos componentes da fase sólida do sedimento urinário são aquelas procedentes de células epiteliais tubulares descamadas para a luz tubular e cilindros. Alguns destes componentes são fragmentos de membrana celular que podem ser liberados para a luz tubular por apoptose ou por microvilos da membrana (PISITKUN et al., 2006).

A urina também contém numerosos exossomas que se originam de cada tipo de célula epitelial, como podócitos, células epiteliais do TCP, TCD e células epiteliais transicionais (PISITKUM et al., 2004). Os exossomas são vesículas (< 80 nm), que se originam **como vesículas internas** dos corpos multivesiculares e são excretados na urina quando a membrana externa **dos corpos** se funde com a membrana plasmática (JOHNSTONE et al., 1987). Estes exossomas podem ser isolados na urina por centrifugação de alta velocidade ou ultracentrifugação (17.000 x g) e parecem ser a melhor fonte de biomarcadores para diagnóstico de tubulopatias.

A mensuração destes exossomas urinários deve ser feita em amostra isolada e randômica, sendo normalizada com a creatinina urinária e comparada com controles sadios, pois pode haver variações fisiológicas, dependendo da osmolalidade urinária.

McKee et al. (2000) demonstraram que os principais transportadores de sódio expressos ao longo dos néfrons podem ser identificados na urina e podem ser usados na prática **da** clínica para diagnóstico e/ou monitoramento das desordens na regulação do volume do fluido extracelular ou de regulação da pressão arterial. O trocador sódio-hidrogênio do tipo 3 (NHE3) é a principal rota para transporte de sódio através da membrana plasmática apical do TCP. O NKCC2 é responsável pela reabsorção de sódio no ramo espesso ascendente da alça de Henle, segmento que é importante na manutenção do gradiente medular e, conseqüentemente, na regulação da excreção de água (mecanismo de contracorrente) e na diluição do fluido tubular que chega ao TCD. É mais implicado no balanço da água do que no controle fino do sódio. A pendrina é expressa na membrana apical das células intercaladas não-tipo A e trocam o cloro (reabsorvendo) por bicarbonato (secretando).

Os transportadores renais, como os cotransportadores Na-Pi tipo IIa (Na-Pi-IIa) e Na-K-2Cl (NKCC2), são usados na avaliação de disfunção tubular renal (SEGURO et al., 2004). Nesse estudo, Seguro et al. demonstraram que a poliúria e o deficit de concentração urinária em pacientes com encefalite não relacionada à infecção pelo HIV poderiam ser explicados, pelo menos em parte, pela downregulation do NKCC2 e AQP2. Kim et al. (2003) demonstraram que em animais

de laboratório com Diabetes insipidus induzido por lítio havia maior expressão dos transportadores renais ácido-básicos como a H⁺-ATPase, principalmente na medula renal. (sai daqui e vai estar na discussão)

Em pacientes com LTA e disfunção tubular renal induzida pela própria doença ou pelo tratamento podem alterar estes transportadores urinários, não sendo identificados relatos na literatura.

2 PERGUNTA DE PARTIDA

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) pode causar alterações na função renal ou estas alterações são apenas consequência do seu tratamento com antimoniais pentavalentes em doses elevadas?

3 HIPÓTESES

- A leishmaniose tegumentar americana pode causar disfunção glomerular e/ou tubular, independentemente do tratamento, assim como alterações nos transportadores renais;
- O uso de antimoniais pentavalentes no tratamento da LTA determina disfunção glomerular e/ou tubular, independentemente da doença, dose e tempo de tratamento; e
- Os pacientes que desenvolvem disfunção renal pela LTA têm maior incidência da toxicidade do antimoniato de meglumina.

4 OBJETIVOS

4.1 Geral

Avaliar se a LTA e/ou o tratamento com antimoniato de meglumina na dose recomendada pela OMS pode levar ao desenvolvimento de disfunção renal.

4.2 Secundários

- Avaliar a função glomerular antes e após o tratamento com antimoniato de meglumina;
- Avaliar a função tubular proximal e distal antes e após o tratamento com antimoniato de meglumina;
- Avaliar se existe correlação entre o tempo de doença e o desenvolvimento da disfunção renal;
- Observar se o desenvolvimento de disfunção tubular renal pela LTA aumenta a toxicidade antimoniato de meglumina;
- Examinar a expressão de transportadores tubulares renais na urina dos pacientes antes do tratamento e correlacionar com as alterações bioquímicas encontradas.

5 METODOLOGIA

5.1 Tipo de Estudo

Ensaio clínico, observacional, prospectivo e controlado.

5.2 População do Estudo

De um total inicial de 59 pacientes, foram excluídos 22, sendo oito por apresentarem exame histopatológico negativo para *Leishmania*, nove por terem idade menor do que 15 ou maior do que 60 anos, dois pela recusa em assinar o TCLE, dois por apresentarem hipertensão arterial e/ou Diabetes melito e um por ter feito uso do glucantime nos últimos 30 dias. Foram estudados 37 pacientes com idade entre 15 e 60 anos, de ambos os gêneros, com diagnóstico clínico, epidemiológico, parasitológico de leishmaniose tegumentar americana. Após esclarecimento adequado a respeito dos objetivos do estudo e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, foram realizados anamnese e exame físico completo na primeira consulta ambulatorial. Em seguida, foi agendada para cada paciente outra consulta para realização das provas de função renal. Os pacientes foram orientados a permanecer em jejum absoluto de 12 horas na noite que antecedeu a realização dos exames.

O grupo de estudo foi comparado com um grupo controle constituído de dez voluntários sadios procedentes do Município de Barbalha com a mesma faixa etária e sem história de doenças renais prévias e que foram submetidos aos mesmos testes de função renal realizados pelo grupo de estudo (tabela 1).

O protocolo do estudo foi submetido à análise para aprovação pelo Comitê de Ética do Hospital Universitário Walter Cantídio da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará (UFC), sendo respeitados os aspectos éticos regidos pela Res. N 196/96, do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde (CNS/MS – Brasil).

5.3 Caracterização do Local do Estudo

Foram estudados pacientes encaminhados ao ambulatório especializado em leishmaniose no Centro de Saúde Leão Sampaio de atenção secundária, integrado ao Sistema Único de Saúde (SUS), no Município de Barbalha-CE, no período de julho de 2008 a agosto de 2009.

5.4 Critérios de Inclusão

- Pacientes de ambos os sexos.
- Idade maior ou igual a 15 anos e menor ou igual a 60 anos.
- Diagnóstico de leishmaniose tegumentar americana epidemiológico, clínico, parasitológico e imunológico.
- Assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido após esclarecimento adequado em relação aos testes de função renal a serem realizados.

5.5 Critérios de Exclusão

- Pacientes que fizeram uso dos antimoniais pentavalentes nos últimos 30 dias.
- Pacientes com diagnóstico de Diabetes melito dos tipo 1 e 2, hipertensão arterial sistêmica, insuficiência cardíaca congestiva, nefrolitíase, insuficiência renal crônica prévia, lúpus eritematoso sistêmico e outras colagenoses.
- Uso de drogas nefrotóxicas, exceto aquelas usadas no tratamento específico da doença.

- Pacientes com hiperssensibilidade previamente conhecida ao antimoniato de meglumina.

5.6 Diagnóstico da Leishmaniose Tegumentar Americana

O diagnóstico da LTA foi baseado no:

- quadro clínico (MANSON, 1987; FUNASA 2000);
- identificação do parasita – pesquisa direta das formas amastigosta em material obtido da lesão por biopsia da borda, corado pela **Giemsa** ou Leishman (GONTIJO et al., 2003; HERWALDT, 1999; FURTADO, 1980; GRIMALDI JR et al., 1984); e
- diagnóstico imunológico – intradermorreação de Montenegro (MONTENEGRO, 1980; MENDONÇA et al., 1988)

5.7 Tratamento Específico da LTA

Todos os pacientes foram submetidos ao tratamento específico com N-metilglucamina (GLUCANTIME[®]) na dose de 20mg Sb^v/kg/dia por 20 dias consecutivos (WHO, 2000).

5.8 Parâmetros Estudados

5.8.1 Características clínicas

- a) Identificação: nome, idade, sexo, cor, profissão, escolaridade, naturalidade, procedência.
- b) Tempo de doença – decorrido entre o primeiro sintoma e o diagnóstico.
- c) Intradermorreação de Montenegro (IDRM).
- d) Formas clínicas: leishmaniose cutânea e mucosa ou mucocutânea.

e) Número de lesões cutâneas.

f) Exame físico: pressão arterial sistólica e diastólica, peso, estatura e índice de massa corporal (IMC).

5.8.2 Avaliação laboratorial geral

Amostra de sangue foi coletada em jejum para realização do hemograma completo, velocidade de hemossedimentação (VSH), glicemia de jejum, ureia (P_u), creatinina (P_{Cr}), sódio (P_{Na+}), potássio (P_{K+}), cloro (P_{Cl-}), bicarbonato (P_{HCO_3-}), cálcio ($P_{Ca^{++}}$), fósforo (P_{PO_4-}) e magnésio (P_{Mg+}) plasmáticos, gasometria venosa antes e após o cloreto de cálcio, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), bilirrubinas totais e frações, proteínas totais, albumina, globulinas, fosfatase alcalina, amilase e sumário de urina. Todos estes testes foram realizados antes do início do tratamento específico em 48 a 72 horas após o fim do tratamento.

A urina foi coletada após jejum de líquidos e alimentos de 12 horas, na chegada do paciente ao serviço e antes da administração da desmopressina nasal e do cloreto de cálcio (tempo zero - T0) e após quatro horas da administração destes (tempo 4 – T4). Nesta amostra do tempo zero, foram feitas urinálise, dosagens de eletrólitos e microalbuminúria normalizada pela creatinina urinária. Uma parte da urina coletada foi congelada de imediato em nitrogênio líquido para posterior identificação dos exossomas urinários.

5.8.3 Parâmetros calculados

a) Taxa de filtração glomerular: estimada por meio do clearance de creatinina endógena calculado pela equação de Cockcroft & Gault (K/DOQI, 2002; TRAYNOR et al., 2006; ROSE, 2001):

$$ClCr = (140 - Id) \times \text{Peso} / 72 \times P_{Cr}, \text{ onde}$$

ClCr – Clearance de creatinina

P_{Cr} □ Concentração de creatinina plasmática em mg/dl

Id □ Idade em anos

- b) Fração de excreção de sódio, potássio, cloro, cálcio, fósforo, magnésio (GIEBISCH et al., 1996; ROSE, 2001): calculada pelas equações abaixo e expressas em %:

$$FE_{Na^+} = (U_{Na^+}/P_{Na^+}) / (U_{cr}/P_{cr}) \times 100$$

$$FE_{K^+} = (U_{K^+}/P_{K^+}) / (U_{cr}/P_{cr}) \times 100$$

$$FE_{Cl^-} = (U_{Cl^-}/P_{Cl^-}) / (U_{cr}/P_{cr}) \times 100$$

$$FE_{Ca^{++}} = (U_{Ca^{++}}/P_{Ca^{++}}) / (U_{cr}/P_{cr}) \times 100$$

$$FE_{PO_4} = (U_{PO_4}/P_{PO_4}) / (U_{cr}/P_{cr}) \times 100$$

$$FE_{Mg^{++}} = U_{Mg^{++}}/(P_{Mg^{++}} \times 0,7) / (U_{cr}/P_{cr}) \times 100$$

onde:

U_{Na^+} , U_{K^+} , U_{Cl^-} , $U_{Ca^{++}}$, U_{PO_4} , $U_{Mg^{++}}$ □ concentração urinária de sódio, potássio, cloro, cálcio, fósforo, magnésio.

P_{Na^+} e P_{K^+} , P_{Cl^-} , $P_{Ca^{++}}$, P_{PO_4} , $P_{Mg^{++}}$ □ concentração plasmática de sódio, potássio, cloro, cálcio, fósforo, magnésio.

U_{cr} e P_{cr} □ concentração urinária e plasmática de creatinina.

- c) Relação da osmolalidade urinária e plasmática: foi calculada pela fórmula (ROSE, 2001) – U/P_{osm} .

- d) Anion gap plasmático: foi calculado pela fórmula –

$$P_{AG} = (Na^+ + K^+) - (Cl^- + HCO_3^-).$$

- e) Osmolalidade plasmática: expressa em mOsmol/kg. H₂O (ROSE, 1986)

$$Posm = 2 \times Na^+ + Glic/18 + BUN/2,8,$$

onde

P_{osm} □ osmolalidade plasmática

Na^+ □ sódio plasmático

Glic □ glicemia de jejum

BUN □ nitrogênio uréico sanguíneo, obtido pela divisão da ureia plasmática por dois.

5.8.4 Teste de acidificação urinária

O teste de acidificação urinária vem sendo utilizado há décadas para avaliar uma das funções tubulares renais. O agente acidificante utilizado foi o cloreto de cálcio (CaCl_2). Os pacientes foram orientados a permanecer em jejum absoluto após as 19 horas na noite que antecederia o teste. No dia do teste, eles compareciam ao Centro e eram orientados a colher a primeira amostra de urina (T0) após esvaziamento da bexiga as 07h00min e era também colhida amostra de sangue venoso em seringa heparinizada para mensuração do pH e bicarbonato. Em seguida, recebiam o CaCl_2 na dose de 100mg/kg dissolvido em 190ml de água.

Após a ingestão do sal, os pacientes permaneceram no Centro por quatro horas, em jejum. Na quarta hora (T4), as 11h00min, após a ingestão do sal, foi colhida nova amostra de urina para mensurar o U_{pH} . As amostras de urina foram colhidas em óleo mineral.

5.8.5 Teste de concentração urinária

O teste de concentração urinária é outra maneira de avaliar a função tubular renal, avaliando o funcionamento do néfron distal.

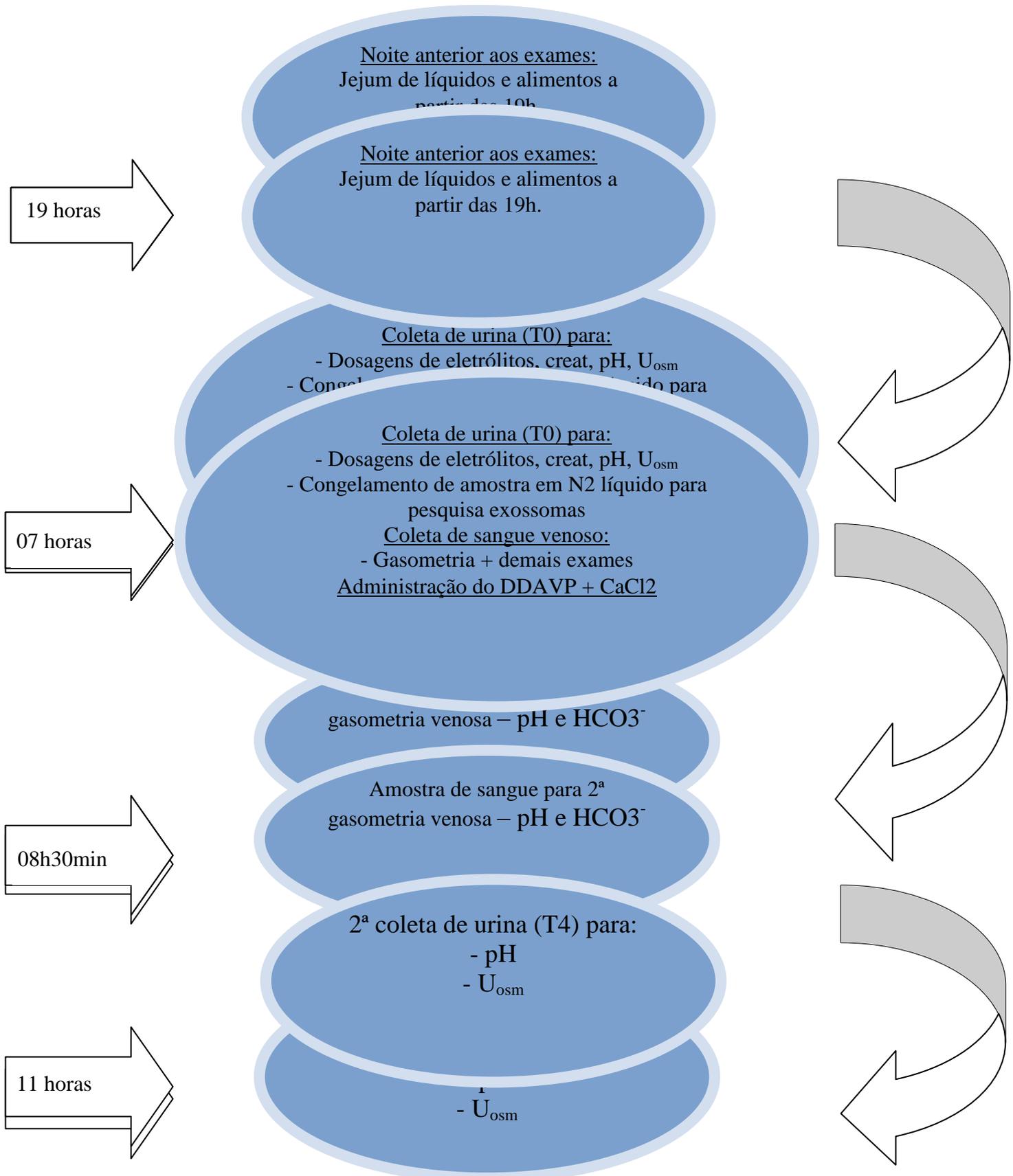
Os pacientes foram orientados a permanecer em jejum absoluto após as 19 horas na noite que antecederia o teste. No dia do teste, eles compareciam ao Centro e eram orientados a colher a primeira amostra de urina as 07h00min após esvaziamento da bexiga para mensuração da osmolalidade urinária (U_{osm} T0) e em seguida foi administrada a desmopressina intranasal (DDAVP[®]) na dose de 20 (g.

Não houve relato de efeitos colaterais relacionados à medicação.

Após a administração do DDAVP[®], os pacientes permaneceram no Centro em jejum. Na quarta hora (T4), as 11h00min, após a administração do DDAVP, foi colhida nova amostra de urina para mensurar U_{osm} T4 .

A capacidade de concentrar a urina foi avaliada pela relação osmolalidade urinária e plasmática (U/P_{osm}) e após o jejum de 12 horas a osmolalidade urinária (U_{osm}) mensurada antes e quatro horas após administração do DDAVP[®] (acetato de desmopressina 20mcg) intranasal (T₀ e T₄) (TRYDING et al., 1987; TRYDING et al., 1988).

5.8.6 Fluxograma da coleta dos exames



5.8.7 Av

Exames realizados antes do início do tratamento com glucantime® e após 48 a 72 horas da última dose

~~As amostras de urina foram coletadas, após jejum noturno de 12 horas, dos controles e pacientes do estudo antes do início do tratamento específico e após 48 a 72 horas da última dose do glucantime. As amostras foram colocadas em tubos plásticos estéreis de 50 ml e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido.~~

As amostras foram retiradas do nitrogênio líquido e colocadas em gelo com adição de inibidor de protease (protease inhibitor cocktail; Sigma, St. Louis, MO, USA) 10µl/ml de urina e em seguida foram submetidas à homogeneização (vortexing) prolongada. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 17.000 g por 15 minutos a 4°C para remover todas as células, fragmentos maiores de membrana e outros debris. O sobrenadante foi centrifugado a 200.000 g por uma hora a 4°C para obter pellets de membrana de baixa densidade. Os pellets foram suspensos em uma solução de isolamento (200 mM Mannitol, 80 mM Hepes, and 41 mM KOH, pH 7.5) com inibidores de protease. Todas as amostras de proteínas urinárias foram armazenadas em freezer a -80°C (GONZALEZ et al., 2009; HOFFERT et al., 2007).

5.8.7.1 Eletroforese e immunoblotting

Amostras de frações da membrana foram incubadas tanto em minigel de poliacrilamida a 12,5% (para AQP2), quanto em minigel de poliacrilamida a 10% (para NHE3, NKCC2, H⁺-ATPase e pendrina). Quantidades iniciais para o gel de eletroforese foram ajustadas para equalizar a concentração de creatinina urinária. Depois de transferir por eletrodiluição para membranas de nitrocelulose (PolyScreen, PVDF Transfer; Life Science Products, Boston, MA, USA), os blots foram tamponados com leite a 5% e tween 20 em PBS (cloreto de sódio a 8,7g/L, fosfato dibásico 7,2 mM e fosfato monobásico 2,8 mM) por 1 hora. Blots foram incubados com um dos seguintes: anti-AQP2 (1:2000); anticorpo anti-NKCC2 (0.12 µg/ml); anticorpo anti-NHE3 (1:500); H⁺-ATPase (1:500) e pendrina (1:1000). A reação foi visualizada com anticorpo secundário conjugado com horseradish - peroxidase e evidenciado por sistema de detecção por quimioluminescência (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ, USA).

5.9 Parâmetros de Disfunção Renal

- Filtração glomerular abaixo de 90 ml/min, estimada pelo clearance de creatinina calculado pela fórmula de Cockcroft & Gault (K/DOQI, 2002).
- Creatinina plasmática - > 1,2 mg/dl (K/DOQI, 2002).
- Excreção urinária de proteínas acima de 150 mg/dia (ROSE, 1987).
- Relação osmolalidade urinária / plasmática (U/P_{osm}) < 2,8.
- Fração de excreção de sódio > 1,6 2% (GIEBISCH et al., 1996; ROSE, 2001).
- Fração de excreção de potássio > 15 10% (GIEBISCH et al., 1996; ROSE, 2001).
- pH urinário > 5,50 em T4.
- Microalbuminúria > 30 mg/g de creatinina (ROSE, 2004).

5.10 Métodos Analíticos

Hemograma: a contagem de eritrócitos, leucócitos e a dosagem de hemoglobina foram efetuados em contador automático de CELM CC 530 e a determinação do hematócrito em microcentrifuga BIO ENG. A contagem diferencial de leucócitos foi determinada em esfregaços de sangue, após coloração com panóptico rápido.

Ureia: determinada pelo método de uricase colorimétrico (Labtest→). Os resultados foram expressos em mg/dl.

Creatinina sérica e urinária: determinada pelo método colorimétrico, ácido pícrico, de Taussky e Bonsness (Labtest→). Os resultados foram expressos em mg/dl.

Sódio, potássio (P_{Na+} e P_{K+}) sérico e urinário: determinados por técnica de fotometria de chama com espectrofotômetro, modelo B462 MICRONAL (Instrumentation Laboratory, Inc. EUA). Os resultados foram expressos em mEq/L.

Albumina: determinada pela reação de bromocresol (labtest→). Os resultados foram expressos em g/dl. Globulina: determinada pela reação de bromocresol (labtest→). Os resultados foram expressos em g/dl.

Glicose: determinada pelo método colorimétrico glicoseoxidase (Labtest→). Os resultados foram expressos em mg/dl.

Fosfatase alcalina: determinada pelo método cinético fosfatase alcalina Bowers e Mc Comb modificado (Labtest→). Os resultados foram expressos em U/L.

Amilase: determinada pelo método colorimétrico modificado (Caraway modificado). Resultados expressos em U/dl.

pH, bicarbonato (HCO_3^-): foram determinados por meio do aparelho “Blood gás analyser” (chiron diagnostic 238 - Bayer→). Os resultados foram expressos em mEq/L para bicarbonato.

pH urinário (U_{pH}): foi mensurado pelo pHmetro digital pG1000, modelo GEHAKALT.

Osmolalidade urinária: determinada pela técnica de pressão a vapor em osmômetro modelo 5100C (Wescor Inc.EUA). Os resultados foram expressos em mOsm/Kg.H₂O.

Sumário de urina: os componentes glicose, urobilina, bilirrubina, acetona, proteínas, nitritos, leucócitos, hemoglobina, pH e densidade foram determinados pela fita de urina URI-TEST Inlab→. As células uroteliais, piócitos, hemáceas e bactérias pela sedimentoscopia em microscopia óptica em aumento de 400x.

Microalbuminúria: foi mensurada pelo método de imunoturbidimetria, utilizando-se o kit Tina-quant[→](Roche) e os resultados expressos em mcg/g de creatinina.

5.11 Análise Estatística

A descrição das variáveis foi realizada mediante tabelas de distribuição de frequência e tabelas de contingência para as variáveis categorizadas e as variáveis

quantitativas por intermédio de quadros de medidas descritivas (média desvio-padrão, mediana, mínimo e máximo).

A comparação do grupo caso-controle em relação às variáveis categorizadas foi realizada mediante o Teste Exato, de Fisher. O teste para verificar a normalidade da distribuição de variáveis quantitativas foi realizado pelo Teste de Kolmogorov-Smirnov. A comparação do grupo caso-controle em função das médias das variáveis quantitativas foi realizada pelo Teste t-Student para as variáveis que satisfazem a condição de normalidade na distribuição dos dados e pelo Teste de Mann-Whitney, quando a normalidade da distribuição não é satisfeita.

No grupo de casos, a comparação dos períodos pré e pós-tratamento, para as variáveis quantitativas, foram realizados por meio teste T-Pareado e teste Wilcoxon, respectivamente.

Os resultados foram expressos em %, média \pm desvio-padrão. O valor de P foi considerado estatisticamente significativo quando $< 0,005$.

6 RESULTADOS

Foram estudados 37 pacientes com diagnóstico epidemiológico, clínico, laboratorial e histopatológico de LTA.

A idade média foi de $35,6 \pm 12$ anos, sendo 19 pacientes do sexo masculino (51,4%) e 70% de cor não-branca. Quanto à escolaridade, a maioria dos pacientes (65%) tinha apenas o primeiro grau incompleto, com apenas 24% com segundo grau concluído. Quando analisada a profissão, observou-se que 43% eram agricultores. Dos 37 pacientes que completaram a amostra estudada, 32 eram procedentes de Barbalha-CE, (86,5%), quatro eram do Crato (10,8%) e apenas um era de Missão Velha (2,7%), municípios do sul do Ceará. A intradermorreação de Montenegro (IDRM) foi positiva em 59,5% dos pacientes. Todos tinham LTA na forma cutânea localizada. Dos 37 pacientes, 27 tinham lesão única, sete tinham de duas a quatro lesões e apenas três tinham mais do que quatro lesões. O tempo médio de doença era de $28,5 \pm 20,6$ dias. Outros dados clínicos e demográficos são demonstrados na tabela 1.

TABELA 1. Dados clínicos e demográficos de 37 pacientes com diagnóstico de leishmaniose tegumentar americana (LTA) e dez controles, atendidos na Unidade de Atenção Secundária de Barbalha-CE, entre julho de 2008 e agosto de 2009

Características	LTA (37)	Controle (10)	P
Idade média (anos)	35,6±12	32,3±11,7	0,442
Sexo:			
Masculino	19 (51,4%)	6 (60%)	0,73
Cor:			
Branca	11 (29,7%)	3 (30%)	NS
Não-branca	26 (70,3%)	7 (70%)	NS
Tempo médio de doença (dias)	28,5±20,6	-	-
IDRM (+/total)	22/37	-	-
Número de lesões cutâneas:			
1	27 (72,9%)	-	-
2 a 4	7 (18,9%)	-	-
>4	3 (8,1%)	-	-
Pressão arterial sistólica, mmHg	122 ±10	117 ± 9,5	0,221
Pressão arterial diastólica, mmHg	80 ± 4,7	75 ± 8,5	0,079

Dados expressos em média ± desvio-padrão ou % Teste T Student.

A avaliação laboratorial geral, antes e depois do tratamento com glucantime[®], está demonstrada na tabela 2, estando os valores das médias e desvio-padrão de cada parâmetro a seguir representados.

Tabela 2. Dados laboratoriais dos pacientes com LTA atendidos na Unidade de Atenção Secundária de Barbalha-CE, entre julho de 2008 e agosto de 2009, antes e após o tratamento com glucantime[®]

Exames laboratoriais	Pré	Pós	P
Hematócrito (%)	42,6±4,1	40,5±4,2	0,0052
Hemoglobina (g/%)	13,9±1,2	13,3±1,5	0,019
Leucócitos (p/mm ³)	6.359±1918	6.035±1513	0,269
PLT (p/mm ³)	275.351±66.259	292.702±60.570	0,074
pH sanguíneo	7,35±0,1	7,35±0,1	0,634
HCO ₃ ⁻ (mmol/L)	22±3,9	20±3,5	0,038
Glicemia em jejum (mg/dl)	80±15	80±17	0,915
P _{Na+} (mEq/L)	137±4	137±5	0,704
P _{K+} (mEq/L)	4,1±0,4	4±0,5	0,202
P _{Cl-} (mEq/L)	90±14	92±12	0,418
P _{Ca++} (mEq/L)	9,9±0,8	9,5±0,8	0,016
P _{PO4-} (mEq/L)	3,1±1	3,6±0,8	0,053
P _{Mg++} (mEq/L)	2,3±0,2	2,2±0,2	0,232
Amilase (U/dl)	143±48	148±62	0,666
Bilirrubina Total (mg/dl)	0,5±0,27	0,6±0,23	0,810
Fosfatase alcalina (U/L)	93±33	107±52	0,08
Albumina (g/dl)	4±0,6	4±0,6	0,696
Globulina (g/dl)	3,3±0,86	3,3±0,7	0,135
TGO (g/dl)	34±15	46±36	0,034
TGP (U/L)	28±19	42±33	0,023
VSH (mm/h)	30±21	26±18	0,198
U _{Na+} (mEq/l)	149±71	129±58	0,086
U _{K+} (mEq/l)	39±19	33±19	0,122
U _{Cl-} (mEq/l)	145±62	132±54	0,289
U _{Ca++} (mEq/l)	9,1±2,8	8,7±2,1	0,505
U _{PO4-} (mEq/l)	32±26	28±27	0,254
U _{Mg++} (mEq/l)	2,32±1,1	2,04±0,5	0,136

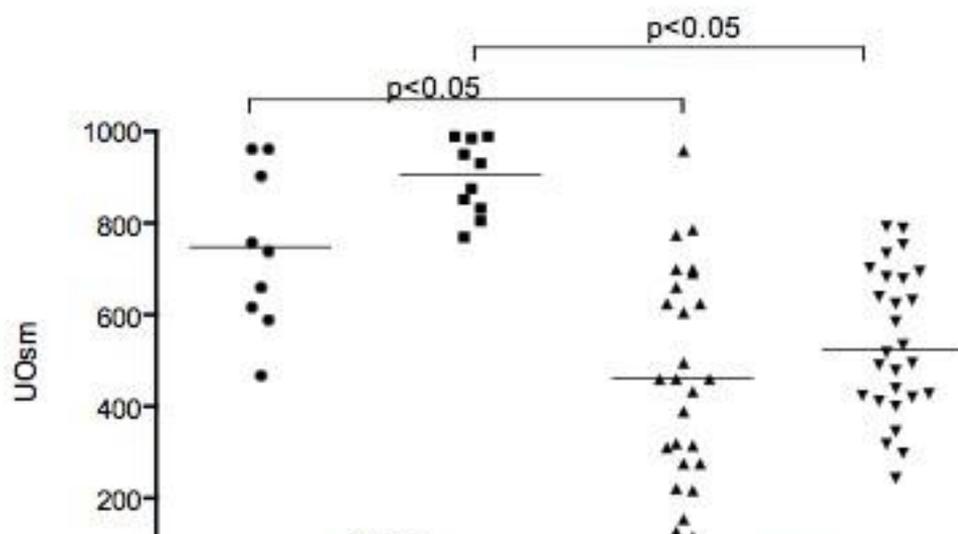
Dados expressos em média±DP. Teste T pareado e Teste Wilcoxon

6.1 Avaliação da Função Renal Pré e Pós-Glucantime®

Em nenhum dos pacientes estudados foi observada disfunção glomerular significativa pré-tratamento ou pós-tratamento comparada com o controle ($109,6 \pm 32$ vs $109,6 \pm 28$ vs $116,3 \pm 23$ ml/min/1,73m², $P=0,694$). Defeito na concentração urinária, baseado na U/Posm ($<2,8$), foi observado em 27 pacientes (77%), não havendo diferença estatística quando comparados pré e pós-tratamento ($2,2 \pm 0,7$ vs $1,9 \pm 0,75$, $P=0,718$) (Tabela 3).

Defeito na acidificação urinária mensurado pela incapacidade de reduzir o pH urinário abaixo de 5,50 após o uso do CaCl₂ foi observado em 15 pacientes (40,5%) com diferença estatisticamente significativa ao se comparar pré e pós-tratamento ($5,50 \pm 0,64$ vs $5,19 \pm 0,60$, $P=0,0066$). Foram encontrados bicarbonato plasmático ($P_{HCO_3^-}$) pré-teste menor que 21mEq/L em 12 pacientes (32,5%) e pH plasmático pré-teste menor que 7,35 em 14 pacientes (38%), antes do tratamento com glucantime®. Após o tratamento, 18 de 36 pacientes (50%) apresentaram $P_{HCO_3^-}$ pré-teste < 21 mEq/L e pH plasmático pré-teste $< 7,35$ em 42% dos casos. Em relação à fração de excreção de sódio, potássio, cálcio, fósforo e magnésio, não se observaram diferenças estatisticamente significativas entre o pré e o pós-tratamento (tabela 5). $FE_{Na^+} > 2\%$ foi encontrado em quatro pacientes (10,8%), $FE_{K^+} > 10\%$ em 11 pacientes (29,7%), $FE_{Ca^{++}} > 3\%$ em dois pacientes (5,4%), $FE_{PO_4^-} > 10\%$ em dez pacientes (29%) e $FE_{Mg^{++}} > 6\%$ em apenas um paciente (2,7%).

Defeitos de concentração e acidificação urinária combinados foram observados em 12 pacientes. As figuras 1 e 2 ilustram U_{osm} e U_{pH} antes e depois do



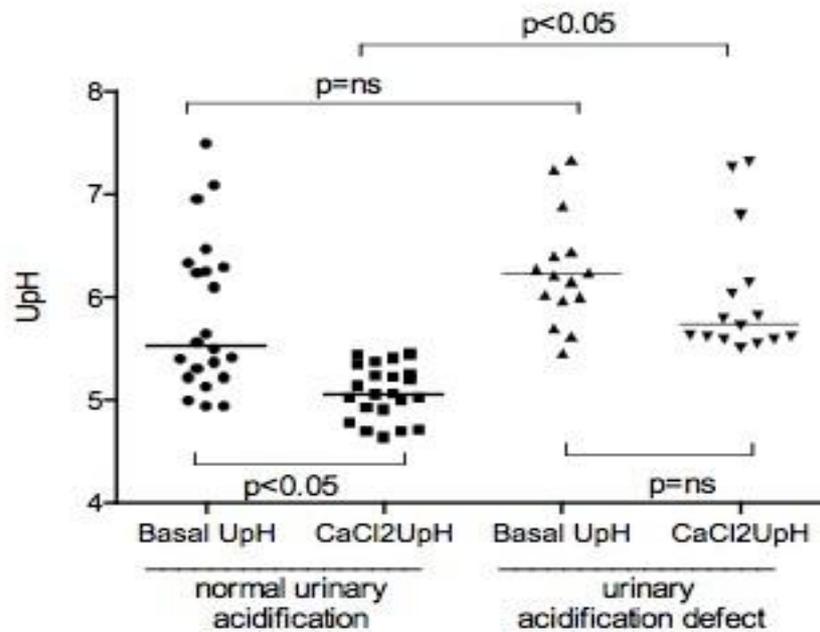


Figura 2. pH urinário, antes e após o teste com cloreto de cálcio (CaCl_2) em pacientes com acidificação urinária normal e anormal com LTA, atendidos na Unidade de Atenção Secundária de Barbalha-CE, entre julho de 2008 e agosto de 2009.

Microalbuminúria maior do que 30mg/g de creatinina foi detectada em 12 de 34 pacientes (35,3%) antes do tratamento com glucantime e em três de 34 pacientes (8,8%) após o tratamento, sendo esta diferença estatisticamente significativa ($23,6 \pm 26$ vs $14,6 \pm 18,9$ mg/g creat, $P=0,0254$). Estas alterações são demonstradas na tabela 3. Destes, dois pacientes tiveram microalbuminúria, isoladamente, nove tiveram microalbuminúria e defeito na concentração urinária e outro teve defeito na acidificação urinária, isoladamente. Nenhum dos pacientes com defeito da acidificação e concentração urinária teve uma relação albumina / creatinina > 30mg/g.

Tabela 3. Comparação da função glomerular e tubular entre pacientes com LTA e controles, atendidos na Unidade de Atenção Secundária de Barbalha-CE, entre julho de 2008 e agosto de 2009, antes e após o tratamento com glucantime[®]

	Pré-glucantime [®] (N=37)	Pós-glucantime [®] (N=37)	Controle (N=10)
P _{creat} (mg/dl)	0,81 ± 0,16	0,81 ± 0,15	0,85 ± 0,18
ClCr (ml/min/1,73m ²)	109,6 ± 31,5	108,4 ± 28,5	116,4 ± 22,7
U/P _{osm} T4	2,19 ± 0,73	1,95 ± 0,73	3,47 ± 0,33
U _{pH} T4	5,45 ± 0,64	5,19 ± 0,60*	4,82 ± 0,20 #
U _{osm} T4	618 ± 202	552 ± 210	965 ± 81 #
FE _{Na} (%)	1,15 ± 0,74	1,35 ± 1,51**	0,73 ± 0,39
FE _k (%)	10 ± 6,6	10,1 ± 7,6	7,50 ± 2,8#
FE _{Ca} (%)	1,07 ± 0,72	1,32 ± 1,01	0,62 ± 0,34#
FE _{PO4} (%)	10,9 ± 9,98	10,9 ± 15,7	9,10 ± 6,4
FE _{Mg} (%)	1,81 ± 1,70	1,90 ± 1,44	0,90 ± 0,40#
Microalbuminúria (mg/g cret)	23,6 ± 26***	14,6 ± 18,9	6,12 ± 4,06

□ Pré vs Pós-glucantime[®], p=0,0066; # Pré e pós-glucantime[®] vs controle, p<0,05; **Pós-glucantime[®] vs controle, p=0,048; ***pré vs pós-glucantime[®], p=0,025 DADOS EM M ± DP. Teste T-student, Mann-whitney.

P_{crea} – Creatinina plasmática

ClCr – Clearance de creatinina

U/P_{osm} – relação osmolalidade urinária e plasmática

U_{pH} em T4 – pH urinário em T

U_{osm} T4 – Osmolalidade urinária em T4

FE_{Na}⁺ - Fração de excreção de sódio

FE_k⁺ - Fração de excreção de potássio

FE_{Ca} - Fração de excreção de cálcio

FE_{Mg} - Fração de excreção de magnésio

Presença de disfunção renal pelos parâmetros previamente definidos em pacientes pré e pós-Glucantime[®] é demonstrada na tabela 4.

Tabela 4. Prevalência de disfunção renal entre pacientes com LTA, atendidos na Unidade de Atenção Secundária de Barbalha-CE, entre julho de 2008 e agosto de 2009, antes e após o tratamento com glucantime®

	Pré-Glucantime®	Pós-Glucantime®	P
$P_{\text{creat}} > 1,2 \text{mg/dl}$	-	-	-
$Cl_{\text{Cr}} < 90 \text{ml/min/1,73m}^2$	11 (30%)	12 (32%)	1,000
Microalbuminúria $> 30 \text{mg/g de creat}$	12 (39%)	3 (10%)	0,004
$U_{\text{osm T4}} < 700 \text{mmOsm/kg H}_2\text{O}$	21 (62%)	24 (71%)	0,508
$U/P_{\text{osm em T4}} < 2,8$	26 (77%)	30 (88%)	0,344
$U_{\text{pH T4}} > 5,5$	15 (40%)	6 (16%)	0,012
$FE_{\text{Na}^+} > 2\%$	5 (14%)	4 (11%)	1,000
$FE_{\text{K}^+} > 10\%$	12 (32%)	11 (30%)	1,000
$FE_{\text{Ca}^{++}} > 3\%$	2 (5%)	2 (5%)	1,000
$FE_{\text{PO}_4} > 10\%$	17 (46%)	10 (27%)	0,143
$FE_{\text{Mg}^{++}} > 6\%$	1 (2,7%)	1 (2,7%)	1,000

Resultados – N (%)

6.2 Exossomas Urinários Pré-Glucantime®

A análise dos exossomas urinários dos pacientes estudados foi realizada antes do tratamento com glucantime® e revelou alterações na expressão de aquaporinas (AQP2) significativamente mais baixas, quando comparadas com grupo controle ($38,5 \pm 12\%$ vs $99,5 \pm 0,5\%$, $p=0,006$) (figura 1). A expressão de NKCC2 foi significativamente mais baixa nos pacientes ($102 \pm 12\%$ vs $176 \pm 15\%$, $p=0,015$) do que nos controles ($100 \pm 0,6\%$ vs $190 \pm 8\%$, $p=0,04$) (figura 2).

Quando se analisados os transportadores urinários envolvidos no processo de acidificação urinária, o NHE3 mostrou maior expressão nos pacientes do que no controle ($176 \pm 15\%$ vs $100 \pm 0,6\%$, $p=0,015$), assim como a H^+ -ATPase ($190 \pm 8\%$ vs $98 \pm 0,2\%$, $p=0,04$) e pendrina ($176 \pm 15\%$ vs $100 \pm 0,6\%$, $p=0,015$) (figuras 3, 4 e 5).

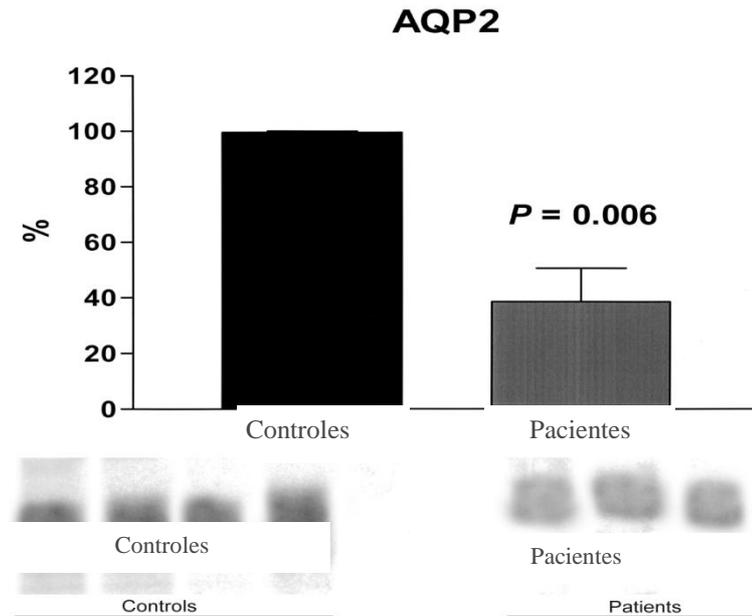


Figura 3. Abundância da AQP2 na fração de exossomas urinários, pelo Western blotting, normalizado pela creatinina em pacientes com LTA e deficit de concentração urinária, atendidos na Unidade de Atenção Secundária de Barbalha-CE, entre julho de 2008 e agosto de 2009, antes do tratamento com glucantime® em relação ao controle.

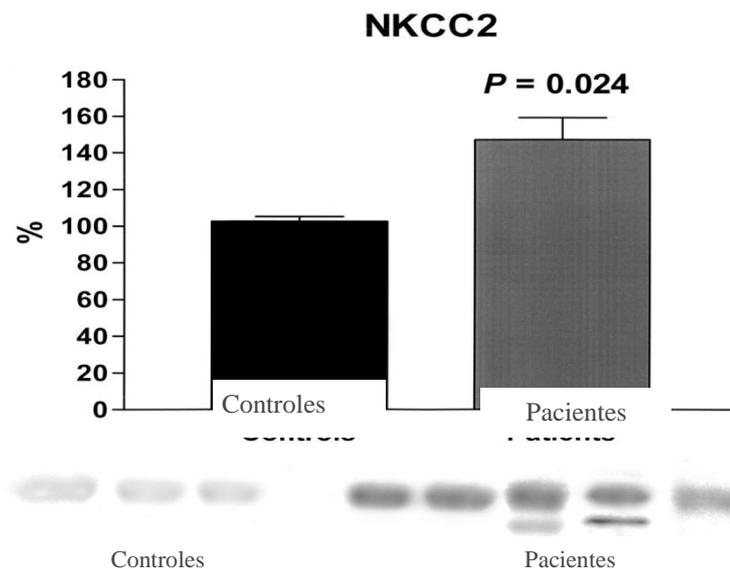


Figura 4. Abundância do NKCC2 na fração de exossomas urinários, pelo Western blotting, normalizado pela creatinina em pacientes com LTA e deficit de concentração urinária, atendidos na Unidade de Atenção Secundária de Barbalha-CE, entre julho de 2008 e agosto de 2009, antes do tratamento com glucantime® em relação ao controle.

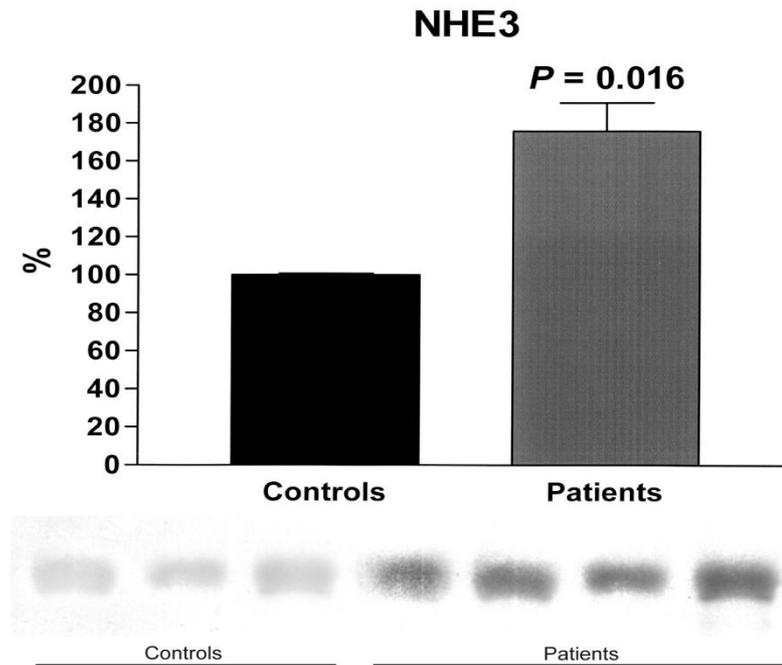


Figura 5. Abundância do NHE3 na fração de exossomas urinários, pelo Western blotting, normalizado pela creatinina em pacientes com LTA e deficit de acidificação urinária, atendidos na Unidade de Atenção Secundária de Barbalha-CE, entre julho de 2008 e agosto de 2009, antes do tratamento com glucantime[®] em relação ao controle.

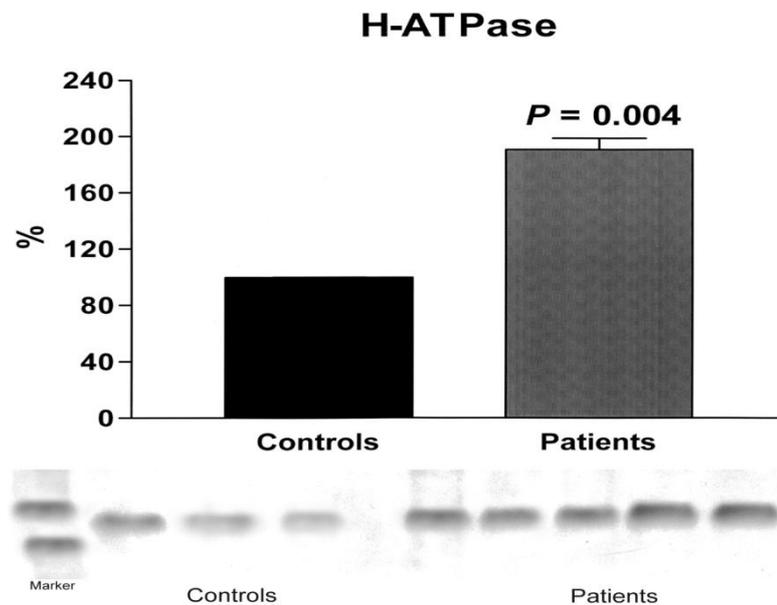


Figura 6. Abundância do H⁺-ATPase na fração de exossomas urinários, pelo Western blotting, normalizado pela creatinina em pacientes com LTA e deficit de acidificação urinária atendidos na Unidade de Atenção Secundária de Barbalha-CE, entre julho de 2008 e agosto de 2009, antes do tratamento com glucantime[®] em relação ao controle.

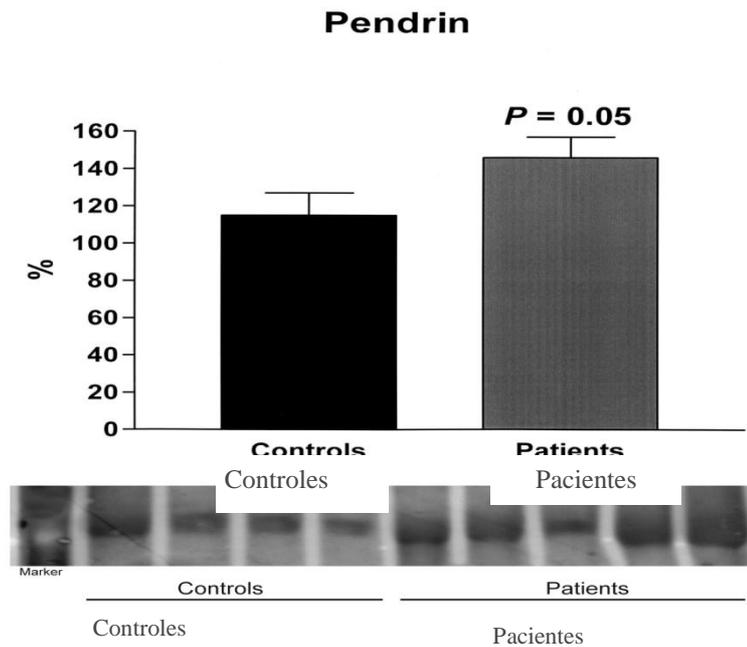


Figura 7. Abundância da pendrina na fração de exossomas urinários, pelo Western blotting, normalizado pela creatinina em pacientes com LTA, e déficit de acidificação urinária atendidos na Unidade de Atenção Secundária de Barbalha-CE, entre julho de 2008 e agosto de 2009, antes do tratamento com glucantime® em relação ao controle.

6.3 Efeitos Adversos Relacionado ao Tratamento com Glucantime

Nenhum dos pacientes apresentou efeitos adversos graves. Do total de pacientes estudados, 5 (13,5%) exibiram febre baixa, mialgias, astenia e outro queixou-se de artralgias e cefaleia.

6.4 Efeitos Adversos Relacionados ao Uso da Desmopressina e Cloreto de Cálcio

Não se observou efeitos adversos relacionados ao uso da desmopressina. Quando se usou o cloreto de cálcio, os efeitos adversos apresentados foram náuseas, epigastralgia em 6 pacientes (16%) e diarreia leve em 3 pacientes (8,1%).

6.5 Limitações

Este estudo apresenta algumas limitações que não invalidam os resultados encontrados na amostra analisada.

A primeira limitação relaciona-se a uma amostra pequena, o que não exclui a possibilidade de que as alterações encontradas estejam relacionadas ao acaso, devendo-se em estudos posteriores aumentar a amostra estudada. As alterações encontradas nos transportadores urinários reforçam as disfunções encontradas nos testes de função tubular.

A análise da microalbuminúria foi realizada apenas uma vez, antes do início do tratamento e após o fim deste não sendo repetida naqueles em que se evidenciaram resultados anormais. Além disto, a análise da microalbuminúria ainda não está bem definida como marcador de disfunção glomerular em doenças infecto-contagiosas, sugerindo-se em estudos posteriores uma dosagem complementar, confirmando-se a anormalidade encontrada.

A análise dos exossomas urinários é uma técnica relativamente nova e a correlação entre dosagens anormais na urina com distúrbios encontrados nos testes de função tubular colocando-os como evento fisiopatológico inicial ainda é meramente especulativa, merecendo estudos adicionais para confirmar esta hipótese.

7 DISCUSSÃO

7.1 Dados Gerais

As leishmanioses podem incidir em qualquer faixa etária, dependendo da maior exposição ao vetor (HERWALDT, 1999). A média de idade dos pacientes estudados por Lima Verde et al. em 2010 foi de 29 ± 11 anos, assim como no estudo de Oliveira et al. (2010), foi de 36 ± 15 anos. Salgado Filho et al. (2003) também estudaram 11 pacientes de menos de 25 anos. A média de idade em 36 pacientes com leishmaniose mucosa foi mais elevada, em torno de $57,6 \pm 15,2$ anos, nesta amostra estudada por Oliveira-Neto et al. (2000). Neste experimento, a idade média da população estudada foi de $35,6 \pm 12$ anos, caracterizando uma população jovem, cuja idade não poderia ser considerada um fator de viés para as alterações na função renal encontradas.

O tempo médio de doença na amostra deste estudo foi de $28,5 \pm 20,6$ dias (sete a 90 dias), o que não caracteriza uma exposição prolongada a altas cargas antigênicas. A forma mucosa da doença está mais frequentemente associada a um maior tempo de doença, estando relacionada a um tratamento inadequado ou cicatrização demorada. Na forma cutânea da LTA, o tempo médio da doença é bastante variável, dependendo do período de incubação, da espécie envolvida e da resposta do hospedeiro, podendo ser tão curto quanto duas semanas ou tão longo quanto dois anos (AKILOV et al., 2007). O diagnóstico precoce está associado a uma busca ativa de casos em áreas endêmicas da doença.

A IDRM foi positiva em 22 de 37 pacientes (59%). Em estudo retrospectivo de 151 pacientes com LTA, 147 (97,2%) tiveram a IDRM positiva (SCHUBACH et al., 2005). A positividade do teste varia de 82 a 89% dos pacientes com LTA localizada (SASSI et al., 1999; REED, 1996). Este teste, no entanto, foi positivo em 75% dos indivíduos não infectados, sem antecedentes da doença e que viviam em áreas endêmicas para LTA (SASSI et al., 1999). Pode ser útil no diagnóstico de LTA em viajantes que vivem em área não endêmica da doença. Ele não distingue infecção atual de infecção anterior, além de ser questionado quanto a

sua importância para diagnóstico em áreas endêmicas (GOTO; LINDOSO, 2010). A IDRM detecta a presença de hipersensibilidade tardia, pois imunologicamente se caracteriza pelo aparecimento de uma resposta celular durante a doença e após a cura da infecção, seja de forma espontânea ou após o tratamento (SHAW, 1999). Quanto ao número de lesões, 27 de 37 (72,9%) da amostra estudada tinham apenas uma lesão. Em estudo de Schubach et al. em 2005, foi observada apenas uma lesão em 69,5% dos pacientes.

7.2 Função Glomerular

Na amostra estudada, o número de pacientes que apresentaram $Cl_{Cr} < 90 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ não apresentou diferença estatística antes e após o tratamento específico (11 de 37 pré-tratamento e 12 de 37 pós-tratamento, $p=1,00$). Não se evidenciou alteração significativa da TFG antes do início do tratamento com glucantime[®], sugerindo que a LTA, de *per se*, não causa disfunção glomerular. Por outro lado, não houve aumento do número de pacientes com $Cl_{Cr} < 90 \text{ ml/min/1,73 m}^2$, sugerindo que o uso do Glucantime[®] na dose preconizada pela OMS, na amostra estudada, não causou disfunção glomerular. Os A maioria dos relatos da disfunção glomerular na LTA são mais relacionados ao tratamento com os antimoniais pentavalentes (CUCÉ et al., 1990; RODRIGUES et al., 1999).

A disfunção renal na leishmaniose visceral (LV) já foi descrita por outros autores (DUTRA et al., 1985; SALGADO-FILHO et al., 2003; CHAIGNE et al., 2004; DUVIC et al., 1999). Lima Verde et al. (2007), em estudo transversal de 50 pacientes com LV demonstraram uma redução da TFG $< 80 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ em 14 pacientes (28%). Em estudo retrospectivo de 224 pacientes com LV, IRA desenvolveu-se em 76 pacientes (33,9%) e a lesão renal contribuiu para o aumento da mortalidade (30,2% x 3,1%; $p < 0,0001$). Os fatores preditivos associados com o desenvolvimento de lesão renal aguda foram gênero masculino, idade avançada e icterícia. Nesse estudo, também ficou evidenciado que a nefrotoxicidade acarretada pela anfotericina B tem papel importante no desenvolvimento da lesão renal aguda (OLIVEIRA et al., 2010). Em estudo retrospectivo, Daher et al. (2008) encontraram insuficiência renal

aguda em 26,3% (15 de 57 pacientes), sendo em oito antes do início do tratamento com anfotericina B.

Outras doenças infectocontagiosas com comprometimento predominantemente de pele e nervos, como a hanseníase, também podem levar à disfunção glomerular. Oliveira et al (2008), num estudo transversal de 59 pacientes com hanseníase, evidenciaram diminuição da taxa de filtração glomerular em 50% dos pacientes, quando considerados $\text{Clcr} < 80\text{ml/min/1,73m}^2$ e 5% quando $\text{Clcr} < 50\text{ml/min/1,73m}^2$. Silva Júnior GB et al. (2006) relataram em seu estudo retrospectivo uma ocorrência de insuficiência renal em 40 de 461 pacientes (8,6%), usando o critério $\text{P}_{\text{Cr}} > 1,4\text{mg/dl}$. Sritharan et al. (1982) também encontraram redução da TFG em todos os pacientes do seu estudo (35 pacientes), principalmente e de modo mais intenso nos pacientes que estavam em reação hansênica (TFG- 55 a 77ml/min), embora também tenham identificado naqueles com a forma lepromatosa não tratada (TFG- 63 a 86 ml/min).

7.2.1 Microalbuminúria

A microalbuminúria é um marcador incipiente de disfunção glomerular nos pacientes com Diabetes melito (MONGENSEN, 1990; RUGGENENTI; REMUZZI, 1998; ISMAIL et al., 1999; RUSSO; BAKRIS, 2002) e também das doenças cardiovasculares (ROSE; BAKRIS, 2004; GERSTEIN et al., 2001; WACHTELL et al., 2003).

Microalbuminúria maior do que 30mg/g de creatinina esteve presente em 35% dos pacientes antes do tratamento e em apenas 8% dos pacientes após o tratamento, sugerindo uma lesão glomerular incipiente induzida pela própria LTA, sem redução da TFG concomitante e uma melhora após o tratamento com Glucantime[®] (39% vs 10%, $p=0,004$). Em estudo prospectivo de 11 pacientes com LV, oito apresentaram microalbuminúria alterada (81,8%) (SALGADO-FILHO et al., 2003). Elnojomi et al. (2010) detectaram microalbuminúria anormal em 35 de 88 (40%) pacientes com LV por meio do ELISA, sem apresentarem disfunção glomerular enfatizando-a também como marcador precoce de disfunção glomerular,. Oliveira et al (2008), identificaram microalbuminúria aumentada em quatro de 59 pacientes (8,5%) com hanseníase na forma multibacilar. Kirsztajn et al. (1993)

identificaram a presença de microalbuminúria acima de 20mg/l, em 15,8% dos 96 pacientes com hanseníase.

Como a avaliação da microalbuminúria foi feita por meio de duas dosagens contingenciais (antes e após o tratamento) neste grupo de pacientes, não se pode afirmar seguramente como um marcador precoce de lesão renal. Desta forma, são necessários estudos prospectivos com uma amostra maior e pelo menos 2 dosagens para definir o papel da microalbuminúria em pacientes com LTA.

7.3 Função Tubular

7.3.1 Capacidade de concentrar a urina

Ao contrário da taxa de filtração glomerular, não há na população adulta valores de referência para a capacidade de concentração renal máxima. De acordo com a literatura, considerou-se deficit de concentração urinária quando a $U/P_{osm} < 2,8$ ou $U_{osm} < 700$ mmOsm/Kg.H₂O (TRYDING et al., 1987; ARONSON; SVENNINGSEN, 1974; DAHER, 1999). O pico de osmolalidade urinária após o uso da desmopressina (DDAVP[®]) é utilizado como teste diagnóstico em crianças com infecção do trato urinário (ABYHOLM, 1979) e também para testar a função tubular renal em adultos (WAHLIN et al., 1980). O DDAVP[®] pode ser administrado por via subcutânea ou intranasal (TRYDING et al., 1987). Ele é superior a outros testes de concentração urinária, tendo menos efeitos colaterais do que o teste da pitressina (ARONSON; SVENNINGSEN, 1974) e é mais prático e confiável do que o teste da deprivação de água.

Na amostra estudada, a capacidade de concentrar a urina foi avaliada pela U/P_{osm} e U_{osm} , medidas após restrição hídrica e jejum de 12 horas noturnas, sensibilizada com o uso do DDAVP intranasal. Nessa amostra, foi evidenciado defeito na concentração urinária em 27 pacientes (77%) antes do tratamento com Glucantime[®], enquanto, após o tratamento, foi registrado em 31 pacientes (88%) ($p=0,344$). Não foi observada diferença estatística na U_{osm} na quarta hora após a desmopressina nasal entre pré e pós- Glucantime[®] ($p=0,508$). Houve, entretanto, diferença quando comparado com o controle (pré e pós-Glucantime[®] vs controle,

$p < 0,05$). Com suporte nestes dados, pode-se sugerir que a LTA pode causar deficit de concentração urinária pelos parâmetros utilizados e que o tratamento com Glucantime[®] não reduziu este defeito, entretanto também não houve piora da lesão.

Em 11 pacientes com leishmaniose cutaneomucosa tratados com glucantime na dose de 40mg/kg por 30 dias, Sampaio et al. (1997) observaram defeito na concentração urinária após jejum hídrico de 16 horas em oito pacientes. Veiga et al. (1990) relataram cinco casos de pacientes com leishmaniose mucocutânea tratada com doses convencionais, porém por período mais prolongado, que desenvolveram dificuldade em concentrar a urina após o tratamento com glucantime. Em 50 pacientes consecutivos com LV, descreveu-se defeito na concentração urinária em 68% deles após teste com DDAVP (LIMA-VERDE, EM et al., 2007).

Estudo de laboratório em preparação de bexiga de sapo, uma estrutura filogeneticamente semelhante ao túbulo coletor de mamífero, demonstrou-se o efeito do antimônio inibindo o fluxo de água osmoticamente induzido (GAGLIARDI et al., 1985). Estudo experimental em ratos com administração de antimonial na dose de 30mg de $Sb^V/100g$ de peso/dia por 30 dias causou alteração na função tubular, sem disfunção glomerular; entretanto, com dose 200mg de $Sb^V/100g$ de peso/dia, houve disfunção glomerular significativa (VEIGA et al., 1990).

Oliveira et al. (2008) detectaram deficit de concentração urinária em 83,9% dos pacientes com hanseníase, tanto na forma paucibacilar, quanto na multibacilar, mesmo sem apresentar estado reacional. Chugh et al. (1983) estudaram 36 pacientes com hanseníase, encontrando incapacidade de concentrar e acidificar a urina em nove pacientes (25%). Foi usado o teste de deprivação de água em 18 horas, esperando-se elevar a $U_{osm} > 800mmosm/Kg.H_2O$. Ponce et al. (1989) encontraram defeito na capacidade de concentrar a urina em seis de nove pacientes, estudando a função tubular renal, sendo todos da forma lepromatosa.

7.3.2 Capacidade de acidificar a urina

O teste clássico de acidificação urinária foi idealizado por Wrong e Davies, com a utilização de cloreto de amônio (NH_4Cl) por três a cinco dias (WRONG; DAVIES, 1959). Alguns pacientes não toleram o uso deste sal, principalmente aqueles com insuficiência hepática e como a população em estudo

fazia uso de drogas potencialmente hepatotóxicas, optou-se pela utilização de um agente alternativo, o cloreto de cálcio (CaCl_2). Estudos são realizados comparando a eficácia deste último em relação ao primeiro (OSTER et al., 1975). A comparação da eficácia dos dois agentes em indivíduos hospitalizados, com patologias que sabidamente não interferiam na função tubular renal, para avaliar a capacidade de acidificação urinária resultou em uma resposta renal inteiramente comparável com o NH_4Cl , o que pode ser recomendado para investigação clínica (OSTER et al., 1975). No estudo de Oster evidenciou-se pouca mudança no pH urinário após a quarta hora da administração do sal. A curta duração deste teste também melhorou a aderência do paciente ao teste.

Na amostra estudada, foi identificado defeito na acidificação urinária em 17 pacientes antes do tratamento, enquanto que, após o tratamento com Glucantime[®], apenas seis pacientes apresentaram $\text{UpH} > 5,5$ (40% vs 16%, $p=0,012$). Estes dados sugerem uma melhora na acidificação urinária com o tratamento específico da LTA. Distúrbio na acidificação urinária é menos comum do que a incapacidade de concentrar a urina conforme relatos na literatura. Incapacidade em reduzir o pH urinário $<5,5$ após teste com cloreto de amônio foi descrito em 64% dos pacientes com LV tratados com glucantime na dose-padrão, na amostra estudada por Lima Verde et al. (2007).

Defeitos combinados de concentração e acidificação urinárias foram observados em 12 pacientes. Comparando aqueles que apresentaram disfunção tubular com o restante dos pacientes, não foram encontradas diferenças em relação idade, sexo, duração da doença, número de lesões cutâneas, positividade da IDRM ou índice de massa corporal. Nos testes laboratoriais, não se encontraram anormalidades significativas nas concentrações plasmáticas e/ou nas frações de excreção de sódio, potássio, cálcio, fósforo entre estes pacientes. Evidenciou-se diferença significativa na concentração plasmática de magnésio entre os pacientes com acidificação anormal e aqueles com acidificação normal (2.15 ± 0.06 vs. 2.33 ± 0.04 , $P = 0.02$). Nenhum dos pacientes com defeito de acidificação ou concentração urinária teve relação albumina/creatinina $> 30\text{mg/g}$. Dos que apresentaram defeito na acidificação isolado, apenas um teve microalbuminúria anormal, sugerindo um defeito tubular sem disfunção glomerular concomitante.

Oliveira et al. (2008), estudando pacientes com hanseníase e baseando-se no estudo o U_{pH} , avaliado após jejum noturno e restrição hídrica de 12 horas seguido do uso de $CaCl_2$, este estava alterado em 44% dos pacientes configurando disfunção tubular distal. Gutman et al. (1973) estudaram a função tubular renal em pacientes com hanseníase com a utilização do teste de acidificação urinária com o cloreto de amônio (NH_4Cl). Foram avaliados 47 pacientes, sendo 21 com a forma lepromatosa, 22 borderline e apenas 4 tuberculóides. Incapacidade de reduzir o pH urinário abaixo de 5,45 foi encontrada em nove pacientes, sendo cinco na forma lepromatosa, três na borderline e um na tuberculóide. No grupo-controle, 29 dos 30 pacientes reduziram o pH urinário abaixo de 5,25. Nestes nove pacientes com defeito de acidificação, a função glomerular foi normal. Ponce et al. (1989) encontraram defeito na acidificação em um de nove pacientes com a forma lepromatosa, estudando-se a função tubular renal. Sriharan et al. (1981) identificaram incapacidade de acidificar a urina em 22 pacientes com a forma lepromatosa ($U_{pH} - 5,9 \pm 0,03$) e em 13 pacientes em reação ($U_{pH} - 6,06 \pm 0,02$) após o uso do cloreto de amônio (NH_4Cl), quando comparados com um grupo-controle sadio ($U_{pH} - 5,23 \pm 0,02$).

7.4 Exossomas Urinários Pré-Glucantime®

Os exossomas urinários são usados de forma cada vez mais frequente. Estudos demonstram que a aquaporina-2 (AQP2) é excretada na urina em forma de vesículas membranosas e que a sua quantidade na urina tem correlação com níveis circulantes, sendo então usada em estudos do balanço corporal de água (KANNO et al., 1995; WEN et al., 1999; MARTIN et al., 1999). Após a identificação da AQP2, passou-se a identificar transportadores urinários expressos em outros segmentos tubulares (McKEE et al., 2000). Estudos prévios revelou que quase todos os transportadores de membrana são naturalmente expressos como complexos de alto peso molecular e podem ser identificados na urina (KLINGEMBERG, 1981). A urina é uma fonte ideal não invasiva de biomarcadores para diagnosticar e classificar doenças renais, pois contêm exossomas com proteínas de membrana e intracelular procedentes de praticamente todos os segmentos dos néfrons, proteínas estas que podem estar alteradas na quantidade ou nas suas propriedades físicas associadas a

doenças renais (HEWITT et al., 2004; ZHOU et al., 2006). Vários transportadores urinários já foram identificados e mostraram-se relevantes para pesquisas futuras, como AQP2, NHE3, NKCC2, H-ATPase, pendrina, entre outros (GONZALES et al., 2009).

Outros exossomas, como os cotransportadores Na-Pi tipo IIa (Na-Pi-IIa) e Na-K-2Cl (NKCC2), também podem ser usados na avaliação de disfunção tubular renal (SEGURO et al., 2004). Seguro et al. demonstraram que em pacientes com encefalite não relacionada à infecção pelo HIV a poliúria e o déficit de concentração urinária poderiam ser explicados, pelo menos em parte, pela downregulation do NKCC2 e AQP2. Kim et al. (2003) demonstraram que em animais de laboratório com Diabetes insipidus induzido por lítio havia maior expressão dos transportadores renais ácido-básicos como a H⁺-ATPase, principalmente na medula renal.

Na amostra deste ensaio, encontrou-se um percentual elevado de pacientes com incapacidade de concentrar a urina, o que foi corroborado por uma menor expressão urinária da AQP2 em relação ao controle, o que poderia podendo, em parte, explicar estes achados. O aumento na expressão de NKCC2 pode estar ocorrendo como um mecanismo de compensação. Também se evidenciaram alterações nos transportadores relacionados à regulação ácido-básica, com expressão urinária significativamente maior de NHE3 (do túbulo proximal), H-ATPase e pendrina (túbulo distal e duto coletor cortical) nos pacientes em comparação aos controles, o que poderia explicar esta desregulação no controle acidobásico.

Localizado no TCP, o co-transportador NHE3 é o principal responsável pela geração e reabsorção de bicarbonato. Um terço da população de células do duto coletor cortical do rim é composto de células intercaladas, as quais são responsáveis pelo ajuste final do balanço ácido-básico (GONZALES et al., 2009). Em resposta à sobrecarga de ácidos ou bases, o duto coletor cortical reabsorve ou secreta mais bicarbonato, respectivamente. Isto é realizado pela atividade coordenada de dois tipos de células intercaladas: células α -intercaladas, as quais são modeladas para secretar ácido por meio da H⁺-ATPase apical e trocador-Cl-/HCO₃ basolateral e células β -intercaladas, as quais são modeladas

para secretar bicarbonato mediante o trocador-Cl/HCO₃ apical e da H⁺-ATPase basolateral. A pendrina é um trocador Cl/HCO₃ - apical presente nas células β-intercaladas do duto coletor cortical. Soleimani et al. (2001) demonstraram, em ratos, que a pendrina é expressa no córtex renal (túbulo proximal e duto coletor cortical) e não na medula renal e que ela é um trocador apical de Cl/HCO₃. É sabido que a acidose metabólica reduz a atividade da pendrina apical nas células β-intercaladas do duto coletor cortical pelo fato de reduzir a expressão da pendrina (PETROVIC et al., 2003; ROYAUX et al., 2001). Foi demonstrado que a expressão da pendrina está aumentada nos exossomas urinários de pacientes com LTA, a qual pode em parte explicar a acidose metabólica vista nestes pacientes. Também foi evidenciado um aumento na expressão de NHE3 e H⁺-ATPase nos exossomas urinários. É demonstrado com frequência aumento na expressão de pendrina em ratos tratados com FK506 e expostos à sobrecarga com NH₄Cl- (MOHEBBI et al., 2009). Em modelos de ratos knockout para a pendrina, evidencia-se que a urina é significativamente mais ácida no baseline com a concentração sérica de HCO₃⁻ elevada, consistente com secreção de HCO₃⁻ diminuída *in vivo* (AMLAL et al., 2010). Também é demonstrado que as células intercaladas do tipo β se transformam em células intercaladas do tipo α em resposta a uma alimentação ácida, um processo que depende da secreção e deposição de uma proteína da matriz extracelular chamada hensina. Al-Awqati et al. (2010) demonstraram que a deleção da hensina das células intercaladas resulta na ausência de células intercaladas do tipo α e consequente desenvolvimento de acidose tubular distal completa. Essencialmente, todas essas células intercaladas no córtex de ratos mutantes são células do tipo β, com pendrina apical (GAO et al., 2010). Em adição, a expressão protéica da pendrina aumenta durante administração de NH₄Cl em ratos tratados com FK506 (MOHEBBI et al., 2009).

É possível que o aumento marcante nas bandas de NHE3 e H⁺-ATPase presente em pacientes com LTA represente um mecanismo compensatório em resposta a uma secreção maior de bicarbonato induzida pelo transportador pendrina. A disfunção tubular renal apresentada por alguns pacientes com LTA estudados aqui é, porém difícil de ser explicada apenas com base nas alterações nas proteínas transportadoras renais descritas. A probabilidade de que outros transportadores estejam envolvidos na acidose metabólica relacionada à LTA não pode ser excluída.

Com arrimo nestes dados, pode-se concluir que a LTA pode causar disfunção tubular renal assintomática, sem comprometimento da filtração glomerular e expressada pela incapacidade de concentração e acidificação urinária. A análise dos transportadores urinários mostrou-se útil na detecção da disfunção no plano molecular. Outros estudos com amostra maior de pacientes devem ser realizados para confirmar se estes achados.

8 CONCLUSÕES

- A leishmaniose tegumentar americana causa alteração da função renal. As alterações detectadas nestes pacientes não causaram repercussão clínica, o que dificulta o diagnóstico da lesão renal.
- A filtração glomerular abaixo de $90 \text{ ml/min/1,73m}^2$ ocorreu em cerca de 30% dos pacientes antes e depois do tratamento, não havendo piora da filtração glomerular com o tratamento específico nas doses recomendadas pela OMS.
- Na avaliação tanto pré quanto pós-glucantime[®], os pacientes apresentaram defeito de concentração urinária, $U/P_{\text{osm}} < 2,8$, em mais de 2/3 dos casos, não havendo piora após o tratamento.
- O defeito de acidificação urinária, $U_{\text{pH}} \text{ em } T_4 < 5,5$, esteve presente em cerca de 40% dos pacientes, antes do início do tratamento e em apenas 16% após o tratamento com glucantime[®], o que demonstra, na amostra estudada, uma melhora na capacidade de acidificação urinária após o tratamento.

- Poucos pacientes apresentaram uma $FE_{Na^+} > 2\%$, mostrando pouco comprometimento do túbulo proximal, porém foi observado que cerca de 30% dos pacientes apresentaram $FE_{K^+} > 10\%$, tanto antes, quanto após o tratamento com glucantime[®], revelando disfunção no túbulo distal.
- Não se observou correlação entre o desenvolvimento entre o tempo de doença e o desenvolvimento de disfunção renal, uma vez que este tempo foi relativamente curto em razão do diagnóstico precoce nos casos estudados.
- Não se demonstrou aumento da toxicidade renal do antimoniato de meglumina naqueles que apresentaram disfunção tubular pré-tratamento.
- A análise dos exossomas urinários contribuiu para a confirmação da disfunção tubular nos pacientes estudados. A expressão de AQP2 significativamente reduzida associada à expressão aumentada, como provável compensação de NKCC2, reforça a disfunção na concentração urinária. Já a expressão aumentada de NHE3 e H^+ -ATPase pode parecer ser um mecanismo compensatório ao crescimento na expressão da pendrina, podendo sendo esta última ser o provável evento inicial.

REFERÊNCIAS

ABYHOLM, G.; MONN, E. Intranasal DDAVP-test in the study of renal concentrating capacity in children with recurrent urinary tract infections. *Eur. J. Pediatr.*, v. 130, p. 149-154, 1979.

AKILOV, O. E.; KACHEMOUNE, A.; HASAN, T. Clinical manifestations and classification of Old World cutaneous leishmaniasis. *Int. J. Dermatol.*, v. 46, p. 132-142, 2007.

AMATO, V.; AMATO, J.; NICODEMO, A.; UIP, D.; AMATO-NETO, V.; DUARTE, M. Treatment of mucocutaneous leishmaniasis with pentamidine isothionate. *Ann. Dermatol. Venereol.*, v. 125, n. 8, p. 492-495, 1998.

AMLAL, H.; PETROVIC, S.; XU, J.; WANG, Z.; SUN, X.; BARONE, S.; SOLEIMANI, M. Deletion of the anion exchanger Slc26a4 (pendrin) decreases apical $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ exchanger activity and impairs bicarbonate secretion in kidney collecting duct. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, v. 299, p. C33–C41, 2010.

ANDRADE, Z. A.; LABUKI, K. A nefropatia do calazar. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, v. 14, p. 51-54, 1972

ARONSON, A.; SVENNINGSSEN, N. DDAVP test for estimation of renal concentrating capacity in infants and children. *Arch. Dis. Child*, v. 49, p. 654-659, 1974.

BALSAN, M.; FENECH, F. Acute renal failure in visceral leishmaniasis treated with sodium stibogluconate. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 86, p. 515-516, 1992.

BERMUDEZ, H.; ROJAS, E.; GARCIA, L.; DESJEUX, P.; DUJARDIN, JC; BOELAERT M; CHAPPUIS, F. Generic sodium stibogluconate is as safe and effective as branded meglumine antimoniate, for the treatment tegumentary leishmaniasis in Isiboro Secure Park, Bolivia. *Am. Trop. Med. Parasitol.*, v. 100, p. 591-600, 2006.

BOELAERT, M.; RAY, D. L.; STUYFT, V. D. How better drugs could change kala-azar control. Lessons from a cost-effectiveness analysis. *Trop. Med. Int. Health*, v. 7, n. 11, p. 955-959, 2002.

BOUKTHIR, S.; MARZOUKI, F.; MONGALGI, M. A.; DEBBABI, A. A new case of nephrotic syndrome and kala azar association. *Arch. Ped.*, v. 1, n. 9, p. 857-858, 1994.

CALVOPINA, M.; GUEVARA, A. G.; ARMIJOS, A. X.; HASHIGUSHI, Y.; DAVIDSON, R. N. Itraconazole in the treatment of New World mucocutaneous leishmaniasis. *Int. J. Dermatol.*, v. 43, p. 659-663, 2004.

CARAVACA, F.; MUNÓZ, A.; PIZARRO, J. L.; SANTAMARIA, J. S. Acute renal failure in visceral leishmaniasis. *Am. J. Nephrol.*, v. 11, p. 350-352, 1991.

CARVALHO, E. M.; CORREA-FILHO, D.; BACELAR, O.; ALMEIDA, R. P.; LESS, H.; ROCHA, H. Characterization of the immune response in subjects with self-healing cutaneous leishmaniasis. *Am. Trop. Med. Hyg.*, v. 53, p. 273-277, 1995.

CHAIGNE, V.; KNEFATI, Y.; LAFARGE, R.; BRONNER, J.; MCGREGOR, B.; FOUQUE, B.; SABATIER, J. C. A patient with visceral leishmaniasis and acute renal failure in necrotizing glomerulonephritis. *Nephrologie*, v. 25, p. 179-183, 2004.

CHUGH, K. S.; KAUR, S.; KUMAR, B.; NATH, I. V. S.; DAMLE, P. B.; SHARMA, B. K.; SAKHUJA, B.; DATTA, B. N. Renal lesions in leprosy amongst north Indian patients. *Posgrad. Med. J.*, v. 59, p. 701-711, 1983.

COUNCILMAN, W. T. Acute interstitial nephritis. *J. Experiment. Med.*, v. 3, p. 393-420, 1988.

CROFT, S. L.; SUNDAR, S.; FAIRLAMB, A. H. Drug resistance in leishmaniasis. *Clin. Microbiol. Rev.*, v. 19, p. 111-126, 2006.

CUCÉ, L. C.; BELDA, J.; DIAS, W. Nephrotoxicity to Glucantime® in the treatment of leishmaniasis. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, v. 32, p. 249-251, 1990.

DAHER, E. F.; EVANGELISTA, E. L.; SILVA-JÚNIOR, G. B.; LIMA, R. S.; ARAGÃO, E. B.; ARRUDA, G. A. J. C.; GALEANO, N. M. F.; MOTA, R. M. S.; OLIVEIRA, R. A.; SILVA, S. L. Clinical presentation and renal evaluation of human visceral leishmaniasis (kala-azar): a retrospective study of 57 patients in Brazil. *Braz. J. Infect. Dis.*, v. 12, n. 4, p. 329-332, 2008.

DAVID, C. V.; CRAFT, N. Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. *Dermatol. Therapy*, v. 22, p. 491-502, 2009.

DUARTE, M. I. S.; SILVA, M. R. R.; GOTTO, H. Interstitial nephritis in human kala-azar. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 77, p. 531-537, 1983.

DUARTE, M. I. S.; SILVA, M. R. R.; GOTTO, H.; NICODEMO, E. L.; AMATO-NETO, V. Interstitial nephritis in human kala-azar. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 77, p. 531-537, 1983.

DUTRA, M.; MARTINELLE, R.; CARVALHO, E. M.; RODRIGUES, E. M.; BRITO, E.; ROCHA, H. Renal involvement in visceral leishmaniasis. *Am. J. Kidney Dis.*, v. 6, p. 22-27, 1985.

DUVIC, C.; NEDELEC, G.; DEBORD, T.; HERODY, M.; DIDELOT, F. Important parasitic nephropathies: update from recent literature. *Nephrologie*, v. 20, p. 65-74, 1999.

ELNOJOMI, N.; MUSA, A. M.; YOUNIS, B. M.; ELFAKI, M.; EL-HASSAN, A. M.; KHALIL, E. Surrogate markers of subtle renal injury in patients with visceral leishmaniasis. *Saudi J. Kidney Dis. Transpl.*, v. 21, p. 872-875, 2010.

FAIRLEY, K. F.; BIRCH, D. F. Hematuria: a simple method for identifying glomerular bleeding. *Kidney Int.*, v. 21, p.105, 1982.

FURTADO T. Critérios para diagnóstico de LTA. *An. Bras. Dermatol.*, v. 65, p. 51-86, 1980.

GAO, X.; ELADARI, D.; LEVIEL, F.; TEW, B. Y.; MIRÒ-JULIÀ, C.; CHEEMA, F.; MILLER, L.; NELSON, R.; PAUNESCU, T. G.; MACKEE, M.; BROWN, D.; AL-AWQATI, Q. Deletion of hensen/DMBT1 blocks conversion of β - to α -intercalated cells and induces distal renal tubular acidosis. *PNAS*, v. 107, p. 21872–21877, 2010.

GERSTEIN, H. C.; MANN, J. F.; YI, Q.; ZINMAN, B.; DINNEEN, S. F.; HOOGWERF, B. et al. Albuminuria and risk of cardiovascular events, death and heart failure in diabetic and non-diabetic individuals. *JAMA*, v. 286, suppl. 4, p. 421-426, 2001.

GOLDMAN, L. Pre-Columbian leishmaniasis. *Arch. Dermatol.*, v. 119, n. 7, p. 540, 1983.

GONTIJO, B; de CARVALHO, M de L. American cutaneous leishmaniasis. *Rev. Soc. Med. Trop.*, v.36, n. 1, p. 71-80, 2003.

GONZALES, P. A.; PISITKUN, T.; HOFFERTI, J. D.; TCHAPIJNIKOV, D.; STAR, R. A.; KLETA, R.; WANG, N. S.; KNEPPER, M. A. Large-scale proteomics and phosphoproteomics of urinary exosomes. *J. Am. Soc. Nephrol.*, v. 20, p. 363-379, 2009.

GOTO, H.; LINDOSO, J. A. L. Current diagnosis and treatment of cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.*, v. 8, n. 4, p. 419-433, 2010.

HADIGUI, R.; BOUCHER, P.; KHAMESIPOUR, A.; MEAMAR, A.R.; ROY, G.; OUELLETTE, M.; MOHEBALI, M. Glucantime resistant *Leishmania tropica* isolated from Iranian patients with cutaneous leishmaniasis are sensitive to alternative antileishmania drugs. *Parasitol. Res.*, v. 101, n. 5, p. 1319-1322, 2007.

HERWALDT, B. L. Leishmaniasis. *The Lancet*, v. 354, p.1191-1199, 1999.

HEWITT, S. M.; DEAR, J.; STAR, R. A. Discovery of protein biomarkers for renal disease. *J. Am. Soc. Nephrol.*, v. 15, p. 1677-1689, 2004.

HOFFERT, J. D.; NIELSEN, J.; YU, M. J.; PISITKUN, T.; SCHLEICHER, S. M.; NIELSEN, S.; KNEPPER, M. A. Dynamic of aquaporin-2 serine-261 phosphorylation in response to short-term vasopressin treatment in collecting duct. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, v. 292, n. 2, p. F691-700, 2007.

ISMAIL, N.; BECKER, B.; STRZELCZYK, P.; RITZ, E. Renal disease and hypertension in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Kidney Int.*, v. 55, suppl. 1, p. 1-28, 1999.

JOHNSTONE, R. M.; ADAM, M.; HAMMOND, J. R.; ORR, L.; TURBIDE, C. Vesicles formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes). *J. Biol. Chem.*, v. 262, p. 9412-9420, 1987.

KANNO, K.; SASSAKI, S.; HIRATA, Y.; ISHIKAWA, S.; NAKANISHI, S.; BICHET, D. G.; MARUMO, F. Urinary excretion aquaporin-2 in patients with diabetes insipidus. *N. Engl. J. Med.*, v. 332, p. 1540-1545, 1995.

KIM, D. H.; CHUNG, H. J.; BLEYS, J.; GHOHESTANI, R. F. Is paromomycin an effective and safe treatment against cutaneous leishmaniasis? A meta-analysis of 14 randomized controlled trials. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, v. 3, n. 2, p. e381, 2009.

KIM, Y. E.; KWON, T. H.; CHRISTENSEN, B. M.; NIELSEN, J.; WALL, S. M.; MADSEN, K. M.; FROKIAER, J.; NIELSEN, S. Altered expression of renal acid-base transporters in rats with lithium-induced NDI. *Am. J. Renal Physiol.*, v. 285, p. 1244-1257, 2003.

KIRSZTAJN, G. M.; NISHIDA, S. K.; SILVA, M. S.; AJZEN, H.; PEREIRA, A. B. Renal abnormalities in Leprosy. *Nephron*, v.65, p.381-384, 1993.

KLINGENBERG, M. Membrane protein oligomeric structure and transport function. *Nature*, v. 290, p. 449-454, 1981.

LAINSON, R.; SHAW, J. J. Ecology and Epidemiology: New World. In: PETERS, W.; KILLICK-KENDRICK, R. *The Leishmaniasis in Biology and Medicine*. Orlando, Florida: Academic Press, 1987. v. 1, cap. 7, p. 291-363.

LEBLOND, V.; BEAUFILS, H.; GINSBURG, C.; BRICAIRE, F.; DANIS, M.; DERAY, G.; JACOBS, C. Collapsing focal segmental glomerulosclerosis associated with visceral leishmaniasis. *Nephrol. Dial. Transpl.*, v. 9, n. 9, p. 1353, 1994.

LEVINE, ND; CORILISS, JO; COX, FEG; DEROUX, G; GRAIN, J; RONIGBERG, BM; LIEEDALE, GF; LEOEBLICH, AR; LOM, J; LYNN, D; MERINFELD, E.G.; PAGE, F.C.; POLJANSKY, G; SPRAGUE, V; VÁVRA, J; WALLACE, F.G. A newly revised classification of the PROTOZOA. *Journal of Protozoology.*, 27: 37-58, 1980.

LIMA-VERDE, E. M.; LIMA VERDE, F. A. A.; LIMA VERDE, F. A.; SILVA JÚNIOR, G. B.; DAHER, E. F. Evaluation of renal function in human visceral leishmaniasis (kala-azar): a prospective study on 50 patients from Brazil. *J. Nephrol.*, v. 20, p. 432-438, 2007.

MANSON-BAHR, P. E. Diagnosis. In: PETER, W.; KILICH-KENDRICK, R. The leishmaniasis. London: editor, 1987. v. 2, p. 703-728.

MARCUSSEN, N.; VETNER, M.; KRISTENSEN, H. M. Interstitial and glomerulonephritis in visceral leishmaniasis in a dog. A case report. *APMIS*, v. 97, n. 12, p. 1137-1140, 1989.

MARIANI, A. J. ; MARIANI, M. C. ; MACCHIONI, C. ; STAMS, U.K. ; HARIRARAN, A. ; MORIERA, A. The significance of adult hematuria: 1000 hematuria evaluations including risk-benefit and cost-effective analysis. *J. Urol.*, v. 141, p. 350, 1989.

MARTIN, P. Y.; ABRAHAM, W. T.; LEIMING, X.; OLSON, B. R.; OREM, R. M.; OHARA, M.; SCHIER, R. W. Selective V2-receptor vasopressin antagonism decreases urinary aquaporin-2 excretion in patients with chronic heart failure. *J. Am. Soc. Nephrol.*, v. 10, p. 2165-2170, 1999.

MARZOCHI, MC. A leishmaniose no Brasil: as leishmanioses tegumentares. *Jornal Brasileiro de Medicina*, 63:82-104, 1992.

MCKEE, J. A.; KUMAR, S.; ECELBARGER, C. A.; FERNÁNDEZ-LLAMA, P.; TERRIS, J.; KNEPPER, M. A. Detection of Na⁺ transporter proteins in urine. *J. Am. Soc. Nephrol.*, v. 11, p. 2128-2132, 2000.

MELBY, P. C.; KREUTZER, R. D.; McMAHON-PRATT, D.; GAMM, A. A.; NEVA, F. A. Cutaneous leishmaniasis: review of 59 cases seen at the National Institute of Health. *Clin. Infect. Dis.*, v. 15, n. 6, p. 924-937, 1992.

MOHEBBI, N.; MIHAILOVA, M.; WAGNER, C. A. The calcineurin inhibitor FK506 (tacrolimus) is associated with transient metabolic acidosis and altered expression of renal acid-base transport proteins. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, v. 297, p. F499-509, 2009.

MONGENSEN, C. E. Prediction of clinical diabetic nephropathy in IDDM patients: Alternatives to microalbuminuria. *Diabetes*, v.39, suppl. 7, p.761-767, 1990.

MONTENEGRO, J. A. A cútis-reação na leishmaniose. *An. Fac. Med. São Paulo*, v. 1, p. 323-330, 1926.

MURRAY, H. W.; BERMAN, J. D.; DAVIES, C. R.; SARAIVA, N. G. Advances in leishmaniasis. *Lancet*, v. 366, p. 1561-1577, 2005.

NASEREDDIN, A.; BENSOUSSAN-HERMANO, E.; SCHONIA, G.; BANETH, G.; JAFFE, C. L. Molecular diagnosis of old world cutaneous leishmaniasis and species identification by use of a reverse line blot hybridization assay. *J. Clin. Microbiol.*, v. 46, p. 2848-2855, 2008.

NATIONAL KIDNEY FOUNDATION. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: Evaluation, classification and stratification. *Am. J. Kidney Dis.*, v. 39, Suppl. 1, p. S1, 2002.

NIETO, C. G.; NAVARRETE, J.; HABELA, M. A.; SERRANO, F.; REDONDO, E. Pathological changes in kidneys of dogs with natural *Leishmania* infection. *Veterinary Parasitol.*, v. 45, p. 33-47, 1992.

OLIVEIRA, J. G.; NOVAIS, F. O.; OLIVEIRA, C. I., DA CRUZ JUNIOR AC, CAMPOS, L.F.; DA ROCHA, A.V.; BOAVENTURA, V.; NORONHA, A.; COSTA, J.M.; BARRAL, A. Polymerase chain reaction is highly sensitive for diagnosis of mucosal leishmaniasis. *Acta Trop.*, v. 94, p. 55-99, 2005.

OLIVEIRA, M. J. C.; SILVA JÚNIOR, G. B.; ABREU, K. L. S.; ROCHA, N. A.; GARCIA, A. V. V.; FRANCO, L. F. L. G.; MOTA, R. M. S.; LIBÓRIO, A. B.; DAHER, E. F. Risk factors for acute kidney injury in visceral leishmaniasis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, v. 82, n. 3, p. 449-453, 2010.

OLIVEIRA, R. A.; SILVA Jr, G. B.; SOUZA, C. J.; VIEIRA, E. F.; MOTA, R. M.; MARTINS, A. M.; LIBÓRIO, A. B.; DAHER, E. F. Evaluation of renal function in leprosy: a study of 59 consecutive patients. *Nephrol. Dial. Transplant*, v. 23, p. 256-262, 2008a.

OLIVEIRA, R. A.; SILVA, L. S. V.; CARVALHO, V. P.; COUTINHO, A. F.; PINHEIRO, F. G.; LIMA, C. G.; LEANDRO-JR, J. E.; SILVA-JR, G. B.; DAHER, E. F. Visceral leishmaniasis after renal transplantation: report of 4 cases in northeastern Brazil. *Transp. Infect. Dis.*, v. 10, n. 5, p. 364-368, 2008b.

OLIVEIRA-NETO, M. P.; MATOS, M.; PIRMEZ, C.; FERNANDES, O.; GONÇALVES-COSTA, S. C.; SOUZA, C. F. S.; GRIMALDI-JÚNIOR, G. Mucosal leishmaniasis ("ESPUNDIA") responsive to low dose of N-methyl glucamine (Glucantime®) in Rio de Janeiro, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, v. 42, n. 6, p. 321-325, 2000.

OLIVEIRA-NETO, M. P.; SCHUBACH, A.; MATTOS, M.; GONÇALVES-COSTA, S. C.; PIRMEZ, C. A low-dose antimony treatment in 159 patients with American cutaneous leishmaniasis: extensive follow-up studies (up to 10 years). *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, v. 57, p. 651-655, 1997.

OSTER, J. R. A short duration renal acidification test using calcium chloride. *Nephron*, v.14, p. 281-292, 1975.

PALACIOS, R.; OSORIO, L. E.; GRAJALEW, L. F.; OCHOA, M. T. Treatment failure in children in a randomized clinical Trial with 10 and 20 days of meglumine antimoniate for cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania viannia* species. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, v. 64, p. 187-193, 2001.

PISITKUM, T.; JOHNSTONE, R.; KNEPPER, M. A. Discovery of Urinary Biomarkers. *Mol. Cel. Proteomics*, v. 5, n. 10, p. 1760-1771, 2006.

PISITKUM, T.; SHEN, R.; KNEPPER, M. A. Identification and proteomics profiling of exosomes in human urine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 101, p. 13368-13373, 2004.

PONCE, P.; RAMOS, A.; FERREIRA, M. L.; PINTO, G.; LACERDA, M. H. Renal involvement in leprosy. *Nephrol. Dial. Transplant.*, v. 4, suppl. 2, p. 81-84, 1989.

RAJARAM, K. G.; SUF, K.; KOHLI, H. S.; GUPTA, K. L.; SAKHUJA, V. Visceral leishmaniasis: a rare cause of post-transplant fever and pancytopenia. *J. Assoc. Phis. Ind.*, v. 50, p. 979-980, 2002.

RATH, S; TRIVELIN, L.A.; IMBRUNITO, T.R.; TOMAZELA, D.M.; De JESÚS, M.N.; MARZAL, P.C. Antimoniais empregados no tratamento da leishmaniose: Estado da arte. *QUIM. Nova*, v. 26, n. 4; p. 550-555, 2003.

REED, S. G. Diagnosis of leishmaniasis. *Clin. Dermatol.*, v. 24, p. 471-478, 1996.

REITHINGER, R.; DUJARDIM, J. C.; LOUZIR, H.; PIRMEZ, C.; ALEXANDER, B.; BROOKER, S. Cutaneous leishmaniasis. *Lancet Infect. Dis.*, v. 7, p. 581-596, 2007.

ROBERTS, L. J.; HANDEMAN, E.; FOOTE, S. J. Leishmaniasis. *Br. Med. J.*, v.321, p. 801-804, 2000.

RODRIGUES, M. L. O.; COSTA, R. S.; SOUZA, C. S.; FOSSI, N. T.; ROSELINO, A. M. F. Nephrotoxicity attributed to meglumine antimoniate (Glucantime) in the treatment of generalized cutaneous leishmaniasis. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, v. 41, n. 1, p. 33-37, 1999.

ROSE, B. D. *Pathophysiology of Renal Disease*. 2nd ed. New York: McGraw-Hill, 1987.

ROSE, B. D.; BAKRIS, G. L. Microalbuminuria and cardiovascular disease. *UpToDate* 12.3, 2004.

ROSE, B. D.; POST, T. W. *Clinical Physiology of Acid-Base and Electrolyte Disorders*. 5th ed. New York: McGraw-Hill, 2001.

RUGGENENTI, P.; REMUZZI, G. Nephropathy of type-2 Diabetes mellitus. *J. Am. Soc. Nephrol.*, v. 9, suppl. 11, p. 2157-2169, 1998.

RUSSO, L. M.; BAKRIS, G. L.; COMPER, W. D. Renal handling of albumin: a critical review of basics concepts and perspective. *Am. J. Kidney Dis.*, v. 39, suppl. 5, p. 899-919, 2002.

SABBATINI, M.; PISANI, A.; RAGOSTA, A.; GALLO, L.; BORELLI, F.; CIANCIARUSO, B. Visceral leishmaniasis in renal transplant recipient: is it still a challenge to the nephrologist? *Transplantation*, v. 73, n. 2, p. 299-301, 2002.

SALGADO FILHO, N.; FERREIRA, T. M.; COSTA, J. M. Envolvimento da função renal em pacientes com leishmaniose visceral (calazar). *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 36, p. 217-221 2003.

SAMPAIO, R. N. R.; MERCHAN, E. M.; VEXENAT, A.; TRISTÃO, R. J.; MARSDEN, P. D. Leishmaniose tegumentar americana. *Casuística do Hospital Escola da UnB. An. Bras. Dermatol.*, v. 55, p. 69-76, 1980.

SAMPAIO, R. N. R.; PAULA, C. D. R.; SAMPAIO, J. H. D.; FURTADO, R. S.; LEAL, P. P.; ROSA, T. T.; RODRIGUES, M. R.; VEIGA, J. P. R. Avaliação da tolerância e nefrotoxicidade do antimonial pentavalente administrado na dose de 40mg Sb^v/kg/dia por 30 dias na forma cutânea-mucosa de leishmaniose. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 30, n. 6, p. 457-467, 1997.

SAMPAIO, R. N. R.; VEIGA, J. P. R.; LIMEIRA, O. M.; VEXENAT, A.; MARSDEN, P. D. Insuficiência renal aguda em leishmaniose tegumentar americana tratada com associação de glucantime[®] e alopurinol. *An. Bras. Dermatol.*, v. 66, p.133-134, 1991.

SASSI, A.; LOUZIR, H.; BEN SALAH, A.; MOKNI, M.; BEN OSMAN, A.; DELLAGI, K. Leishmaniasis skin test lymphoproliferative responses and cytokine production after symptomatic or asymptomatic *Leishmania major* infection in Tunisia. *Clin. Exp. Immunol.*, v. 116, p.127-132, 1999.

SCHUBACH, A. O.; MARZOCHI, K. B. F.; MOREIRA, J. S.; SCHUBACH, T. M. P.; ARAÚJO, M. L.; FRANCESCONE DO VALE, A. C.; PASSOS, S. R. L.; MARZOCHI, M. C. A. Retrospective study of 151 patients with cutaneous leishmaniasis treated with meglumine antimoniate. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 38, n. 3, 2005.

SHAW, J. J. The relationship of sand fly ecology to the transmission of leishmaniasis in South America with particular reference to Brazil. In: *Memoir on Entomology, International JFB.* (eds). Associated publishers., 1999.

SHAWW, J. J.; LAINSON, R. Leishmaniasis in Brazil: Some observations on intradermal reactions to different trypanosomatid antigens of patients suffering from cutaneous and mucocutaneous leishmaniosis. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 69, p. 323-335, 1975.

SILVA JR, G. B.; DAHER, E. F. Renal involvement in leprosy – Analysis of 461 cases. *Braz. J. Infect. Dis.* V. 10, n. 2, p. 107-112, 2004.

SIPSAS, N. V.; BOLETIS, J. Fever, hepatoesplenomegaly and pancytopenia in renal transplant recipient. *Transp. Infect. Dis.*, v. 5, p. 47-52, 2003.

SOLEIMANI, M. GREELEY, T.; PETROVIC, S.; WANG, Z.; AMLAL, H.; KOPP, P.; BURNHAM, E. Pendrin: an apical Cl⁻/OH⁻/HCO₃⁻ exchanger in the kidney cortex. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, v. 280, p. F356-364, 2001.

SOTO, J.; REA, J.; BALDERRAMA, M.; TOLEDO, J.; SOTO, P.; VALDA, L.; BERMAN, J.D. Efficacy of miltefosine for Bolivian cutaneous leishmaniasis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, v. 78, n. 2, p. 210-211, 2008.

SOTO, J.; TOLEDO, J.; GUTIERREZ, P.; NICHOLLS, R.S.; PADILLA, J.; ENGEL, J.; FISCHER, C.; VOSS, A.; BERMAN, J. Treatment of American cutaneous leishmaniasis with miltefosine, an oral agent. *Clin. Infect. Dis.*, v. 33, n. 7, p. E57-E61, 2001.

SRITHARAN, V.; VENKATESAN, K.; BHARADWAJ, V. P.; GIRDHAR, B. K. Renal functions in lepromatous leprosy patients. *Lepr. India*, v. 53, suppl. 3, p. 437-442, 1981.

SUNDAR, S.; JHA, T. K.; THAKUR, C. P.; SINHA, P. K.; BHATTACHARYA, S. K. Injectable paromomycin for visceral leishmaniasis in India. *N. Engl. J. Med.*, v. 356, n. 25, p. 2571-2581, 2007.

TRAYNOR, J.; MACTIER, R.; GEDDES, C. C.; FOX, J. G. How to measure renal function in clinical practice. *BMJ*, v. 333, p. 733, 2006.

TRYDING, N.; BERG, B.; EKMAN, S. DDAVP test for renal concentration capacity. *Scand. J. Urol. Nephrol.*, v. 22, p. 141-145, 1988.

TRYDING, N.; STERNER, G.; BERG, B.; HARRIS, A. Subcutaneous and intranasal administration of 1-deamino-8-d-arginine vasopressin in the assessment of renal concentration capacity. *Nephron*, v. 45, p. 27-30, 1987.

TUON, F. F.; AMATO, V. S.; GRAF, M. E.; SIQUEIRA, A.M.; NICODEMO, A.C.; AMATO NETO, V. Treatment of New World cutaneous leishmaniasis – a systematic review with a meta-analysis. *Int. J. Dermatol.*, v. 47, p. 109-124, 2008.

VEIGA, J. P. R.; KHANAN, R.; ROSA, T. T.; JUNQUEIRA JR, L. F.; BRANT, P. C.; RAICK, A. N.; FRIEDMAN, H.; MARSDEN, P. D. Pentavalent antimonial nephrotoxicity in the rat. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, v. 32, p. 304-309, 1990.

WACHTELL, K.; IBSEN, H.; OLSEN, M. H.; BORCH-JOHNSEN, K.; LINDHOLM, L.H.; MOGENSEN, C.E.; DAHLÖF, B.; DEVEREUX, R.B.; BEEVERS, G.; DE FAIRE U.; FYHRQUIST, F.; JULIUS, S.; KJELDSSEN, S.E.; KRISTIANSON, K.; LEDERBALLE-PEDERSEN, O.; NIEMINEN, M.S.; OKIN, P.M.; OMVIK, P.; OPARIL, S.; WEDEL, H.; SNAPINN, S.M.; AURUP, P. Albuminuria and cardiovascular risk in

hypertensive patients with left ventricular hypertrophy: The LIFE study. *Ann. Intern. Med.*, v. 139, suppl. 11, p. 901-906, 2003.

WAHLIN, A.; RAPP, W.; JONSSON, E. H. Failure of chlorothiazide to improve urinary concentrating capacity in lithium-treated patients. *Acta Med. Scand.*, v. 207, n. 3, p. 195-196, 1980.

WEINA, P. J.; NEAFIE, R. C.; WORTMANN, G.; POLHEMUS, M.; ARONSON, N. E. Old world leishmaniasis: an emerging infection among deployed US military and civilian workers. *Clin. Infect. Dis.*, v. 39, n. 11, p. 1674-1680, 2004.

WEN, H.; FROKIAER, J.; KWON, T. H.; NIELSEN, S. Urinary excretion of aquaporin-2 in rat is mediated by a vasopressin-dependent apical pathway. *J. Am. Soc. Nephrol.*, v.10, p.1416-1429, 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Division of Control of Tropical Disease. Leishmaniasis. Geneva, 2000. Disponível em: <[http://www.who.int/health-tropics/leishmaniasis.htm\(updated\)](http://www.who.int/health-tropics/leishmaniasis.htm(updated))>. Acesso em: 15/01/2011.

ZHOU, H.; YUEN, P. S. T.; PISITKUN, T.; GONZALES, P. A.; YASUDA, H.; DEAR, J. W.; GROSS, P.; KNEPPER, M. A.; STAR, R. A. Collection, storage, preservation and normalization of human urinary exosome for biomarkers discovery. *Kidney Int.*, v. 69, p. 1471-1476, 2006.

APÊNDICE

APÊNDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA

Nome do sujeito da

Pesquisa: _____

Identidade: _____ Sexo: () M () F

Data de nascimento: ____/____/____

Endereço: _____

CEP: _____ - _____ Cidade: _____ Estado: _____

Telefone: _____

DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. Título do projeto de pesquisa: “Alterações funcionais e dos transportadores renais em pacientes com leishmaniose tegumentar americana antes e após o uso de antimoniato de meglumina”.

2. Pesquisador: Rodrigo Alves de Oliveira – médico e doutorando em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da UFC.

EXPLICAÇÕES SOBRE A PESQUISA AO PACIENTE

1. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS DA PESQUISA

Você está sendo convidado a participar desta pesquisa que tem como objetivo principal avaliar se a leishmaniose cutânea pode causar problemas nos seus rins e se

o tratamento específico que será usado por 20 dias também pode prejudicar sua função renal, na tentativa de minimizar os riscos por eles impostos.

2. PROCEDIMENTOS QUE SERÃO UTILIZADOS

Será realizada uma consulta inicial, quando será feita uma história do seu problema principal, sendo analisados alguns aspectos como número de lesões, localização, tempo de evolução, além de outros sintomas que possam estar acompanhando o quadro principal. Na primeira consulta, será realizado um exame físico detalhado e serão realizados os exames de rotina para o diagnóstico da leishmaniose cutânea.

Confirmando-se o diagnóstico, serão feitos testes para avaliar sua função renal, sendo que em dois deles serão utilizados 2 medicações para testar duas funções específicas dos rins, que podem estar comprometidas pela própria doença e também pelo tratamento. Estes testes serão realizados na segunda consulta com a coleta de urina pela manhã cedo e 4h após a medicação, devendo ficar em repouso neste período.

3. DESCONFORTO E RISCOS ESPERADOS

As medicações que serão usadas são seguras e não provocam quaisquer prejuízos para os pacientes, nem na função dos rins. Eventualmente, poderão ocorrer desconfortos epigástricos, náuseas, e raramente vômitos, sendo na maioria das vezes bem toleradas.

ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA

1. Você terá acesso a qualquer tempo às informações sobre a pesquisa, os procedimentos utilizados, os benefícios que poderão ser obtidos.
2. Você terá liberdade para retirar seu consentimento e desistir de participar do estudo em qualquer momento.

3. O estudo será totalmente confidencial, sua privacidade será preservada e suas informações serão mantidas em sigilo absoluto.

4. Os exames serão realizados sem ônus para o paciente.

INFORMAÇÕES DE NOMES E TELEFONES DAS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA

Dr. Rodrigo Alves de Oliveira: (88)3511-1500, (88)3532-0004, (88)3532-3636, e (88) 9963-4071

Prof. Dra. Elizabeth De Francesco Daher, Departamento de Medicina Clínica: 85 3366-8052

“Se você tiver alguma consideração a fazer ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UNIFAC – Rua Cel. Nunes de Melo 1127, Rodolfo Teófilo; Fortaleza, fone: 85 3223-2600.

CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, concordo em participar da presente pesquisa.

Assinatura do paciente/representante legal

Data ____ / ____ / ____

Assinatura da testemunha

Data ____ / ____ / ____

Para casos de pacientes analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

Assinatura do responsável pelo estudo

Data ____ / ____ / ____

ANEXO A

AUTORIZAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



Universidade Federal do Ceará
Comitê de Ética em Pesquisa

2º VIA

Of. Nº252/12

Fortaleza, 31 de outubro de 2012.

Protocolo COMEPE nº 262/ 07

Pesquisador responsável: Rodrigo Alves de Oliveira

Título do Projeto: "Alterações funcionais e dos transportadores renais em pacientes com leishmaniose tegumentar americana antes e após o uso de antimoniato de meglumina"

Levamos ao conhecimento de V.S^a. que o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará – COMEPE, dentro das normas que regulamentam a pesquisa em seres humanos, do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde, Resolução nº 196 de 10 de outubro de 1996 e complementares, aprovou sob o nº de ofício 1049/07 na reunião do dia 29 de novembro de 2007, TCLE e protocolo do projeto supracitado.

Atenciosamente,



Dr. Fernando A. Frota Bezerra
Coordenador do Comitê
de Ética em Pesquisa
COMEPE/UFC

