

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL  
PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA**

**JEAN LIMA PRAZERES**

**AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS PERIFÉRICAS EM  
PACIENTES COM LEISHAMANOSE VISCERAL**

**FORTALEZA**

2008

JEAN LIMA PRAZERES

**AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS PERIFÉRICAS EM  
PACIENTES COM LEISHAMANOSE VISCERAL**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Patologia.

Área de Concentração: Patologia Tropical.

Orientadora: Profa. Dra. Romélia Pinheiro Gonçalves

## FORTALEZA

2008

P931a Prazeres, Jean Lima  
Avaliação das alterações hematológicas periféricas  
em pacientes com leishmaniose visceral / Jean Lima  
Prazeres. 2008.  
67 f. : il.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Romélia Pinheiro  
Gonçalves.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do  
Ceará. Faculdade de Medicina. Departamento de  
Patologia e Medicina Legal, Fortaleza, 2008.

1. Leishmaniose Visceral. 2. Anemia. I. Gonçalves,  
Romélia Pinheiro (orient.). II. Título.

CDD 616.9364

JEAN LIMA PRAZERES

AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS PERIFÉRICAS EM  
PACIENTES COM LEISHAMANOSE VISCERAL

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Patologia.

Aprovado em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

---

Profa. Dra. Romélia Pinheiro Gonçalves (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará - UFC

---

Prof. Dra. Margarida Maria de Lima Pompeu  
Universidade Federal do Ceará - UFC

---

Dr. Herivaldo Ferreira da Silva  
Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará

---

Prof. Dr. Max Victor Carioca Freitas  
Universidade Federal do Ceará - UFC

*A Deus, pelo privilégio em ter concluído  
mais essa etapa na minha vida.*

*Aos meus pais, Pedro e Maria José minha  
eterna gratidão.*

*A minha amada esposa Ivaneide e ao meu  
querido filho João Pedro com todo amor e  
carinho que são minhas alegrias.*

## AGRADECIMENTOS

Aos meus Irmãos que me incentivaram na minha formação profissional,

Aos Pacientes e seus familiares, que se propuseram a participar da pesquisa,

A Profa. Dra. Romélia Pinheiro Gonçalves que, pela amizade, carinho, dedicação, paciência e confiança para perseverar e concluir esse trabalho,

A Profa. Dra. Margarida Maria Lima Pompeu, Coordenadora do Mestrado em Patologia pela atenção e valorosa colaboração,

Aos colegas de trabalho (Superiores, pares e subordinados), em especial ao Major Farmacêutico *Josémario* Pedro da Silva, Chefe do Laboratório de Análises Clínicas, da Capitão Farmacêutica *Joelma* Inês Tagliapietra, do 2º Ten OFT Egberto *Feitosa* Filho que sempre entenderam as minhas necessidades e me ajudaram para que pudesse realizar este trabalho.

Ao Laboratório Louis Pasteur Medicina Diagnóstica, pela valiosa colaboração na realização dos exames laboratoriais.

Ao Depto de Patologia/UFC-CE pela viabilização e manutenção da estrutura necessária aos nossos estudo e aperfeiçoamento, em especial a Secretária da Coordenação Paula Palácio.

Ao laboratório de Análises Clínicas do Hospital São José de Doenças Infecciosas, em especial à Técnica de Laboratório Maria Vânia de Freitas Gonçalves que nos ajudou na coleta e captação dos pacientes, meu fraterno muito obrigado.

Ao colega, Farmacêutico Marcos Venânces de Sousa Leão, pela presença e participação na coleta das amostras.

A amiga Ângela Rosa André, pela ajuda e incentivos constantes.

Aos colegas de turma, que juntos dividimos alegrias, tristezas, mais com a certeza de que teríamos que persistir em nossos objetivos.

*“Jesus, perfeito Deus e perfeito homem, é portador da salvação, da alegria e da paz.*

*Mas a sabedoria foi justificada por todos os seus filhos”*

**Lc 7, 31-35**

## RESUMO

De acordo com dado da Organização Mundial de Saúde (OMS) existem cerca de 12 milhões de pessoas no mundo com leishmaniose. No Brasil o agente etiológico da Leishmaniose visceral (LV) é a *Leishmania chagasi*, e a principal forma de transmissão do parasita ao homem e outros hospedeiros mamíferos é por meio da picada do mosquito fêmea de insetos dípteros da família *Psychodidae*, cujo vetor principal é o *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva). O calazar ou leishmaniose visceral é uma doença tropical que se caracteriza pela presença de febre, anemia, hepatoesplenomegalia, manifestações hemorrágicas, além de linfadenomegalia, perda de peso, taquicardia, tosse seca, diarreia, febre, pancitopenia e hipergamaglobulinemia. O envolvimento hematológico é comum nos pacientes com LV, sendo a anemia a anormalidade mais freqüente decorrente de natureza multifatorial e com prevalência variável conforme a população analisada. Consiste em avaliar o padrão das alterações hematológicas periféricas dos pacientes com Leishmaniose Visceral. As amostras de sangue foram colhidas após o diagnóstico laboratorial de pesquisa de formas amastigotas de *Leishmania sp* em aspirado medular nos pacientes (n=30) do Hospital São José de Doenças Infecciosas, em Fortaleza, Ceará, no período de Janeiro de 2007 a Julho de 2008 e de um grupo controle (n=30) constituído de doadores de sangue do HEMOCE. As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Geral de Fortaleza e no Laboratório Louis Pasteur Medicina Diagnóstica. As contagens dos elementos sanguíneos foram realizadas em contador hematológico Pentra 120 ABX, seguido de avaliação citomorfológica. As dosagens bioquímicas foram realizadas em Analisador bioquímico HITACHI Modular P800 e Modulo E/Roche®. A comparação entre os grupos, em relação à média das variáveis quantitativas foi realizada através do Teste t de Student, para os dados com hipótese de distribuição normal e Mann-Whitney, no caso de não normalidade dos dados. Foram considerados estatisticamente significantes valores de  $p < 0,05$ . Das análises (n=30) pacientes, observou-se que 63%(19) dos pacientes são do interior do Estado do Ceará e 37%(11) pacientes são da capital, Fortaleza. Que 80%(24) dos pacientes são do sexo masculino e 20(8%) do sexo feminino. A maioria dos pacientes, 57% apresentavam-se na faixa etária entre 31 a 45 anos de idade. Com relação ao tempo da doença até a data do diagnóstico laboratorial, 47%(14) dos pacientes já apresentavam sinais clínicos da doença com 30 a 90 dias. Obtivemos



para o sexo masculino contagem das Hemácias, uma média de  $3,69 \pm 0,6644$  ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ ), Hemoglobina de  $9,383 \pm 1,3002$  (g/dL), Hematócrito de  $28,6708 \pm 4,0687$  (%), para o sexo feminino contagem das Hemácias, uma média de  $3,525 \pm 0,6233$  ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ ), Hemoglobina de  $8,5666 \pm 1,6561$  (g/dL), Hematócrito de  $26,9666 \pm 3,9026$  (%). Com relação aos índices hematiméticos observamos para ambos os sexos, um Volume Corpuscular Médio (VCM) de  $78,1 \pm 7,0$  (fL), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM) de  $25,42 \pm 2,51$  (pg), Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) de  $32 \pm 2,15$  (%), Distribuição de amplitude das hemácias (RDW) de  $15,337 \pm 2,435$  (%), Contagem de reticulócitos de  $20.636,63 \pm 20.300,39$  (/mm<sup>3</sup>). Das análises citomorfológica, Das análises morfológicas evidenciou-se um perfil laboratorial característico de anemia do tipo microcítica e hipocrômica seguido de normocítica e normocrômica e em 65% das amostras observamos a presença de "rouleaux". Para as determinações do Ferro sérico obtivemos uma média de  $32,53 \pm 17,31$  ( $\mu\text{g}/\text{dL}$ ), Transferrina de  $146,83 \pm 42,19$  (mg/dL), Ferritina de  $1339,47 \pm 599,05$  (ng/mL), Vitamina B12 de  $573,5 \pm 253,94$  (pg/mL). Ácido Fólico de  $10 \pm 3,47$  (ng/mL). Para as contagens dos leucócitos a média observada foi de  $2802,33 \pm 2322,16$  (n<sup>o</sup>/mm<sup>3</sup>), neutrófilos de  $1.426,33 \pm 1.348,88$  (n<sup>o</sup>/mm<sup>3</sup>), linfócitos de  $982,60 \pm 576,47$  (n<sup>o</sup>/mm<sup>3</sup>), monócitos de  $350,13 \pm 283,47$  (n<sup>o</sup>/mm<sup>3</sup>), plaquetas de  $120,233,33 \pm 90.640,89$  (n<sup>o</sup>/mm<sup>3</sup>). Para as determinações do VHS ao diagnóstico, os pacientes apresentaram uma média de 81,77 mm na primeira hora de observação. As determinações do TAP nos mostrou que ao diagnóstico os pacientes apresentaram uma média de 67,87% de atividade de protrombina. Das análises observou-se que na LV existe um comprometimento na hematopoese traduzindo no sangue periférico por uma pancitopenia a favor principalmente da linhagem eritróide, sendo a anemia nestes pacientes de natureza provavelmente crônica

**Palavras-chave:** Leishmaniose visceral. Anemia.

## ABSTRACT

According to World Health Organization (WHO) data there are some 12 million people worldwide with leishmaniasis. In Brazil the etiological agent of visceral leishmaniasis (VL) is *Leishmania chagasi*, and is the main means of transmission from the parasite to human beings and other hosts mammals is through the biting of the female mosquito of the order diptera insects belonging to the Psychodidae family, whose main vector is the *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva). The visceral leishmaniasis or kala azar is a tropical disease that is characterized by the presence of fever, anemia, hepatosplenomegaly, hemorrhagic manifestations, and linfoadenomegaly, weight loss, tachycardia, dry cough, diarrhea, fever, pancytopenia and hypergammaglobulinemia. The hematological involvement is common in patients with VL, with anemia the most frequent abnormality due to its multifactor nature and prevalence varies depending on the population being studied. It is meant to evaluate the pattern of peripheral alterations of patients with hematological Visceral Leishmaniasis. Blood samples were collected after the diagnosis of researches seeking ways of amastigotes *Leishmania* sp in bone marrow aspirate in patients (n = 30), Hospital of Infectious Diseases São José, in Fortaleza, in the state of Ceará, in the period from January 2007 to July 2008 and a control group (n = 30) consists of blood donors from HEMOCE. Laboratory tests were performed at the Clinical Analysis Laboratory of the General Hospital of Fortaleza and the Louis Pasteur Medical Diagnosis Laboratory. The counting of blood elements were measured with an ABX blood Pentre 60 gauge, followed by cytomorphology assessment. The biochemical measurements were made in a HITACHI biochemical analyzer Module P800 and Roche ® Modular I. The comparison between the groups, for the average of quantitative variables was performed by Student t-test, for the normal distribution and Mann – Whitney hypothesis data, in case of non-normality of the data. We have statistically considered meaningful values of 0.05. The analysis (n = 30) patients, the study showed that 63% (19) of the patients are from within the State of Ceará and 37% (11) of the patients are from the capital of the state of Ceará, Fortaleza. That 80% (24) of patients are male and 20 (8%) were females. Most of the patients, 57% were aged between 31 to 45 years old. In what concerns the period of time of the disease until the date of laboratory diagnosis, 47% (14) of the patients already had signs of clinical disease with 30 to 90 days. We have to count the male of red blood cells, an average of  $3.69 \pm 0.6644$  ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ ), hemoglobin of  $9383 \pm 1.3002$  (g/dL), Hematocrit of  $28.6708 \pm 4.0687$  (%) for the

female count of red blood cells, an average of  $3525 \pm 0.6233$  ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ ), hemoglobin from  $8.5666 \pm 1.6561$  (g/dL), Hematocrit of  $26.9666 \pm 3.9026$  (%). With regard to RBC indices observed for both sex, cell volume Medium (MCV) of  $78.1 \pm 7.0$  (fL), mean corpuscular hemoglobin (MCH) of  $25.42 \pm 2.51$  (pg), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) of  $32 \pm 2.15$  (%), distribution of amplitude of red blood cells (RDW) of  $15,337 \pm 2435$  (%), reticulocyte count of  $20.636.63 \pm 20.300.39$  (/  $\text{mm}^3$ ). Of the morphological analysis showed up a laboratory profile characteristic of the type of anemia and microcytic normocytic and hypochromic followed by normochromic and 65% of the samples found the presence of "rouleaux". For the determinations of serum iron had a average of  $32.53 \pm 17.31$  ( $\mu\text{g}/\text{dL}$ ), Transferrin of  $146.83 \pm 42.19$  (mg/dL), Ferritin of  $1.339.47 \pm 599.05$  (ng /ml), Vitamin B12 from  $573.5 \pm 253.94$  (pg/mL), Folic Acid,  $10 \pm 3.47$  (ng/mL). For the average counts of leukocytes observed was  $2802.33 \pm 2322.16$  ( $\text{n}^\circ/\text{mm}^3$ ), of neutrophils  $1426.33 \pm 1348.88$  ( $\text{n}^\circ/\text{mm}^3$ ), lymphocytes from  $982.60 \pm 576.47$  ( $\text{n}^\circ/\text{mm}^3$ ); monocytes of  $350.13 \pm 283.47$  ( $\text{n}^\circ/\text{mm}^3$ ), platelet count  $120.233.33 \pm 90640.89$  ( $\text{n}^\circ/\text{mm}^3$ ). For the determinations of the VHS diagnosis, the patients had an average of 81.77 mm in the first hours of observation. The determination of TAP showed us that the diagnosis of the patients showed an average of 67.87% of activity prothrombin. The analysis it was observed that there is an impairment in VL hematopoese in translating in peripheral blood by a pancytopenia mainly in favor of the erythroid lineage, and the anemia in patients with chronic nature probably.

**Key-words:** Leishmaniasis Visceral . Anemia.

## LISTA DE ABREVIATURAS

RBC- *Red Blood Cells*

ADC- Anemia de Doença Crônica

BFU-E- *burst-forming units-erythrocytic*

CFU-E- *colony-forming unit-erythrocytic*

CHCM- Concentração de hemoglobina corpuscular média

DMT-1- *divalent metal transport 1*

EDTA- etileno diamina tetracetato dissódico

EPO-Eritropoetina

fL- fentolitros

GATA-1- Fator de transcrição eritróide

HCM- Hemoglobina corpuscular média

IFN $\gamma$ - Interferon gama

IL10- Interleucina 10

IL1-Interleucina 1

IL2- Interleucina 2

IL4- Interleucina 4

Ireg 1- *iron regulated 1*

LV- Leishmaniose visceral

MO- Medula óssea

NK- *natural Killer*

OMS- Organização Mundial de Saúde

pg- picogramas

RDW- distribuição de amplitude das hemácias

SFM- Sistema Fagocítico Mononuclear

TAP- Tempo de protrombina

TI- Transmissão intensa

TNF $\alpha$ - Fator de necrose tumoral alfa

VCM- Volume corpuscular médio

VHS- Velocidade de hemossedimentação

## LISTA DE FIGURAS

1	Casos confirmados de LV no Brasil, por região geográfica de 2000 a 2006.....	17
2	Coeficiente de incidência e casos confirmados de leishmaniose visceral no Ceará, 1986 a 2008.....	18
3	Óbitos e letalidade por leishmaniose visceral no Ceará, 2001 a 2008.....	19
4	Incidência da Leishmaniose no Ceará em 2007.....	19
5	Estratificação de risco para LV do Ceará, 2005 a 2007.....	20
6	Representação esquemática da indução da apoptose dos precursores eritrocitários por mecanismos via Fas-L e Trail.....	23
7	Transporte de ferro pelo eritrócito.....	25
8	Ciclo da transferrina.....	25
9	Representação esquemática da ação das citocinas sobre a eritropoese em pacientes com Anemia de Doença Crônica.....	28
10	Representação esquemática das principais etapas do envolvimento da hepcedina na regulação do metabolismo do ferro	29
11	Percentual de pacientes com LV distribuídos segundo a procedência no Estado do Ceará.....	39
12	Percentual de casos distribuídos dos pacientes com LV segundo o sexo.....	40
13	Percentual de casos distribuídos segundo a faixa etária dos pacientes com LV.....	40
14	Percentual de pacientes com LV distribuídos segundo o tempo de doença até o diagnóstico.....	41
15	Distribuição dos pacientes com LV quanto à análise citomorfológica para classificar o tipo de anemia mais freqüente.....	44
16	Determinação dos valores da dosagem sérica de ferro em pacientes com LV no Ceará e do grupo controle.....	44
17	Determinação dos valores da dosagem sérica de ferritina em pacientes com LV no Ceará e do grupo controle.....	45
18	Determinação dos valores da dosagem sérica de transferrina em pacientes com LV no Ceará e do grupo controle.....	45

19	Determinação dos valores da dosagem sérica de vitamina B12 em pacientes com LV no Ceará e do grupo controle.....	46
20	Determinação dos valores da dosagem sérica de ácido fólico em pacientes com LV no Ceará e do grupo controle.....	46
21	Determinação dos valores do VHS em pacientes com LV no Ceará e do grupo controle.....	48
22	Determinação dos valores para o tempo de protrombina (TAP), 5expresso % de atividade de protombina em pacientes com LV no Ceará e do grupo controle.....	48

## LISTA DE TABELAS

- 1 Distribuição dos valores para a contagem de hemácias, dosagem de hemoglobina e determinação do hematócrito em pacientes do sexo masculino com LV e do grupo controle..... 42
- 2 Distribuição dos valores para a contagem de hemácias, dosagem de hemoglobina e determinação do hematócrito em pacientes do sexo feminino com LV e do grupo controle..... 42
- 3 Distribuição dos valores do VCM, HCM, CHCM, RDW e reticulócitos em pacientes com LV e do grupo controle..... 43
- 4 Distribuição dos valores de leucócitos, neutrófilos, linfócitos, eosinófilos, monócitos e plaquetas em pacientes com LV no Ceará e do grupo controle..... 47

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
1.1	Hematopoese.....	20
1.2	Eritropoese.....	21
1.3	Metabolismo do ferro.....	23
1.4	Anemia ferropriva.....	26
1.5	Anemia de Doença Crônica.....	27
1.6	Outras anemias.....	29
1.7	Leucopoese.....	30
1.8	Exames complementares.....	31
1.9	Leishmaniose visceral e alterações hematológicas.....	32
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>34</b>
2.1	Geral.....	34
2.2	Específicos.....	34
<b>3</b>	<b>CASUÍSTICA e MÉTODOS.....</b>	<b>35</b>
3.1	Casuística.....	35
3.1.1	<b>Critérios de inclusão e exclusão dos pacientes no estudo.....</b>	<b>35</b>
3.1.2	Tipo de estudo.....	35
3.1.3	Protocolo.....	36
3.2	Métodos.....	36
3.3	Aspectos éticos.....	37
3.4	Análises estatísticas.....	38
<b>4</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>39</b>
4.1	Análises clínicos-epidemiológicas.....	39
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>49</b>
5.1	Aspectos clínico-epidemiológicos.....	49
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>55</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>56</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>63</b>



## 1 INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) existem cerca de 12 milhões de pessoas no mundo com leishmaniose (OMS, 2008) sendo considerada como uma das seis doenças tropicais mais importantes, tanto no Velho Mundo como nas Américas (DESJEUX, 2004; SILVA *et al.*, 2008).

A Leishmaniose visceral (L.V.) foi relatada na Grécia em 1835 quando então era denominada “ponos” ou “hapoplinakon”. Mais foi na Índia em 1869 que recebeu o nome “kala-jwar” que quer dizer febre negra ou “kala-azar” que significa pele negra em decorrência da pigmentação da pele durante a doença (MARZOCHI *et al.*, 1981).

William Leishman (1974) identificou um protozoário no baço de um soldado no ano de 1900, que foi a óbito na Índia, em decorrência de uma febre local conhecida como “febre Dum Dum” ou “Kala-azar”, sendo que suas anotações foram publicadas até 1903 quando Donovan encontrou o mesmo parasita em outro paciente (FAUST *et al.*, 1974).

As Leishmanioses são doenças causadas por protozoários pertencentes ao gênero *Leishmania* Ross, 1903, membros da família *Trypanosomatidae*, ordem *Kinetoplastida* (LAISON, 1987) e que apresentam variedades de formas da doença nas quais estão relacionadas à espécie do parasita e diferem em distribuição geográfica, hospedeiros e vetores envolvidos, taxas de incidência e de mortalidade (MARZOCHI; MARSDEN, 1991; ASHFORD, 1992). As espécies de *Leishmania* existem como flagelados extracelulares na forma promastigota dentro do intestino do mosquito fêmea e se transformam em amastigota no animal e hospedeiro humano, caracterizando-se por ser um parasita intracelular obrigatório dos macrófagos (MALLA; MAHAJAN, 2006).

A Leishmaniose Visceral (LV) é caracterizada geralmente como uma doença crônica e que tem como característica a infecção do Sistema Fagocítico Mononuclear (SFM) pelo protozoário *L. (L.) chagasi*. A infecção se manifesta com episódios febris associados à hepatoesplenomegalia, emagrecimento, anemia, às vezes aparecendo manifestações intestinais e fenômenos hemorrágicos. A doença apresenta quadro de edema, queda dos cabelos (MARZOCHI *et al.*, 1981). Alguns pacientes podem apresentar quadro clínico agudo. A causa do óbito está freqüentemente associada a quadro de infecção a nível respiratório, digestivo e

sepsis (ALENCAR, 1955; BADORÓ *et al.*, 1986; SUNDAR; RAI, 2002; MALLA; MAHAJAN, 2006).

Na Índia, 5 a 10 por cento dos doentes desenvolvem Leishmaniose dérmica pós calazar, devido a uma síndrome resultante do tratamento inadequado (MALLA; MAHAJAN, 2006).

A patologia de LV é dominada pela supressão específica de células da imunidade mediata, permitindo a disseminação e multiplicação descontrolada do parasita resultando em várias complicações (MALLA; MAHAJAN, 2006).

Estudos têm demonstrado que na LV a imunidade específica é mediada por células CD4 + T *helper* (Th) e que a susceptibilidade a doença está associada com a incapacidade de produzir uma citocina macrofágica, incluindo o interferon-gama (IFN- $\gamma$ ) e as interleucinas (IL) -2 e -12, enquanto que, por outro lado, uma elevada produção de citocinas imunossupressoras como a IL-10 e IL-4, bem como elevados níveis do fator de necrose tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ )(LIEW , 1990; SANG; 1999).

A patogênese da LV parece está relacionada com a citotoxicidade das células T e o controle de LV depende da magnitude das células Th1 e das respostas precoces de citocinas no curso da infecção (MALLA; MAHAJAN, 2006).

Indivíduos portadores de LV podem ou não desenvolver sinais e sintomas clássicos. A capacidade para produzir interleucina 2 (IL-2) e IFN- $\gamma$  (resposta Th1) está associada com uma infecção assintomática ou subclínica de autocura. Em contraste, indivíduos cujos linfócitos não proliferam e, portanto, não produzem IFN- $\gamma$  quando estimulados por antígeno de *Leishmania* irão desenvolver uma LV aguda ou infecção subclínica que progride para a doença clássica (MALLA; MAHAJAN, 2006).

A infecção por *Leishmania* é caracterizada pela habilidade dos parasitas em escapar da destruição extracelular e penetrar em células fagocíticas onde vão resistir ao seu poder antimicrobiano, persistindo mesmo na presença de resposta imune celular do hospedeiro (BOGDAN *et al.*, 1996; ROGERS *et al.*, 2002).

No Brasil o agente etiológico da LV é a *L. chagasi*, espécie semelhante à *L. infantum* encontrada em alguns países do Mediterrâneo e da Ásia. A forma de transmissão do parasita ao homem e outros hospedeiros mamíferos ocorre por meio da picada do mosquito fêmea de insetos dípteros da família *Psychodidae*, subfamília *Phlebotominae* cujo vetor principal é o *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* (Lutz & Neiva), está distribuído em todas as regiões, com exceção da Região Sul. É encontrado em todos os estados do Nordeste, Centro-Oeste (menos o Distrito Federal) e Sudeste, com o registro mais meridional dessa espécie no Estado de São

Paulo (AGUIAR; MEDEIROS 2003), sendo o cão doméstico o reservatório mais importante e o homem o hospedeiro final (ALENCAR, 1955).

Cerca de 90% dos casos de leishmaniose visceral (LV) das Américas ocorre no Brasil, sendo que a região Nordeste (85%) apresenta-se historicamente com a maior parte dos casos de LV, cerca de 90% de casos, registrados do Brasil, especialmente nos Estados do Piauí, Maranhão, Bahia e Ceará (Figura 1) (CEARÁ, 2008) e que nos últimos 20 anos, apesar da conhecida subestimação de casos, o Brasil registrou um aumento na incidência da leishmaniose visceral (DANTAS; BRANDÃO, 2006).

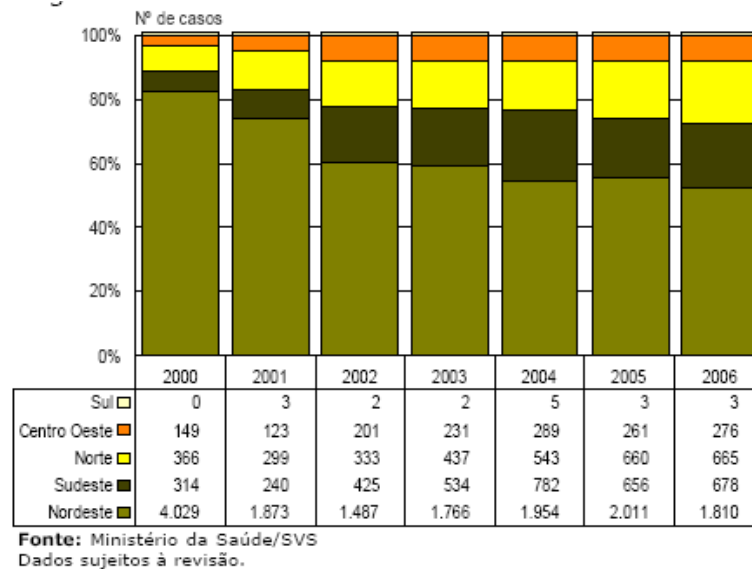


Figura 1 - Casos confirmados de LV no Brasil, por região geográfica de 2000 a 2006.  
Fonte: (CEARÁ, 2008)

A LV acomete mais crianças e adultos do sexo masculino, sendo de alta letalidade em indivíduos não tratados e em crianças desnutridas, passando a ser considerada emergente em portadores do vírus da imunodeficiência adquirida (HIV)(BRASIL, 1999).

A LV brasileira se comportava como uma antropozoonose rural até recentemente, mas após a década de 80, observou-se sua expansão também para as regiões periurbanas das grandes cidades. Este fato foi atribuído à redução do espaço natural, favorecendo as condições epidemiológicas para a expansão desta zoonose (BRASIL, 1999).

Em estudo realizado por Borges *et al.* (2008) foi verificado que o sexo masculino apresenta uma maior probabilidade em contrair a LV do que o sexo feminino. Em relação à escolaridade da população verificou-se que a maioria dos pacientes apresentou ensino médio incompleto, com desconhecimento da causa da infecção e o agente vetor.

Os casos de LV foram notificados no Ceará pela primeira vez na década de 30, sendo que a doença passou a ser descrita em 1986 de forma continua. Durante esse período observou-se que a doença apresenta picos a cada cinco anos com relação aos números de casos confirmados (Figura 2)(CEARÁ, 2008).

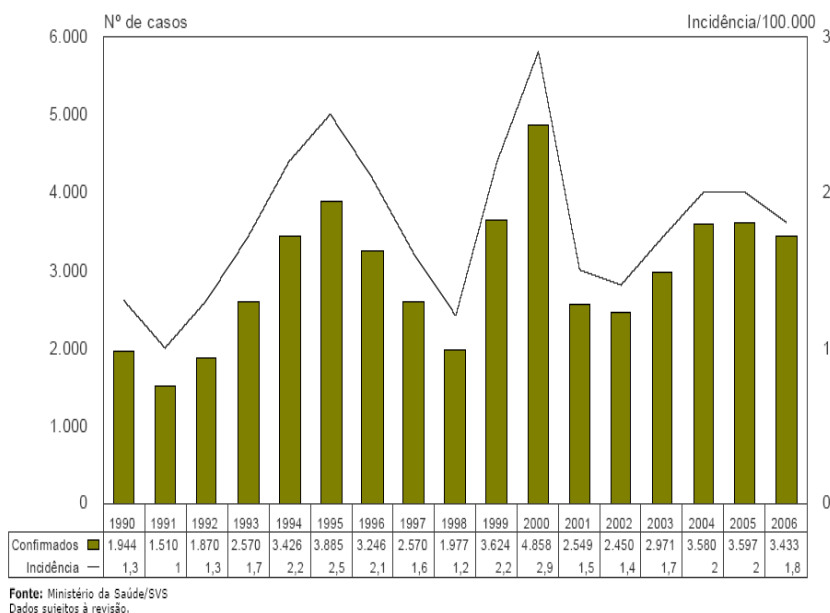


Figura 2 - Coeficiente de incidência e casos confirmados de leishmaniose visceral no Ceará, 1986 a 2008\*

Fonte: (CEARÁ, 2008)

Dados do boletim epidemiológico da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará relatam no período de 2001 a 2007 que foram registrados 4.037 casos de LV com 173 óbitos e com uma letalidade média no período de 4,3%, variando entre 3,0% em 2007 e 6,4% em 2003. Em 2008 foram notificados 131 casos de LV, com 69 confirmados em 32 municípios do Estado do Ceará, com três óbitos, sendo dois em Fortaleza e um em Caucaia (Figura 3) (CEARÁ, 2008).

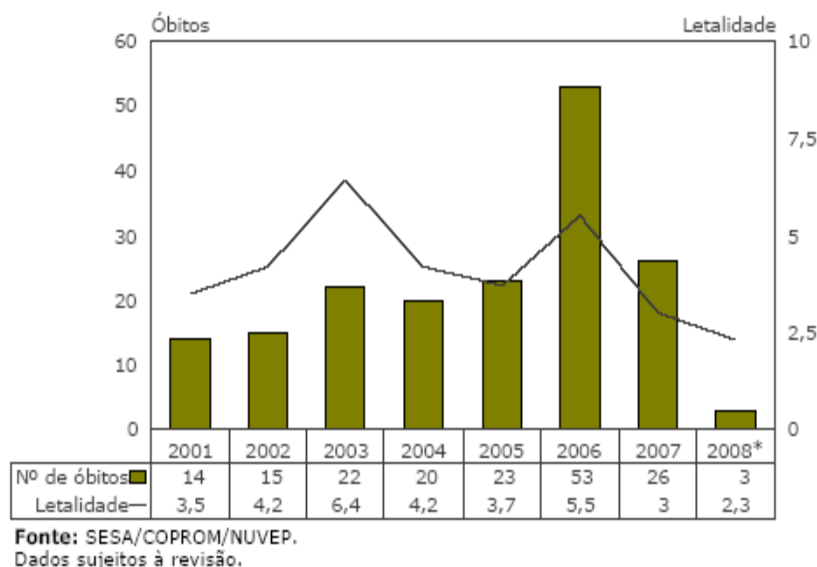


Figura 3 - Óbitos e letalidade por leishmaniose visceral no Ceará, 2001 a 2008\*

Fonte: (CEARÁ, 2008)

No Ceará foi notificado no ano de 2007, com os dados ainda não encerrados que os municípios com maior número de casos de LV foram Fortaleza, Caucaia, Sobral e Barbalha. A figura a baixo revela a incidência de casos por municípios (Figura 4)(CEARÁ, 2008).

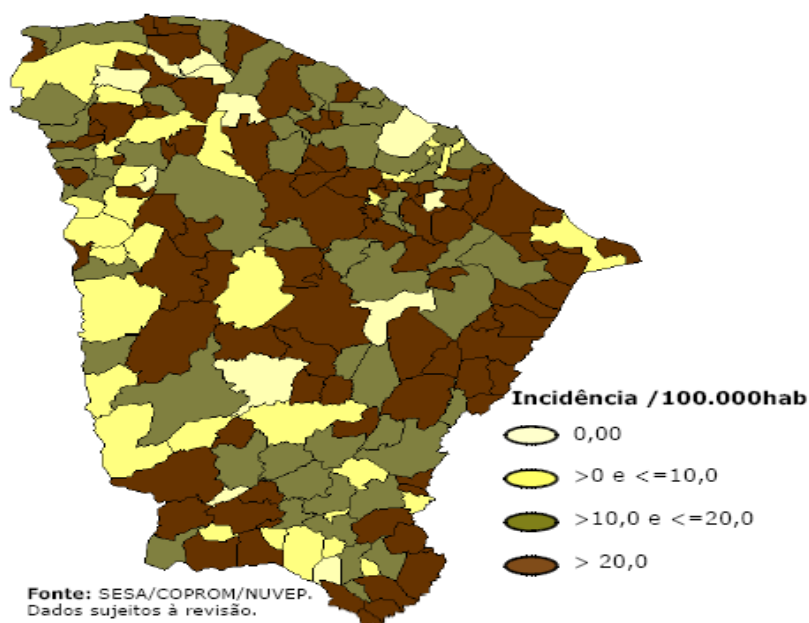


Figura 4 - Incidência da Leishmaniose no Ceará em 2007

Fonte: (CEARÁ, 2008)

Em 2008, os municípios com maior número de casos notificados de LV no Estado do Ceará foram Fortaleza, Sobral e Barbalha (CEARÁ, 2008).

O aumento cíclico de LV no Hospital Albert Sabin em Fortaleza-CE entre o período de 1995 a 2002 sugere que a transmissão de *L. chagasi* e a ocorrência da doença estão fora do controle do Estado do Ceará. O grupo demonstrou a partir de um estudo retrospectivo da análise de prontuários, de crianças portadoras de LV, que a doença apresentava picos a cada cinco anos e que afeta principalmente crianças com idade inferior a cinco anos e de procedência da zona urbana e que a mortalidade esteve associada à baixa idade e às infecções concomitantes (REY *et al.*, 2005).

Com relação à classificação das áreas de transmissão da LV, o Ministério da Saúde e a Vigilância Epidemiológica definem as áreas em quatro níveis: sem transmissão, transmissão esporádica ( $\geq 0,1$  e  $\leq 2,3$ ), transmissão moderada ( $\geq 2,4$  e  $\leq 4,3$ ) e transmissão intensa ( $\geq 4,4$ ). Além disso, para um maior detalhamento de áreas mais vulneráveis os municípios de transmissão intensa foram subdivididos em

três níveis: TI Baixa ( $\geq 4,4$  e  $\leq 16,9$ ), TI Média ( $\geq 17,0$  e  $\leq 55,6$ ) e TI Alta ( $\geq 55,7$ )(Figura 5) (CEARÁ, 2008).

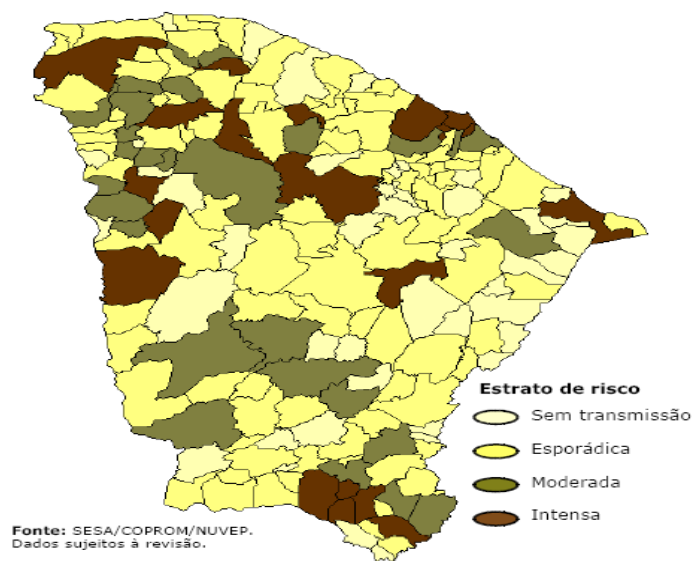


Figura 5 - Estratificação de risco para LV do Ceará, 2005 a 2007\*

Fonte: (CEARÁ, 2008)

## 1.1 Hematopoese

A hematopoese é o mecanismo responsável pela formação das células sanguíneas. Após o nascimento o órgão responsável pela hematopoese é a medula óssea (MO). Para que as células hematopoéticas se desenvolvam é necessário à existência um microambiente medular normal, capaz de sintetizar fatores necessários à sobrevivência das células progenitoras (fatores de crescimento), acomodar as células em desenvolvimento e favorecer as interações entre células de diferentes tipos e dos fatores essenciais para a síntese da hemoglobina (REGO, 2004).

Durante a vida intra-uterina, a hematopoese se inicia nas ilhotas sanguíneas do saco vitelínico e nas primeiras semanas de gestação é praticamente restrita à eritropoese. Após a 6<sup>a</sup> e 8<sup>a</sup> semana de gestação, o fígado e o baço passam a ser os principais sítios de hematopoese até aproximadamente a metade da gestação. Esta mudança é acompanhada por alterações características das células sanguíneas e os eritrócitos produzidos são menores em tamanho e com hemoglobinas diferentes do período anterior (REGO, 2004).

A MO é o principal órgão hematopoético a partir do 5<sup>o</sup> mês de gestação e assim como no período hepático produz todas as linhagens hematopoéticas. No final da gestação, todo espaço intramedular passa a ser ocupado por células

hematopoéticas. Após o nascimento, sob condições fisiológicas, a MO é o único sítio de produção do tecido hematopoético (REGO, 2004).

## 1.2 Eritropoese

A eritropoese como processo dinâmico de formação das hemácias na medula óssea envolve uma grande variedade de células em diferentes estágios de maturação, começando com a primeira progênie da célula-tronco comprometida com a diferenciação mielóide seguida de eritróide, finalizando com a célula efetora da linhagem eritróide a hemácia (AZEVEDO, 2008).

Para Lorenzi (2006), o termo *éritron* compreende a massa total das células eritróides com sendo as células progenitoras, precursoras eritróides e as hemácias.

Dentre os hormônios estimuladores da eritropoese, a eritropoetina (EPO) é considerada como sendo o principal regulador humoral da produção das hemácias. A EPO é sintetizada pelas células do parênquima renal e do fígado atuando na proliferação e diferenciação das células progenitoras e precursoras da linhagem eritróide. Na presença de hipoxia tecidual o organismo aumenta a produção de EPO com a finalidade de compensar a perda periférica (AZEVEDO, 2008).

Outros fatores tais como o hormônio de crescimento e os andrógenos estimulam a eritropoese, que necessita além dos fatores de crescimento, a presença de ferro, ácido fólico, vitamina B12 e vitamina B6, aminoácidos essenciais e hormônios da tireóide em quantidades normais para garantir o equilíbrio entre a produção e a destruição das hemácias (AZEVEDO, 2008).

A *stem cell* gera quando estimulada, progenitores comissionados para a linhagem eritróide. As células eritróides progenitoras são identificadas morfológicamente, mas sendo funcionalmente detectáveis devido a sua capacidade de formar colônias de eritroblastos *in vitro* (ZAGO, 2004). Dentre elas temos a unidade formadora de colônias eritróide (CFU-E – *colony forming unit-erythrocytic*) e BFU-E (*burst-forming units-erythrocytic*) que sob a influência de baixas concentrações de EPO dão origem na MO a colônias de eritroblastos (LORENZI, 2006).

As células precursoras da linhagem eritróide são identificadas morfológicamente. Durante o processo de maturação, dois importantes fenômenos ocorrem de forma progressiva: (1) condensação da cromatina nuclear (maturação do

núcleo) e (2) hemoglobinizacão do citoplasma, à medida que a hemoglobina vai sendo sintetizada. Durante o processo de diferenciação as células precursoras eritróides diminuem em tamanho e passam a apresentar uma coloração citoplasmática próxima a cor da hemácia. Essas modificações são atribuídas a uma diminuição na síntese de DNA, RNA e aumento da síntese da hemoglobina durante o processo de proliferação e diferenciação. No estágio de eritroblasto ortocromático o núcleo é expulso da célula sendo posteriormente fagocitado pelas células fagocíticas da MO gerando o reticulócito (ZAGO, 2004).

A maturação dos eritroblastos é caracterizada pelo acúmulo progressivo de glicoforina A na membrana eritrocitária, expressão essa que depende da ação da EPO e do fator-1 de transcrição eritróide (GATA-1). Na deficiência de EPO e/ou de GATA-1 compromete a maturação dos eritroblastos levando, ao acúmulo de progenitores eritrocitários imaturos com elevada concentração de receptores apoptogénicos (Fas, DR4 e DR5) e, portanto, altamente susceptíveis à apoptose (CANÇADO, 2007).

Recentes observações demonstraram que as células plasmáticas apresentam elevada concentração de receptores Fas-L e TRAIL, e a exposiçao *in vitro* dessas células com eritroblastos imaturos induz a apoptose desses últimos através da ativação da cascata das caspases intracelular e clivagem do fator GATA-1. A suplementação de EPO nessas culturas é capaz de prevenir esse processo (DE MARIA *et al.*, 1999; SILVESTRIS *et al.*, 2001).

A figura 6 representa esquema da indução da apoptose dos precursores eritróides via mecanismo Fas-L e TRAIL.

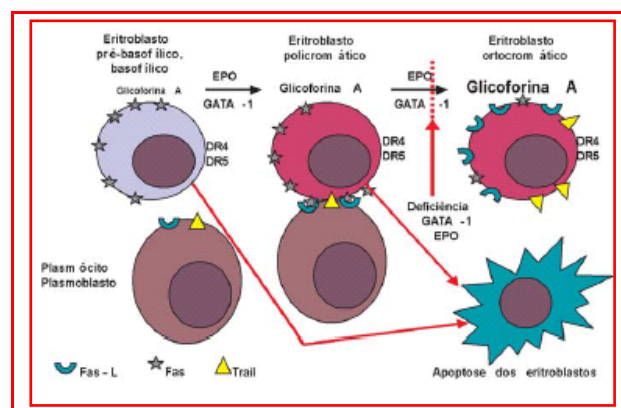


Figura 6 - Representação esquemática da indução da apoptose dos precursores eritrocitários por mecanismos via Fas-L e Trail

Fonte: Modificado de Silvestris *et al.* (2001)

O reticulócito é uma célula anucleada que ainda possui capacidade de síntese de hemoglobina devido à persistência de organelas e de receptores para



transferrina. O reticulócito permanece na MO por 24 a 48 horas sendo lançados no sangue periférico e transformando-se em eritrócito em 24 horas (AZEVEDO, 2008).

A contagem do número de reticulócito no sangue periférico é um parâmetro relevante para estabelecer o índice da efetividade global da eritropoese e determinar a origem central ou periférica da anemia, assim como, para definir o caráter regenerativo ou arregenerativo das síndromes anêmicas (AZEVEDO, 2008).

### 1.3 Metabolismo do ferro

O ferro é um metal de transição que entra no organismo unicamente através dos alimentos, participando do transporte de oxigênio (hemoglobina), elétrons (citocromos) e também como catalisador de muitas reações necessárias para o desenvolvimento, diferenciação e proliferação celular (LORENZI, 2006).

O ferro pode ser encontrado sob as formas ferrosa ( $\text{Fe}^{2+}$ ) e férrica ( $\text{Fe}^{+3}$ ) e o conteúdo corpóreo para um homem adulto é de cerca de 40 mg/Kg de peso, sendo que uma parte desempenha funções metabólicas e oxidativas (70 a 80%) e a outra se encontra sob a forma de armazenamento como ferritina e hemossiderina no fígado, baço e MO (20% a 30%)(MAHANA, 2008).

A absorção do ferro é realizada principalmente no duodeno e no jejuno proximal e é dependente da quantidade e natureza do complexo de ferro presentes no lúmen intestinal, assim como da atividade da medula óssea (eritropoese) e de suas reservas orgânicas (MAHANA, 2008).

A primeira etapa na absorção do ferro é a redução do ferro férrico em ferro ferroso com o auxílio de uma redutase férrica transmembrânica. Acoplado à enzima encontramos o transportador DMT1(*divalent metal transporter 1*), que permite a passagem do mineral através da membrana apical para o citoplasma do enterócito. Uma vez no citoplasma do enterócito, o ferro pode atravessar a membrana basolateral chegando ao plasma, usando como transportador a *ferroportina* ou *Ireg1* (*iron regulated transporter 1*), uma proteína que age acoplada a hefestina. O ferro chega ao plasma, é reoxidado pela hefestina na membrana ou no meio extracelular pela ceruloplasmina (MAHANA, 2008) (Figura 7).

O ferro é transportado no plasma pela transferrina através da ligação com o  $\text{Fe}^{+3}$ , glicoproteína reconhecida pelos tecidos através de um receptor específico (TfR1), cuja expressão na superfície celular aumenta de acordo com a necessidade de ferro teciduais, sendo transportado para os depósitos de ferro incluindo fígado, músculos e eritroblastos da MO. A síntese desse receptor é incrementada tanto pelo

aumento da eritropoese quanto pela redução da disponibilidade de ferro (AISEN,1999). O complexo transferrina/receptor é endocitado e as novas vesículas se ligam a endossomos, quando há acidificação do meio (pH 5,0) e liberação do ferro da transferrina (CANÇADO, 2007) (Figura 8).

Uma vez disponibilizado o ferro para as mitocôndrias a ser acoplado a protorfoporfirina, formado a porção heme da hemoglobina ou para ser incorporado a ferritina. O estoque de ferro é constituído principalmente pela ferritina ( $\text{Fe}^{+3}$  associado à apoferritina). Quando o estoque de ferro é saturado, forma-se um composto insolúvel chamado hemossiderina. O ferro mantém um intercâmbio entre o *pool* funcional e o *pool* de armazenamento (MAHANA, 2008).



Figura 7 - Transporte de ferro pelo eritrócito  
Fonte: Calado (2004)

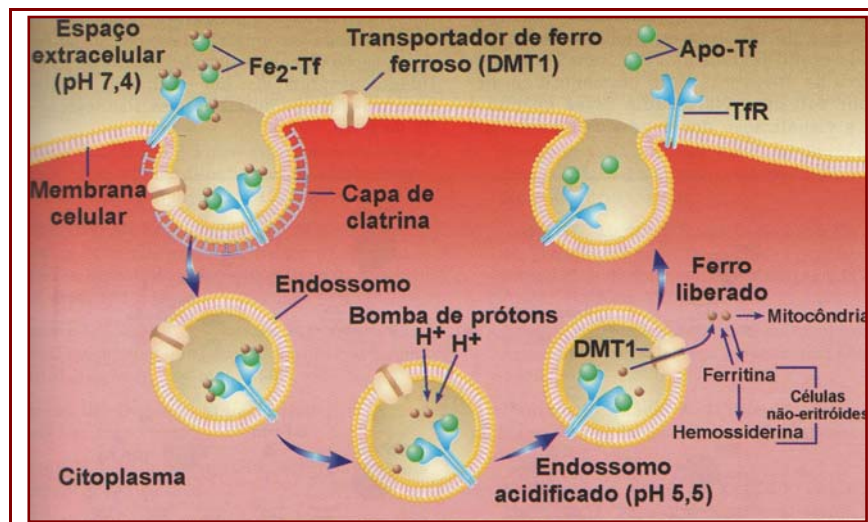


Figura 8 - Ciclo da transferrina

Fonte: Calado (2004)

A grande maioria dos microorganismos, incluindo bactérias e protozoários requer ferro para a sua sobrevivência. As formas promastigotas da *Leishmania sp.* pode utilizar como fonte o ferro para o seu crescimento através do heme, hemoglobina, transferrina, lactoferrina ou Fe-NTA (BRITIGAN *et al.*, 1994; SENGUPTA *et al.*, 1999). Sob condições normais a transferrina e a lactoferrina que são as principais formas extracelulares de ferro, não são totalmente saturadas com o ferro, resultando em quantidades de ferro livre no soro ou tecidos, sendo então utilizados pelos mesmos (WILSON *et al.*, 1994).

A formas promastigotas de *L. chagasi* reduzem o  $Fe^{+3}$  para  $Fe^{+2}$  diminuindo a afinidade do ferro pela lactoferrina e transferrina, consequentemente disponibilizando mais ferro para uso próprio. Este mecanismo poderia explicar a diminuição do ferro circulante na LV (WILSON *et al.*, 2002).

#### 1.4 Anemia Ferropriva

A deficiência de ferro é considerada a deficiência nutricional mais comum no mundo. Os sintomas de deficiência de ferro são sutis e inespecíficos e muitas vezes só se manifestam com anemia severa, podendo causar redução da capacidade de trabalho em adultos e impactar no desenvolvimento mental e motor em crianças e adolescentes (SCHNEIDER *et al.*, 2005)

Entre as principais causas da anemia ferropriva em adultos deve-se à ingestão insuficiente de ferro devido a uma dieta vegetariana desbalanceada, ou através da perda de sangue crônica, seja nos períodos menstruais intensos, doenças crônicas que envolva sangramentos como, úlceras, pólipos ou tumores intestinais e hemorragias decorrentes de traumatismos, ou ainda, pelo aumento das

necessidades diárias como, gestação, amamentação, crescimento na adolescência, exercícios competitivos (AZEVEDO, 2008).

Em crianças as principais causas estão relacionadas com a prematuridade e baixo peso ao nascer, ingestão insuficiente de ferro: amamentação exclusiva após os seis meses de idade, introdução de leite de vaca, como principal alimentação, antes dos 12 meses, ausência ou baixa ingestão de carne, alta ingestão de leite de vaca (AZEVEDO, 2008).

A deficiência de ferro caracteriza-se por depleção progressiva dos estoques de ferro do organismo, apresentando-se dividida em estágios como: depleção dos estoques de ferro em que os níveis de hemoglobina estão normais e os níveis de ferritina estão baixos, o paciente não apresenta sintomas claros; Estágio de eritropoese ineficaz em que tanto os níveis de ferritina como o de hemoglobina apresentam-se diminuídos, o paciente pode apresentar os sintomas clássicos da doença; e propriamente anemia, em que os níveis de hemoglobina estão tão baixos que o sangue é incapaz de oxigenar suficientemente as células. Os principais sintomas incluem palidez severa, fadiga e taquipnéia. A citomorfologia dos glóbulos vermelhos apresenta-se microcítica e hipocrômica (ZAGO, 2005).

### **1.5 Anemia da Doença Crônica**

Segundo Cançado (2002), a anemia de doença crônica (ADC) é usualmente definida como a anemia que ocorre em distúrbios infecciosos crônicos, inflamatórios ou doenças neoplásicas e é uma das síndromes clínicas mais comuns na prática clínica e que se caracteriza com uma anemia normocítica e normocrômica, às vezes microcítica e hipocrômica leve a moderada, com diminuição dos níveis séricos de ferro (hipoferremia) na presença de estoques adequados de ferro (CANÇADO, 2002).

No que se refere à patogênese da ADC, três principais mecanismos estão envolvidos na etiopatogenia tais como, a diminuição da sobrevivência das hemácias, resposta medular inadequada frente à anemia e distúrbio do metabolismo do ferro (MEANS, 1992 ; FUCHS, 1991).

Relatos da literatura atribuem a resposta medular inadequada frente ao grau da anemia em pacientes com ADC à ação das citocinas, como a Interleucina 1(IL-1), Interleucina 6 (IL-6), TNF $\alpha$  e IFN  $\gamma$ , pelos macrófagos ativados que atuam inibindo a proliferação dos precursores eritrocitários inibindo a eritropoese, a uma

produção diminuída e uma menor resposta à EPO e a diminuição da disponibilidade de ferro para eritropoese (Figura 9) (MEANS, 1992; AZEVEDO, 2008).

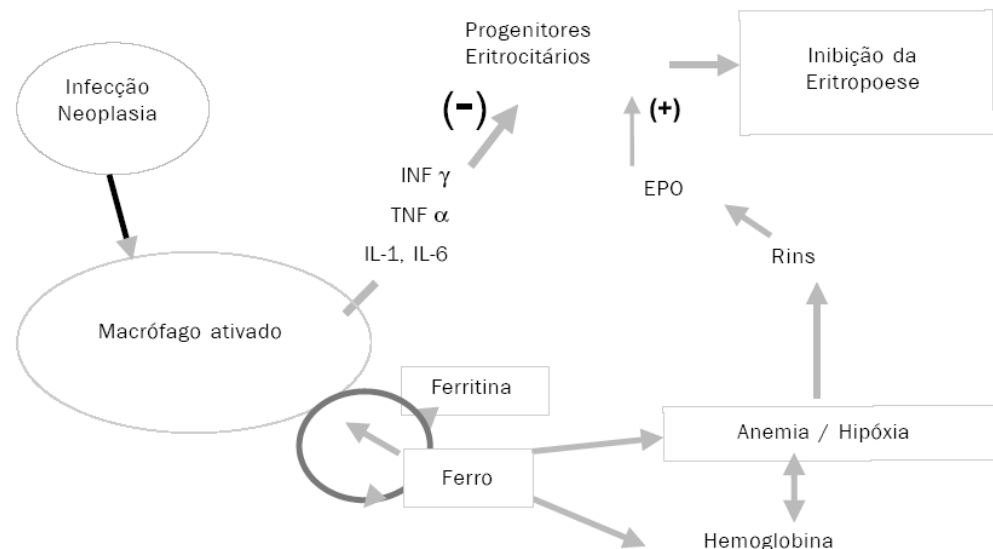


Figura 9 - Representação esquemática da ação das citocinas sobre a eritropoese em pacientes com Anemia de Doença Crônica.

Fonte: Adaptado de Cançado (2002)

O perfil do ferro na ADC caracteriza-se pela concentração de ferro sérico e capacidade total de ligação do ferro normal ou diminuída e a saturação de transferrina é normal, a ferritina sérica normal ou aumentada. Estes achados colaboram para a hipótese de que na ADC existe um bloqueio na reutilização do ferro, fato este atribuído ao aumento da síntese de lactoferrina, pelos neutrófilos induzida pela IL-1 durante o processo inflamatório. A lactoferrina apresenta uma maior afeição pelo ferro, portanto retendo nas células do sistema reticulo endotelial (AZEVEDO, 2008; CANÇADO, 2002).

Observou-se a importância da hepcidina na regulação da homeostase do ferro do organismo e que tanto em animais como em humanos a IL-6 age diretamente sobre os hepatócitos estimulando a síntese de hepcidina, cuja concentração plasmática pode aumentar em até 100 vezes e que atua inibindo a absorção intestinal de ferro e diminuindo a liberação de ferro presente nos macrófagos para o plasma (Figura 10)(GANZ, 2003).

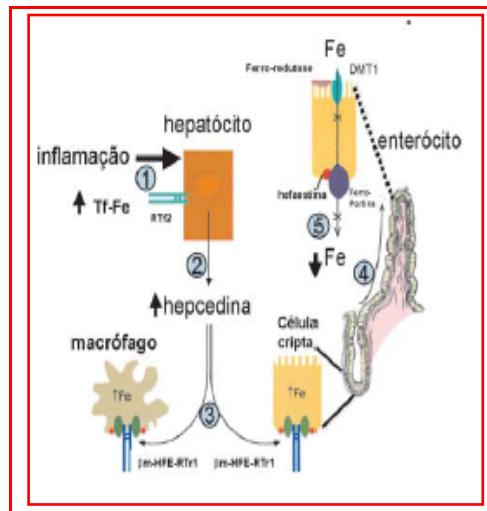


Figura 10 - Representação esquemática das principais etapas do envolvimento da hepcidina na regulação do metabolismo do ferro

Fonte: Adaptado de Cançado (2007)

## 1.6 Outras anemias

O ácido fólico é uma vitamina hidrossolúvel do complexo B que atua como coenzima na transferência de carbono no metabolismo do ácido nucléico e dos aminoácidos. A deficiência de ácido fólico na dieta se caracteriza laboratorialmente pela redução do folato sérico e ou intraeritrocitário, aumento da concentração de homocisteína e presença de alterações no sangue periférico (macro ovalócitos e neutrófilos hiperlobulados), na MO, no trato gastrointestinal (MAHANA, 2008).

A vitamina B12 é sintetizada por bactérias e fungos encontrados na água, no solo, na carne, leite e derivados que participa como cofator na síntese do DNA. Na circulação é transportada pela transcobalamina II, proteína sintetizada no fígado (MAHANA, 2008).

Alterações megaloblásticas foram demonstradas sangue periférico e MO de pacientes portadores de LV como a presença de macrócitos e neutrófilos hipersegmentados, caracterizando anemia do tipo megalobástica (SINHA *et al.*, 2006).

Na LV tem sido descrito também o envolvimento imunológico na patogênese da anemia. Este fato é atribuído ao elevado grau de positividade para os testes de Coombs direto e ELAT positivos em pacientes com LV não tratados. No entanto, evidências de hemólise são pouco freqüente no quadro clínico desses pacientes (VILELA *et al.*, 2002).

## 1.7 Leucopoese

A formação e a diferenciação dos leucócitos ocorrem na MO, sendo que os linfócitos T apresentam uma particularidade no que se refere ao local de diferenciação que acontece no timo (LECLAIR, 2007).

A teoria da *stem cell* define como leucopoese a formação de progenitores leucocitários a partir da estimulação da *stem cell* gerando células comprometidas com a linhagem mielóide e outras com a linhagem linfóide. A célula progenitora mielóide ou unidade formadora de colônias de granulócitos, eritróide, monócitos e megacariocítica (CFU-GEMM) gera as células precursoras mielóides de acordo com o tipo de estímulo. A célula progenitora linfóide por sua vez gera as células precursoras linfóides, que dependendo do sítio (timo ou MO) vai gerar linfócito T, B ou NK (*natural Killer*) (LECLAIR, 2007).

Os leucócitos podem ser divididos em várias categorias com base na sua função específica, sítio de origem ou morfologia. A função de todos os leucócitos consiste na defesa contra agentes estranhos e essa defesa é potencializada através da participação de outras células tais como macrófagos entre outras (LECLAIR, 2007).

O sistema de fagócitos mononucleares é composto por um conjunto de células que apresentam capacidade fagocitária e lisossomos bem desenvolvidos, adaptados à defesa contra microorganismos, eliminação de restos celulares e participação nos mecanismos imunes pela interação com células do sistema linfóide, como apresentadora de antígenos (MEDZHITOV, 2000).

Rey *et al.* (2005), demonstraram que além da anemia outras alterações hematológicas periféricas podem ser encontradas em pacientes com LV não tratados. Dentre as alterações o grupo destaca a leucopenia com neutropenia relativa e absoluta e plaquetopenia.

Os relatos hematológicos são escassos e a maioria deles publicada a mais de vinte anos. No Ceará foi realizado um estudo da avaliação clínica, epidemiológica e hematológica em crianças portadoras de LV, no período de janeiro de 1995 a dezembro de 2002 na admissão e na alta hospitalar. As alterações hematológicas observadas no estudo foram: anemia, leucopenia, neutropenia e plaquetopenia. Achados estes que retornaram aos valores de normalidade com a alta hospitalar com exceção da anemia (REY *et al.*, 2005).

## **1.8 Exames complementares**

A velocidade de hemossedimentação (VHS) mede o grau de sedimentação de glóbulos vermelhos em uma amostra de sangue durante um período específico. Reflete o resultado entre as forças envolvidas no movimento de sedimentação das hemácias e os mecanismos opostos exercidos por substâncias plasmáticas, principalmente o fibrinogênio e as proteínas de fase aguda. A capacidade de agregação das hemácias depende de fatores ligados às mesmas, como a força de coesão entre as hemácias e sua carga elétrica, que tem uma força repulsiva mantendo as hemácias afastadas em condições normais e fatores plasmáticos que têm como função atenuar o efeito das forças repulsivas. A presença de processos inflamatórios leva a uma agregação maior das hemácias, formando agregados conhecidos como “rouleaux”, favorecendo o aumento da velocidade de sedimentação das hemácias (LEWIS, 2006).

A VHS é um teste muito sensível, porém não específico que é freqüentemente o primeiro indicador de doença quando outros sinais químicos e físicos estão normais. A VHS comumente aumenta significativamente em doenças inflamatórias disseminadas: as elevações podem ser prolongadas em inflamação localizada e câncer (RIBEIRO, 2008).

Nos resultados dos trabalhos realizados por Rey *et al.*, (2005) foi observado que a VHS dos pacientes com LV em análises, que na admissão hospitalar apresentaram uma média de 86 mm, mostrando que nos processos agudos este parâmetro laboratorial apresenta-se aumentado e que durante a alta hospitalar este, apresentou-se com uma taxa de redução de 24%, demonstrando uma melhora clínica (REY *et al.*, 2005).

Em estudos realizados por Rey *et al.* (2005), também demonstraram que a média da atividade de protrombina na população estudada foi de 68,9%. O comprometimento dos fatores da coagulação associado com a trombocitopenia podem resultar em graves episódios de hemorragia (REY *et al.*, 2005; MALLA; MAHAJAN, 2006). As alterações do TAP podem estar associadas com deficiências de fatores inclusos na via extrínseca clássica (Fatores VII, X, V, II e fibrinogênio) com uma combinação desses fatores ou com a presença de um inibidor (MILLER, 1999).

## **1.9 Leishmaniose visceral e alterações hematológicas no sangue periférico**



O envolvimento hematológico é comum na LV, sendo a anemia a anormalidade mais freqüente decorrente de causas diversas e com prevalência variável conforme a população analisada (FERNÁNDEZ-GUERREIRO *et al.*, 1987; NICODEMO *et al.*, 1984).

Para Azevedo (2008), a anemia se define como a diminuição da concentração de hemoglobina abaixo dos limites considerados normais para uma determinada população de mesma idade, sexo e localização geográfica (AZEVEDO, 2008).

Alguns estudos têm relatado que a causa da anemia na LV é imunohematológico (MAHAJAN; MARWAHA, 2007). Além disso, a anemia pode ser decorrente da deficiência de ferro, de vitamina B12 ou ácido fólico, seqüestro esplênico e ação de citocinas pró-inflamatórias que atuam na MO inibindo à eritropoese (BORDIN, 2004).

O grau da anemia na LV na sua grande maioria varia de moderada a acentuada, sendo caracterizada por uma contagem de reticulócitos normal ou diminuída (ZAGO, 2004). A análise morfológica eritrocitária revela uma anemia do tipo morfológica normocítica e normocrômica. A ausência de policromatofilia na LV caracteriza que a anemia é arregenerativa, ou seja, com resposta insuficiente da eritropoese (BORDIN, 2004).

Em relação aos achados laboratoriais no leucograma tais como leucopenia, neutropenia, linfocitose e monocitose de forma pronunciada são atribuídos a uma MO caracterizada como hipocelular devido à parasitemia (BELIÉ *et al.*, 2000).

Segundo Sheikhan (2004) a partir da análise de 442 mielogramas, 105 foram encontradas as formas amastigota de leishmaniose e associado com a presença de diseritropoese. Dentre os 105 casos de LV, 17 apresentaram uma diseritropoese nuclear proeminente. No entanto, o estudo demonstrou que não houve uma correlação positiva entre a diseritropoese e a aparasitemia na MO. O estudo atribui à possibilidade de que ambas a diseritropoese nuclear proeminente e a parasitemia medular podem sofrer a influência de uma citocina em comum (SHEIKHAN, 2004).

O achado de plaquetopenia no sangue periférico em pacientes com LV envolve mecanismos tais como, imune, hiperesplenismo ou à hipoplasia da linhagem megacariocítica (ZAGO, 2004).

Dentre deste contexto o presente estudo se propõe a investigar possíveis alterações hematológicas no sangue periférico de pacientes com LV não tratados

dando um enfoque maior na anemia por se tratar da alteração mais freqüente e mais associada com a morbidade. O trabalho também se propõe a avaliar outros exames completos tais como a Velocidade de sedimentação das hemácias e o tempo de protrombina com o intuito de caracterizar o processo como crônico e com comprometimento também na hemostasia.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

- Avaliar o padrão das alterações hematológicas periféricas em pacientes portadores de leishmaniose visceral.

### **2.2 Específicos**

- Avaliar as manifestações clínicas observadas no momento do diagnóstico;

- Verificar a frequência e as possíveis causas de anemia;
- Avaliar os parâmetros do eritrograma bem como a contagem de reticulócitos entre os pacientes com LV em relação ao grupo controle;
- Comparar o perfil do ferro (ferro sérico, ferritina e transferrina) e da vitamina B12 e do ácido fólico, entre os pacientes com LV em relação ao grupo controle;
- Avaliar os parâmetros do leucograma, assim como a contagem de plaquetas entre os pacientes com LV em relação ao grupo controle;
- Comparar os exames laboratoriais, VHS e o tempo de protrombina dos pacientes com LV em relação ao grupo controle.

### **3 CASUÍSTICA E MÉTODOS**

#### **3.1 Casuística**

O recrutamento dos pacientes, de ambos os sexos, maiores de 16 anos de idade foi realizado no período de Janeiro de 2007 a Junho de 2008, em pacientes com Leishmaniose Visceral (n=30), admitidos no Hospital São José de Doenças Infecciosas (HSJ), localizado na cidade de Fortaleza, capital do estado do Ceará e um grupo controle (n=30) constituído de doadores de sangue do Hemocentro de Ceará (HEMOCE).

##### **3.1.1 Critérios de inclusão e exclusão dos pacientes em estudo**

### *Critérios de Inclusão*

- ter o diagnóstico de leishmaniose visceral confirmado pelo mielograma, com a presença de formas amastigotas de *Leishmania sp*;
- assinatura do termo de consentimento, livre e esclarecido;
- pacientes com LV sem tratamento;
- Grupo controle apresentar sorologia negativa para Leishmaniose e demais exames sorológicos exigidos para a rotina de Banco de Sangue.

### *Critérios de exclusão*

- pacientes gestantes portadoras de LV em qualquer período gestacional;
- pacientes de ambos os sexos portadores de LV que apresentam co-infecção;
- pacientes com LV em tratamento;

### 3.1.2 Tipo de Estudo

O estudo trata-se do tipo transversal onde os dados foram comparados com um grupo controle constituídos por doadores de sangue do Hemoce e com dados da literatura.

### 3.1.3 Protocolo

Depois da assinatura do termo de consentimento e preenchimento da ficha de identificação do paciente (**Apêndice A**), foi procedida coleta de sangue por punção venosa periférica.

As amostras foram colhidas com anticoagulante, etileno diamina tetracetato dissódico (EDTA), para obtenção de sangue total para a realização dos testes: hemograma, VHS e contagem de reticulócitos, em citrato trissódico (0,32%) para obtenção de plasma citratado para a realização do TAP e amostras sem anticoagulante para obtenção de soro para a realização dos testes: ferro sérico, ferritina, transferrina, vitamina B12 e ácido fólico sérico (LEWIS, 2006). As amostras foram transportadas ao Laboratório do Hospital Geral de Fortaleza (HGeF) do Exército Brasileiro(HGeF) e para o Laboratório Louis Pasteur Medicina Diagnóstica,

em recipientes térmicos para serem processadas no período máximo de uma hora após a coleta sangüínea.

### 3.2 Métodos

Para a análise dos parâmetros sangüíneos periféricos foi utilizado o Contador Hematológico PENTRA 60 (ABX<sup>®</sup>), que apresenta como princípios a impedância e a absorbância associada à citoquímica, citometria de fluxo e fluorimetria como princípios para contagem e diferenciação das células sanguíneas, seguida de revisão citomorfológica através do esfregaço sangüíneo, corado pelo método panótico de coloração hematológica.

Para a classificação morfológica das hemácias, utilizamos os critérios descritos por Coutinho (2005), que estabelece uma nomenclatura para o grau de variação da alteração encontrada, como: discreto, moderado, ou intenso ou símbolos em cruces, (+) muito discretas; (++) evidentes mais não muito intensas; (+++) acentuadas; (++++) muito acentuadas, aplicando-se às observações da anisocitose microcitose, macrocitose e da poiquilocitose. No eritrócito normal o halo central ocupa 30% de diâmetro, para avaliação da hipocromia, considerou-se (+) de hipocromia com halo claro de pouco maior de 30%, (++) de 50%; (+++) de 75 % e (++++) a hipocromia é tão intensa que resta somente um anel fino de hemoglobina no contorno do glóbulo.

A contagem de reticulócitos foi realizada através da coloração supravital utilizando-se como corante o azul-de-cresil brilhante (LEWIS, 2006). A determinação da VHS foi pelo método de Westergreen, com uma hora de observação (LEWIS, 2006).

Para a determinação do tempo de protrombina (TAP) utilizou-se o método de Quick (LEWIS, 2006) em um equipamento coagulômetro START (STAGO DIANÓSTICA<sup>®</sup>), que determina o tempo de formação de coágulo expresso em atividade de protrombina.

Para as determinações bioquímicas foram utilizados os seguintes equipamentos: analisador bioquímico HITACHI Modular P800 e Modulo E/Roche<sup>®</sup> para as dosagens séricas de ferro (Colorimétrico enzimático)(SIEDEL *et al.*, 1984) e ferritina por imunoturbidimetria (FORMAN *et al.*, 1980), transferrina por imunoturbidimetria (KREUTZER, 1976), vitamina B12 (GUTCHO *et al.*, 1977) e ácido

fólico séricos (DUNN *et al.*, 1973) por eletroquimioluminescência. Os valores de referência dos parâmetros hematológicos estão listados no **Apêndice B**.

### **3.3 Aspectos Éticos**

A proposta deste estudo foi apresentada ao Comitê de Ética em Pesquisa Hospital São José de Doenças Infecciosas, sob o protocolo de nº 014/2006 e aprovado com o Parecer Consubstanciado em 25 de Julho de 2006 (**Apêndice C**). Os exames laboratoriais foram realizados em parceria com o Laboratório do HGeF, Laboratório Louis Pasteur Medicina Diagnóstica e Departamento de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará.

Aos pacientes ou aos seus acompanhantes ou aos responsáveis, antes de cada entrevista foi explicado o objetivo da pesquisa, garantindo privacidade das suas informações, assim como a liberdade de o mesmo sair da pesquisa sem qualquer prejuízo para a realização de seus exames (**Apêndice D**).

### **3.4 Análise Estatística**

Os dados clínico-laboratoriais foram tabulados e organizados através de gráficos e tabelas com o auxílio do programa Microsoft Excel 2000 (Microsoft®, EUA).

O programa utilizado para a análise das variáveis categorizadas foi o SPSS® 13.0. A comparação entre os grupos, em relação à média das variáveis quantitativas foi realizada através do Teste t de Student, para os dados com hipótese de distribuição normal e Mann-Whitney, no caso de não normalidade dos dados. As análises descritivas das variáveis categóricas foram feitas com utilização de tabelas e gráficos; nas análises quantitativas, pela utilização de quadros compostos de média, desvio padrão, mínima, mediana e máximo. Foram considerados estatisticamente significantes valores de  $p < 0,05$ .

## **4 RESULTADOS**

### **4.1 Análises Clínico-epidemiológicas**

Dentre os 30 pacientes com LV avaliados observou-se que todos são procedentes do Estado do Ceará, sendo que 37% dos pacientes foram da cidade de Fortaleza e que 63% do interior do Estado do Ceará (Figura 11).

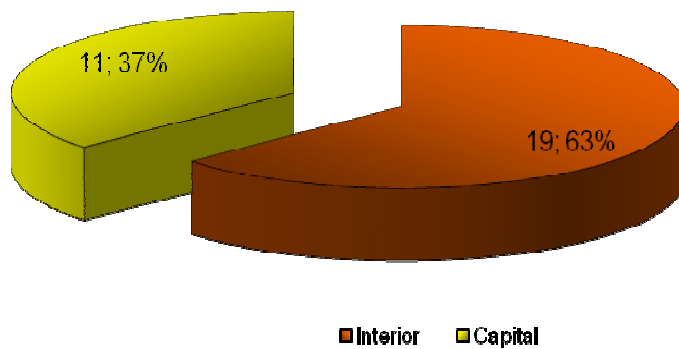


Figura 11 - Percentual de pacientes com LV distribuídos segundo a procedência no Estado do Ceará

Em relação ao sexo (Figura 12), verificou-se que 24 (80%) pacientes com LV eram do sexo masculino e 6 (20%) do sexo feminino. A razão observada foi de 4,0 homens para cada mulher (4,0: 1).

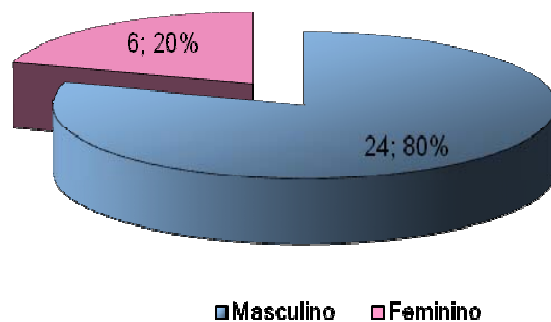


Figura 12 - Percentual de casos distribuídos dos pacientes com LV segundo o sexo

A distribuição dos pacientes com LV de acordo a faixa etária revelou uma maior frequência, compreendendo entre 31 a 45 anos (57%) para ambos os sexos (Figura 13).



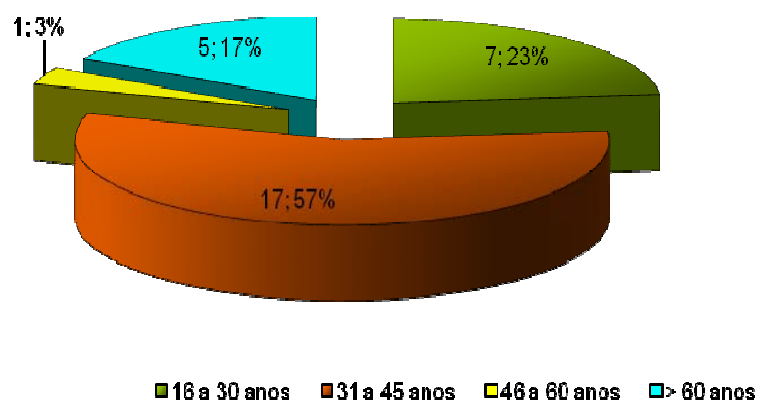


Figura 13 - Percentual de casos distribuídos segundo a faixa etária dos pacientes com LV.

Na figura 14 verifica-se que o tempo da doença nos pacientes com LV na sua maioria foi de 30 a 90 dias.

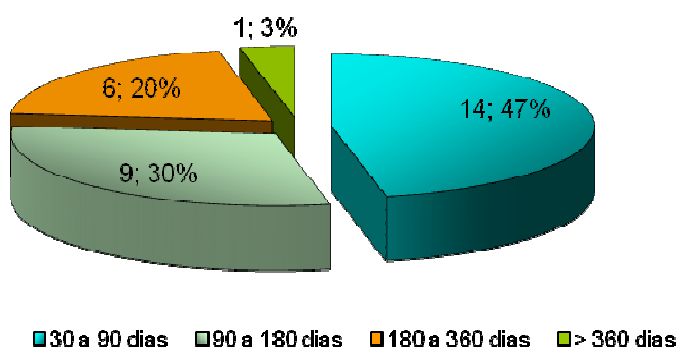


Figura 14 - Percentual de pacientes com LV distribuídos segundo o tempo de doença até o diagnóstico

De acordo com a análise dos prontuários dos pacientes com LV verificaram-se os seguintes sintomas: febre (100%), aumento do abdômen (33,30%), astenia (50%), perda de peso (93,30%), palidez (80%), anorexia (70%), e com os seguintes achados clínicos: hepatomegalia (27%), esplenomegalia (50%).

Os valores médios da contagem das hemácias, dosagem da hemoglobina, hematócrito, para o sexo masculino, estão ilustrados na tabela 1.

**Tabela 1** - Distribuição dos valores para a contagem de hemácias, dosagem de hemoglobina e determinação do hematócrito em pacientes do sexo masculino com LV e do grupo controle

		Média	DP	Mínimo	Mediana	Máximo	p
Hemácias milhões/mm <sup>3</sup>	casos	3,6904	0,6644	2,41	3,65	4,99	< 0,001*
	controle	5,143	0,3506	4,13	5,13	5,89	
Hemoglobina (g/dL)	casos	9,3833	1,3002	7	9,4	12	< 0,001*
	controle	15,5217	1,0343	13	15,6	17,7	
Hematócrito (%)	Casos	28,6708	4,0687	20,2	28,8	37,8	< 0,001*
	controle	46,513	3,2527	39,7	45,7	53,6	

\* Teste de Mann-Whitney

Os valores médios da contagem das hemácias, dosagem da hemoglobina, hematócrito, para o sexo feminino, estão ilustrados na tabela 2.

**Tabela 2** - Distribuição dos valores para a contagem de hemácias, dosagem de hemoglobina e determinação do hematócrito em pacientes do sexo feminino com LV e do grupo controle

		Média	DP	Mínimo	Mediana	Máximo	p
Hemácias milhões/mm <sup>3</sup>	casos	3,525	0,6233	2,87	3,31	4,33	< 0,001*
	controle	4,5871	0,2327	4,35	4,49	4,98	
Hemoglobina (g/dL)	casos	8,5666	1,6561	7,3	7,65	11,2	0,03**
	controle	13,5285	0,9759	12	13,8	14,6	
Hematócrito (%)	casos	26,9666	3,9026	23,7	24,9	33,2	0,03**
	controle	40,8714	2,4756	37,7	41,5	44	

\*\*Teste t de Student ; \* Teste de Mann-Whitney

Os valores médios para volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média

(CHCM), distribuição da amplitude das hemácias (RDW) e contagem de reticulócitos, estão ilustrados na tabela 3.

**Tabela 3** - Distribuição dos valores do VCM, HCM, CHCM, RDW e reticulócitos em pacientes com LV e do grupo controle

		Média	DP	Mínimo	Mediana	Máximo	P
VCM(fL)	Casos	78,10	7,00	63	77,00	95	< 0,001*
	controle	90,19	4,07	83	89,85	98	
HCM(pg)	Casos	25,42	2,51	20	25,50	32	< 0,001*
	controle	30,02	1,12	27	30,10	32	
CHCM(g/dL)	Casos	32,000	2,156	22,6	32,200	34,8	= 0,003*
	controle	33,330	1,077	31,4	33,250	35,6	
RDW(%)	Casos	15,337	2,435	12,0	15,000	20,8	<0,001*
	Controle	13,533	,898	12,1	13,600	14,9	
Reticulócitos (/mm <sup>3</sup> )	Casos	20636,63	20300,39	7260	14820,00	93940	
	Controle	20100,07	1000,00	10500	20015,00	20000	

**\*Teste de Mann Whitney**

Para definição dos critérios citomorfológicos da anemia nos pacientes com LV no Ceará, verificou-se um predomínio da classificação do tipo microcítica e hipocrômica (60%) que foi avaliada de acordos com os critérios citados na metodologia, seguido de normocítica e normocrômica (40%) de expostos na figura 15. Observou-se ainda, a presença de 65% de “rouleaux”, condição caracterizada pelo empilhamento das hemácias em decorrência do aumento das imunoglobulinas no sangue periférico.

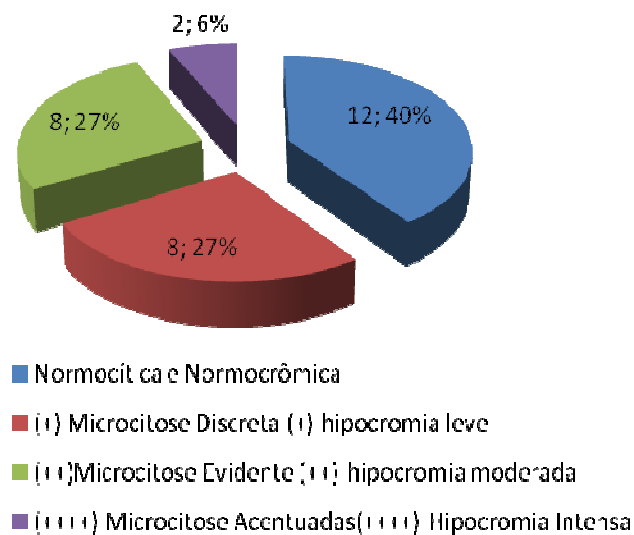


Figura 15 - Distribuição dos pacientes com LV quanto à análise citomorfológica para classificar o tipo de anemia mais frequente

Nas figuras 16, 17 e 18 observou-se um valor médio para ferro sérico diminuído, ferritina aumentada e transferrina diminuídos nos pacientes com LV em relação ao grupo controle.

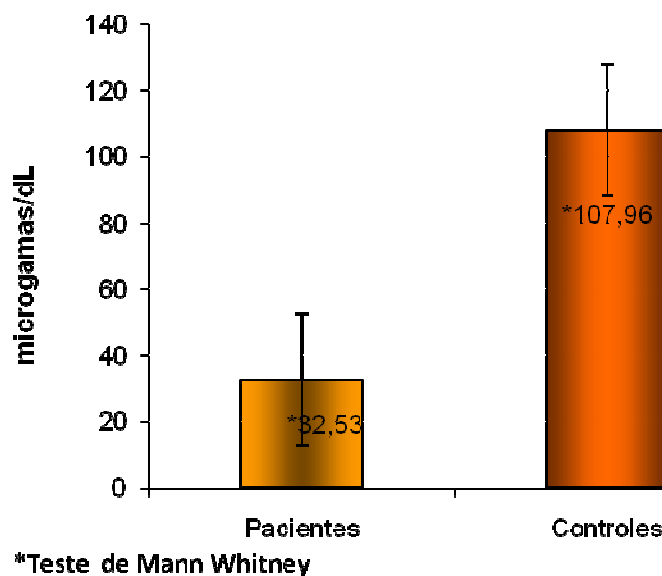


Figura 16 - Determinação dos valores da dosagem sérica de ferro em pacientes com LV no Ceará e do grupo controle

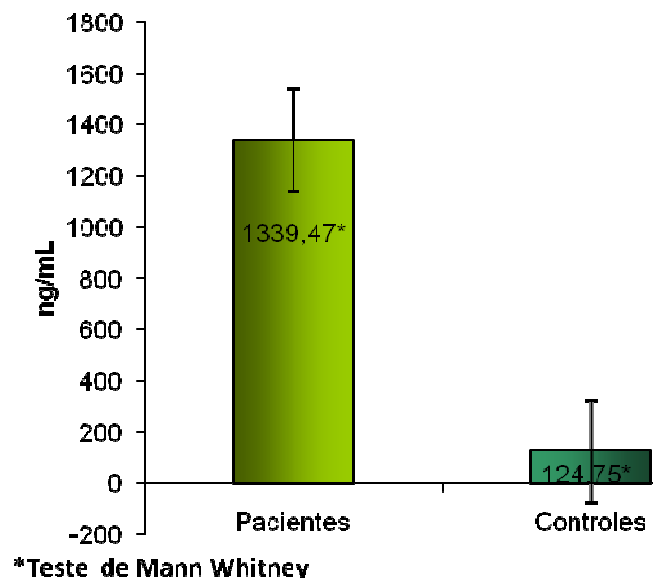


Figura 17 - Determinação dos valores da dosagem sérica de ferritina em pacientes com LV no Ceará e do grupo controle

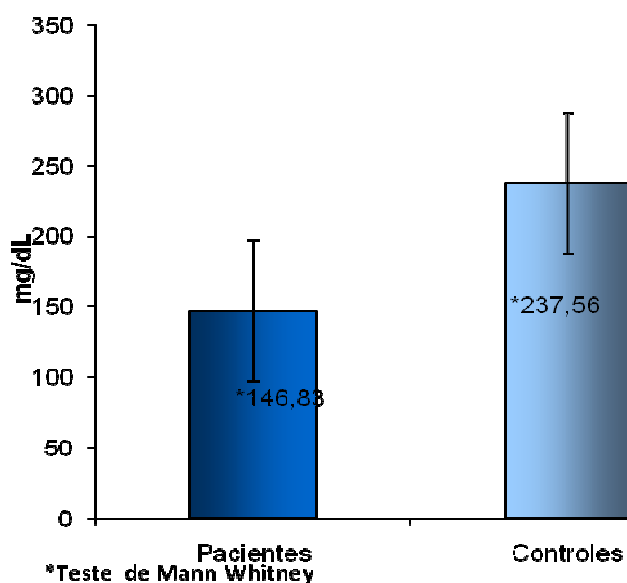


Figura 18 - Determinação dos valores da dosagem sérica de transferrina em pacientes com LV no Ceará e do grupo controle

Para as dosagens de vitamina B12 e de ácido fólico, quando comparados como o grupo controle não se mostraram estatisticamente significantes, não havendo deficiência nesses elementos, cujos resultados estão ilustrados nas figuras 19 e 20, respectivamente.

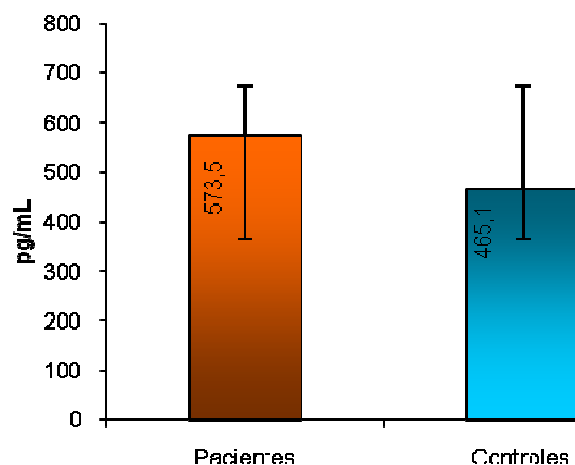


Figura 19 - Determinação dos valores da dosagem sérica de vitamina B12 em pacientes com LV no Ceará e do grupo controle

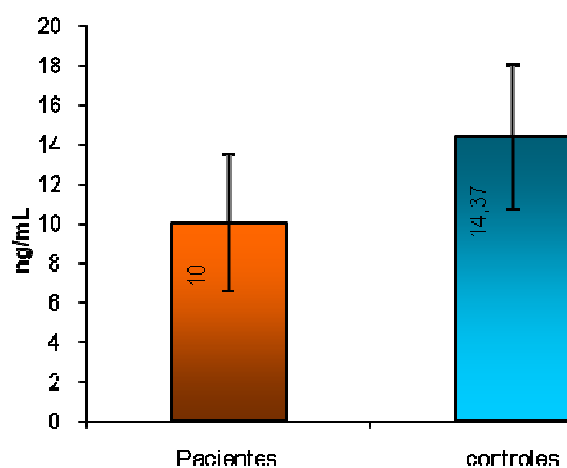


Figura 20 - Determinação dos valores da dosagem sérica de ácido fólico em pacientes com LV no Ceará e do grupo controle

Os valores para a contagem de leucócitos, neutrófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos e plaquetas, para uma contagem absoluta desses elementos, mostraram-se diferentes em relação ao grupo controle, cujos resultados estão ilustrados na tabela 4.

Observou-se em três pacientes a presença de desvio à esquerda até a forma de bastonete. No entanto, não foram observadas alterações degenerativas nos neutrófilos.

**Tabela 4** - Distribuição dos valores de leucócitos, neutrófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos e plaquetas em pacientes com LV no Ceará e do grupo controle

		Média	DP	Mínimo	Mediana	Máximo	p
Leucócitos (n°/mm <sup>3</sup> )	Casos	2.802,33	2.322,16	800	2.150,00	13.500	<0,001*
	Controle	6.613,33	1.723,75	4120	6.330,00	11.000	
Neutrófilos (n°/mm <sup>3</sup> )	Casos	1.426,33	1.348,88	255	898,50	9.990	<0,001*
	Controle	3.805,27	1.411,26	1.772	3.479,50	7.260	
Linfócitos (n°/mm <sup>3</sup> )	Casos	982,60	576,35	352	797,50	2.544	<0,001*
	Controle	2.000,37	483,21	1217	1.952,00	3.235	
Monócitos (n°/mm <sup>3</sup> )	Casos	350,13	283,47	53	311,50	1.485	<0,001*
	Controle	468,33	159,50	233	470,00	980	
Eosinófilos (n°/mm <sup>3</sup> )	casos	36,61	33,10	8,0	22,5	142	< 0,001*
	Controle	334,00	275,33	54	195,50	990	
Plaquetas (n°/mm <sup>3</sup> )	Casos	120.233,33	90.640,89	29.000	100.500,00	483.000	<0,001*
	Controle	222.222,22	12.221,21	121.000	222.500,00	222.222	

\*Teste de Mann Whitney

A VHS dos pacientes com LV se apresentou aumentado em todos os casos, com o valor médio de 81,77 mm, sendo estatisticamente diferente do grupo controle (Figura 21)



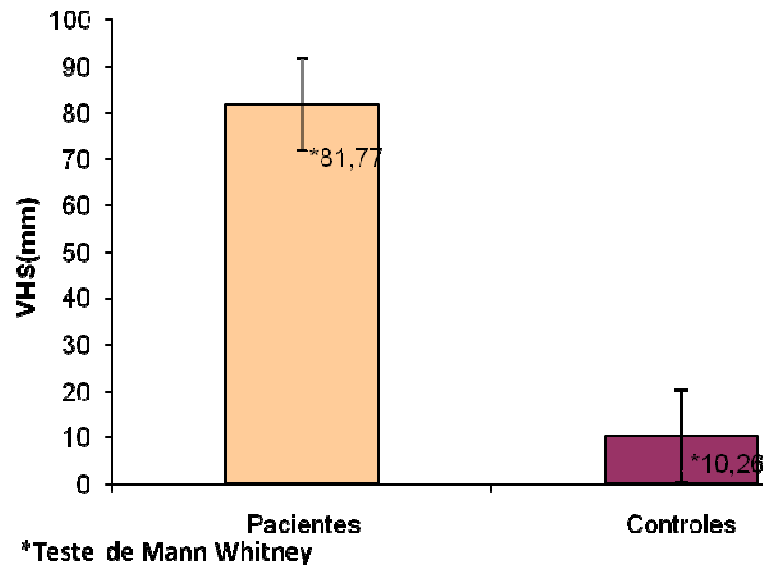


Figura 21 - Determinação dos valores do VHS em pacientes com LV no Ceará e do grupo controle

Para o tempo de protombina (TAP) os pacientes com LV apresentaram uma atividade de protombina diminuída em relação ao grupo controle (Figura 22).

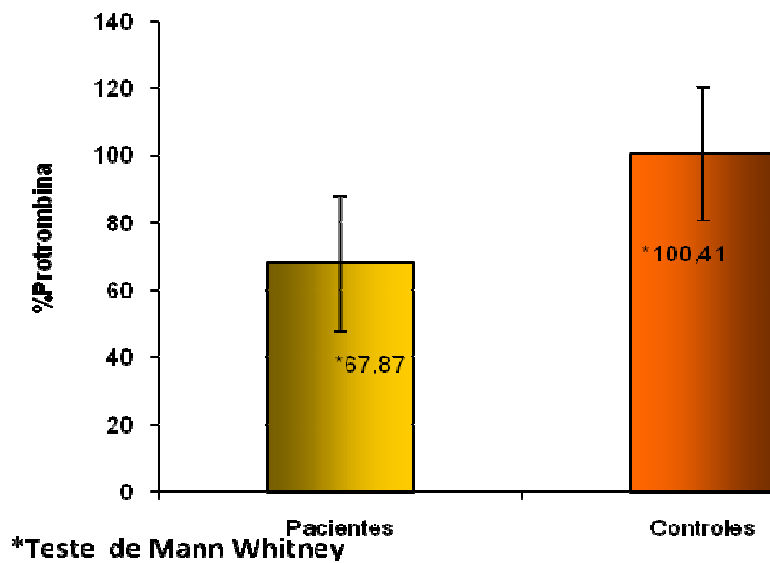


Figura 22 - Determinação dos valores para o tempo de protombina (TAP), expresso % de atividade de protombina em pacientes com LV no Ceará e do grupo controle

## **5 DISCUSSÃO**

A Leishmaniose visceral devido a sua elevada incidência em diversos países do mundo apresenta-se como uma das seis doenças emergentes no Brasil e que apresenta alta letalidade principalmente em indivíduos não tratados e crianças desnutridas.

No Brasil a LV passou a ter um grau de preocupação maior pelas autoridades de saúde, tendo em vista nas últimas décadas o advento da AIDS em que os pacientes com HIV aumentam o risco de 100 a 1000 vezes em desenvolver a doença, principalmente em áreas endêmicas (SINGH, 2006)

### **5.1 Análises Clínico-epidemiológicas**

Ao se analisar a incidência da doença por sexo observou-se uma razão de 4,0 homens para cada mulher, corroborando com observações estatísticas encontradas em outros Estados brasileiros que apresentam áreas endêmicas, como observado na Região Metropolitana de Belo Horizonte (SILVA *et al.*, 2001). Além disso, após a puberdade homens adultos e jovens apresentam uma maior prevalência de LV, sugerindo que mudanças hormonais possam influenciar sua susceptibilidade (JERÔNIMO *et al.*, 2004).

Em relação à idade verificou-se que, o intervalo de maior prevalência foi entre 31-45 anos, seguido de 16 a 30 anos. Uma importante característica da LV que quanto maior a incidência da doença maior o risco para as crianças mais jovens,

fato já documentado no Brasil, em que a preferência da doença na população infantil vem se mantendo ao longo dos anos (QUEIROZ *et al.*, 2004).

Quanto à procedência observou-se que, 63% dos pacientes foram provenientes do interior do Estado do Ceará e 37% oriundos do município de Fortaleza. Esta diferença pode ser atribuída ao fato do HSJ atender tanto pacientes do município de Fortaleza quanto oriundos do interior do Estado do Ceará. Por outro lado, verificou-se ainda o aparecimento de casos na área urbana e periurbanas de Fortaleza, tendo em vista a grande migração da população do interior para a capital do Estado do Ceará em busca de melhores condições de trabalho ou de atendimento médico-hospitalar, que quando observado em outros trabalhos, existe esta tendência de aumentar o número de casos na Capital (REY, 2005), assim como o aumento de casos em áreas litorâneas, sendo a procedência uma informação importante para o diagnóstico etiológico (PEDROSA; ROCHA, 2004).

A duração da doença desde o início dos sintomas até a hospitalização variou de 30 a 360 dias, sendo que 47% dos casos arrastaram-se com os sintomas com um período de 30 a 90 dias. Os resultados estão compatíveis com a literatura. A grande variabilidade em relação ao tempo de evolução da doença é uma característica da LV. O calazar é habitualmente uma doença insidiosa com sintomas iniciais inespecíficos (QUEIROZ, 2004). Pedrosa *et al.* (2004) em um estudo epidemiológico da LV em menores de 15 anos procedentes de Alagoas demonstraram que a maioria dos pacientes apresentou um tempo médio da doença de 30 a 90 dias, atribuindo estes achados à procura por serviços médicos e o encaminhamento ocorrendo frequentemente nesse período, pelo aparecimento de sinais e sintomas sugestivos da doença.

As manifestações clínicas na LV na população em estudo foram semelhantes às descritas na literatura (PASTORINO *et al.*, 2002; PONTES, 2003). A febre esteve presente na totalidade dos pacientes, já a perda de peso esteve presente em 93,30%, a esplenomegalia em 50% e a hepatomegalia em 27% dos casos. Os resultados demonstram que o comprometimento esplênico foi maior do que o comprometimento hepático, estando de acordo com a literatura. O envolvimento hepático tem sido relatado em 2 a 28% dos pacientes, com maior frequência quando o diagnóstico da LV é mais tardio e indica uma maior gravidade (QUEIROZ, 2004). Mesmo sabendo que os doentes com LV, podem não apresentar todas as manifestações clínicas da doença, a ausência da esplenomegalia sempre

dificulta o diagnóstico (PEDROSA; ROCHA, 2004). A palidez esteve presente em 80% dos casos, seguido de anorexia (70%) e de astenia (50%).

Os valores médios para a contagem de hemácias, dosagem de hemoglobina, determinação do hematócrito nos pacientes com LV se apresentaram diminuídos em relação aos valores de referência para idade e sexo e foram estatisticamente significantes em relação ao grupo controle. Resultados estes semelhantes ao observado por Pastorino (2002).

A anemia foi observada na totalidade dos pacientes com LV, sendo que a maioria foi do tipo morfológico microcítico e hipocrômica. Dentre as anemias que cursam com microcitose e hipocromia no sangue periférico temos: anemia ferropriva, talassemias, anemia sideroblástica e anemia de doença crônica. Em 40 % dos casos apresentaram anemia do tipo normocítico normocrômico. O grupo de anemia que cursa como esse perfil no sangue periférico é o grupo das anemias hemolíticas. A anemia presente na LV é considerada de natureza multifatorial como relata Queiroz (2004) necessitando que sejam realizados exames complementares que possam esclarecer a causa principal da anemia.

A contagem de reticulócito se apresentou normal na maioria dos pacientes com LV, indicando uma resposta insuficiente da MO para o quadro de anemia. No entanto, não podemos descartar a ausência de um componente hemolítico nestes pacientes uma vez que não foram realizados outros parâmetros de hemólise, tais como, teste de Coombs direto, lactato desidrogenase e dosagem de bilirrubinas. A reticulocitopenia observada em alguns processos hemolíticos pode ser decorrentes da exaustão dos elementos essenciais para a eritropoese, do aumento da eritropoese ineficaz ou da infiltração por elementos estranhos à MO. Já a reticulocitose quando presente retrata a hiperatividade da MO ou o processo hemolítico (AZEVEDO, 2008).

Em relação ao perfil do ferro observou-se que os parâmetros ferro sérico e transferrina apresentaram valores médios inferiores aos estabelecidos como referência, para ambos os sexos, com resultados estatisticamente significantes em relação ao grupo controle. A diminuição do ferro circulante e dos níveis de transferrina podem ser atribuídas a diferentes mecanismos de utilização do ferro pela *L.(L) chagasi* (WILSON *et al.*, 2002)

Para a dosagem de ferritina observou-se que à maioria dos pacientes apresentou níveis elevados em relação aos valores de referência e estatisticamente significativa em relação ao grupo controle. A ferritina é uma proteína de fase aguda, portanto pode se apresentar falsamente elevada nos processos infecciosos agudos mascarando uma possível ferropenia (MILLER, 1999). O aumento da ferritina também pode ser atribuído à elevação dos níveis de citocinas na LV, fato este colaborando para a retenção do ferro nos depósitos. Este achado colabora para que uma das causas da anemia na LV possa ser em decorrência do processo crônico.

Observou-se a partir das dosagens séricas de vitamina B12 e de ácido fólico que se apresentaram dentro dos valores de referência e não foram significativamente diferentes em relação ao controle. Estes achados colaboram com a análise do sangue periférico onde não encontramos nenhuma alteração sugestiva de componente megaloblástico. Resultados contrários foram observados por Sinha (2006), que a partir de um estudo prospectivo verificou que entre os pacientes com leishmaniose apresentavam hemácias macrocíticas e neutrófilos hipersegmentados como características de um componente megaloblástico.

Dentre as alterações hematológicas periféricas observadas na LV podemos estacar além da anemia outras citopenias, tais como, a leucopenia e a plaquetopenia. A presença dessas citopenias ao mesmo tempo é denominada de pancitopenia, achado laboratorial freqüente na LV. As citopenias provavelmente se devam principalmente a um processo hemolítico, onde as células sangüíneas (hemácias, leucócitos e plaquetas), são destruídas precocemente na circulação. Na avaliação da leucometria no presente estudo observou-se que em 86,66% dos pacientes apresentaram-se leucopenia com valores médios de 2802,33 leucócitos/mm<sup>3</sup>. Em relação à contagem diferencial dos leucócitos observamos os seguintes achados, neutropenia e linfopenia. Estes achados estão de acordo com a literatura que atribuem a leucopenia e a neutropenia ao hiperesplenismo, hipoplasia da MO e ou a hemofagocitose em pacientes com LV (PASTORINO *et al.*, 2002; MALLA; MAHAJAN, 2006).

Rey *et al.* (2005) demonstraram em crianças portadoras de calazar admitidas em um hospital público de Fortaleza-CE que, 25% dos pacientes apresentaram contagem de leucócitos < 2.000/mm<sup>3</sup>, 18% tiveram uma contagem de neutrófilos ≤ 500/mm<sup>3</sup>. Queiroz *et al.* (2004) verificaram também em criança em Recife-PE, uma leucometria caracterizada por uma contagem média de leucócitos de 3.516/mm<sup>3</sup> e o número de leucócitos foi inferior a 5.000/mm<sup>3</sup> em 85,3% dos

casos. A contagem média de neutrófilos foi de  $1.215/\text{mm}^3$  e evidenciaram valores inferiores a  $500/\text{mm}^3$  em 15,9% dos pacientes. Pastorino *et al.* (2002), em pacientes também pediátricos em São Paulo-SP, verificaram uma leucometria com valores médios de  $3.325\pm 1.869/\text{mm}^3$  e com intervalo de confiança 95% de 2.903 a  $3.747/\text{mm}^3$  e neutrófilos com valores médios de  $1.250\pm 841/\text{mm}^3$  e intervalo de confiança 95% de 1.060 a  $1.440/\text{mm}^3$ , antes do tratamento. Na nossa avaliação observaram-se valores médios para a contagem de leucócitos  $2.802,33\pm 2.322,16/\text{mm}^3$  e de neutrófilos com valores médios de  $1.426,33\pm 1.348,88/\text{mm}^3$ .

A plaquetopenia é um achado freqüente em pacientes com LV, presentes em 50% a 70% dos pacientes. Alves (1996) em pesquisa demonstrou plaquetopenia em 64,7% dos pacientes achados semelhantes aos estudos de. Rey *et al.* (2005) em seus estudos verificaram um valor médio de  $125.760/\text{mm}^3$ . Queiroz *et al.* (2004) verificaram um valor médio de  $118.641\pm 88.359/\text{mm}^3$ , valor mínimo de  $2.540/\text{mm}^3$  e valor máximo de  $808.000/\text{mm}^3$ . Pastorino *et al.* (2002), encontraram um valor médio de  $92.985\pm 69.113/\text{mm}^3$  e intervalo de confiança 95% de 75.609 a  $109.363/\text{mm}^3$ . A contagem de plaqueta no presente estudo apresentou valores médios de  $120.233,33\pm 90640,89/\text{mm}^3$  com valor mínimo de  $29.000/\text{mm}^3$  e máximo de  $483.000/\text{mm}^3$ . Este achado está de acordo com os dados da literatura, onde a plaquetopenia é atribuída principalmente ao hiperesplenismo (MALLA; MAHAJAN, 2006).

Com relação aos valores de VHS observou-se que os pacientes com LV apresentaram valores aumentados na sua maioria, compatível com o processo infeccioso. Fato este observado na literatura, que os pacientes com LV apresentam o VHS aumentado em decorrência da presença de proteínas de fase aguda (REY *et al.*, 2005). A presença de rouleaux contribuiu também para o aumento da VHS, achado este em 65% dos casos. A presença do rouleaux é uma alteração na distribuição nas hemácias freqüente na ADC (AZEVEDO, 2008)

No presente estudo a análise da atividade do tempo de protrombina apresentou-se diminuída em relação ao grupo controle. Dados também condizentes com achados na literatura, onde atribuem esta alteração nos pacientes com LV a um possível comprometimento hepático (MALLA; MAHAJAN, 2006).

Em suma, as alterações hematológicas periféricas na LV, no presente estudo se caracterizaram por um quadro de pancitopenia, à custa principalmente da anemia, sendo a mesma de causa não esclarecedora e das demais citopenias atribuídas provavelmente ao hiperesplenismo. No entanto, os achados são

relevantes necessitando de testes complementares com a finalidade de esclarecer a causa principal da anemia, bem como, a elevada frequência da neutropenia, justificada no estudo pela elevada frequência de febre e a etiologia das demais citopenias, Não foram encontradas nenhuma alteração de natureza qualitativa nas células no sangue periférico, sendo as alterações quantitativas significativamente alteradas devendo ser realizado uma avaliação laboratorial e um monitoramento desses pacientes antes e após o tratamento.

## **6 CONCLUSÕES**

Dos resultados observa-se que:

- Em relação ao perfil epidemiológico à maioria dos pacientes com LV foram do interior do Estado do Ceará, do sexo masculino, com idade média entre 31 a 45 anos, com um tempo de doença médio de 30 a 90 dias.
- Quanto às observações clínicas, a grande maioria do pacientes apresentou febre, perda de peso, palidez, anorexia, hepatomegalia, esplenomegalia, aumento do abdômen, astenia;
- A frequência de anemia entre os pacientes foi de 100%. Das análises morfológicas evidenciou-se um perfil laboratorial característico de anemia do tipo microcítica e hipocrômica seguido de normocítica e normocrômica;
- Os valores médios dos parâmetros do eritrograma apresentaram-se diminuídos em relação ao grupo controle. A contagem de reticulócitos não se apresentou diferente em relação ao grupo controle;
- Em relação à análise do perfil do ferro na população estudada foi caracterizada por uma maioria apresentando ferro circulante e transferrina diminuídos e ferritina

aumentada, dosagens séricas de Vitamina B12 e ácido fólico mostraram-se normal em relação ao grupo controle;

- Em relação à linhagem branca as alterações detectadas foram: leucopenia, neutropenia, linfopenia e eosinopenia com presença de plaquetopenia;
- Destacamos que a diminuição da atividade de protrombina (TAP) foi obtida em 100% dos pacientes, bem como para o VHS.

Isso posto, observa-se que na LV existe um comprometimento na hematopoese traduzindo no sangue periférico por uma pancitopenia a favor principalmente da linhagem eritróide, sendo a anemia nestes pacientes de natureza provavelmente crônica. Estudos posteriores devem ser realizados no sentido de identificar os mecanismos envolvidos na redução das células sangüíneas periféricas.

## REFERÊNCIAS

AGUIAR, G. M.; MEDEIROS, W. M. Distribuição regional e habitats das espécies de flebotomíneos do Brasil. *In*: RANGEL, E. F.; LAINSON, R. (Org.). **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2003. p. 207-255.

AISEN P.; WESSLING-RESNICK, M.; LEIBOLD, E. A. Iron metabolism. **Curr. Opin. Chem. Biol.**, v. 3, p. 200-206, 1999.

ALENCAR, J. E.; ARAGÃO, T. C. Leishmaniose visceral no ceará: sintomas observados m 174 casos. **Publicações Médicas**, v. 21, p. 123-152, 1955.

ALVES, J.G.B. Calazar. *In*: FIGUEIRA, F.; FERREIRA, O. S.; ALVES, J. G. B. **Pediatria - Instituto Materno infantil de Pernambuco**. 2. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1996. p. 320-327.

ANDREWS, N. C. Anemia of inflammation: the cytokine-hepcidin link. **J. Clin. Invest.**, v. 113, p.1251-1253, 2004.

ASHFORD, R. W.; DESJEUX, P.; DERAADT, R. P. Estimation of population at risk of infection and number of cases of leishmaniasis. **Parasitol. Today**, v. 8, p. 103-104, 1992.

[ASOBAYIRE, F. S.](#); [ADOU, P.](#); [DAVIDSSON, L.](#); [COOK, J. D.](#); [HURRELL, R. F.](#) Prevalence of iron deficiency with and without concurrent anemia in population



groups with high prevalence of malaria and other infections: a study in Côte d'Ivoire. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 74, n. 6, p. 776–782, Dec. 2001.

AZEVEDO, M. R. A. de. Hematopoese. *In*: AZEVEDO, M. R. A. **Hematologia básica: fisiopatologia estudo laboratorial**. São Paulo: Luana Livraria Editora, 2008. p. 49-63.

BADORÓ, R.; JONES, J. C.; CARVALHO, E. M.; SAMPAIO, D.; REED, S. G.; BARRAL, A. *et al.* New perspectives on a subclinical form of visceral leishmaniasis. **J. Infect. Dis.**, v. 154, p. 1003-1011, 1986.

[BELIÉ, A.](#); [PEJIN, D.](#); [STEFANOVIĆ, N.](#); [SPASOJEVIĆ, J.](#); [DURKOVIĆ, D.](#) Hematologic characteristics of leishmaniasis. **Med. Pregl.**, v. 53, n. 1/2, p. 89-91, 2000.

BODIN, J. O. Outras anemias hemolíticas adquiridas. *In*: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Hematologia: fundamentos e prática**. São Paulo: Atheneu, 2004. p. 339-343.

BOGDAN, C.; GESSNER, A.; SOLBACH, W.; ROLLINGHOFF, M. Invasion, control and persistence of *Leishmania* parasites. **Curr. Opin. Immunol.**, v. 8, p. 517-525, 1996.

BOGDAN, C.; ROLLINGHOFF, M. The immune response to *Leishmania*: mechanisms of parasite control and evasion. **Int. J. Parasitol.**, v. 28, p. 121-134, 1998.

BORGES, B. K. A.; HADDAD, J. P. A.; MOREIRA, E. C.; MAGALHÃES, D. F.; RIBEIRO, L. M. L.; FIUZA, V. O. P. Avaliação do nível de conhecimento e de atitudes preventivas da população sobre a leishmaniose visceral em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v. 24, n. 4, p. 777-784, abr. 2008.

BORGES, M. M.; CAMPOS-NETO, A.; SLEATH, P.; GRABSTEIN, K.H.; MORRISSEY, P.J.; SKEIKY, A.W.; REED, S.G. Potent stimulation of the innate immune system by a *Leishmania braziliensis* recombinant protein. **Infect. Immun.**, v. 69, p. 5270-5277, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Evolução temporal das doenças de notificação compulsória no Brasil de 1980 a 1998. **Bol. Epidemiol.**, ano 3, p. 1-50, 1999.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Controle, diagnóstico e tratamento da leishmaniose visceral (calazar): normas técnicas**. Brasília, DF, 1999. 85 p.

CALADO, R. T.; ALBERTO, F. L.; FALCÃO, R. P. Metabolismo do ferro. *In*: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Hematologia: fundamentos e prática**. São Paulo: Atheneu, 2004. p. 213-230.

CANÇADO, R. D. Mieloma múltiplo e anemia. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 29, n. 1, p. 67-76, 2007.

CANÇADO, R. D.; CHIATTONE, C. S. Anemia de doença crônica. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 24, n. 2, p. 127-136, 2002.

- CEARÁ. Secretaria da Saúde do Estado do Ceará. Leishmaniose visceral. **Informe Epidemiológico**, p.1-9, 2008.
- COSTA, H. N. C.; PEREIRA, H. F.; ARAÚJO, M. V. Epidemia de leishmaniose visceral no estado do Piauí, Brasil 1980-1986. **Rev. Saúde Pública**, v. 24, n. 5, p. 361-372, 1990.
- COUTINHO, V.; COUTINHO, M. A. Alterações dos eritrócitos. *In*: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Hematologia: fundamentos e prática**. São Paulo: Atheneu, 2004. p. 79.
- DANTAS-TORRES, F.; BRANDÃO-FILHO, S. P. Visceral leishmaniasis in Brazil: revisiting paradigms of epidemiology and control. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**, v. 48, n. 3, p. 151-156, 2006.
- DE MARIA, R.; TESTA, U.; LUCHETTI, L.; ZEUNER, A.; STASSI, G.; PELOSI, E. *et al.* Apoptotic role of Fas/Fas ligand system in the regulation of erythropoiesis. **Blood**, v. 93, p. 796-803, 1999.
- DE VEER, M. J.; CURTIS, J. M.; BALDWIN, T. M.; DIDONATO, J. A.; SEXTON, A.; MCCONVILLE, M. J.; HANDMAN, E.; SCHOFIELD, L. MyD88 is essential for clearance of *Leishmania major*: possible role for lipophosphoglycan and toll-like receptor 2 signaling. **Eur. J. Immunol.**, v. 33, p. 2822-2831, 2003.
- DESJEUX, P. Leishmaniasis: Current situation and new perspectives. **Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 27, p. 305-318, 2004.
- DUNN, R.T.; FOSTER, L. B. Radioassay of serum folate. **Clin. Chem.**, v. 19, p. 1101-1105, 1973.
- FAUST, E. C.; RUSSEL, P. F.; JUNG, R. C. **Parasitologia clínica**. México: Ed. Salvat, 1974.
- FERNÁNDEZ-GUERREIRO, M. L.; AGUADO, J. M.; BUZON, L.; BARROS, C.; MONTALBAN, C.; MARTIN, T.; BOUZA, E. Visceral leishmaniasis in immunocompromised hosts. **Am. J. Med.**, v. 83, n. 6, p. 1098-1102, Dec. 1987.
- FORMAN, D.T.; PARKER, S. L. The measurement and interpretation of serum ferritin. **Ann. Clin. Lab. Sci.**, v. 10, p. 345-350, 1980.
- FUCHS, D.; HAUSEN, A.; REIBNEGGER, G.; WERNER, E. R.; WERNER-FELMAYER, G.; DIERICH, M. P.; WACHTER, H. Immune activation and the anaemia associated with chronic inflammatory disorders. **Eur. J. Haematol.**, v. 46, p. 65-70, 1991.
- GANZ, T. Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. **Blood**, v. 102, p. 783-788, 2003.
- GRABER, S. E.; KRANTZ, S. B. Erythropoietin and the control of red cell production. **Am. Rev. Med.**, v. 29, p. 51, 1978.
- GUTCHO, S.; MANSBACH, L. Simultaneous radioassay of serum vitamin B12 and folic acid. **Clin. Chem.**, v. 23, p. 1609-1614, 1977.

JERONIMO, S.M.; [BRAZ, R. F.](#); [CHENG, C.](#); [MONTEIRO, G. R.](#); [NASCIMENTO, E. T.](#) *et al.* An emerging peri-urban pattern of infections with *Leishmania chagasi*, the protozoan causing visceral leishmaniasis in northeast Brazil. **Scand. J. Infect. Dis.**, v. 36, n. 6/7, p. 443-449, 2004

JURADO, R. L. Iron, infections, and anemia of inflammation. **Clin. Infect. Dis.** v. 25, p. 888-895, 1997.

KATEVAS, P.; ANDONOPOULOS, A. P.; KOURAKLI-SYMEONIDIS, A.; MANOPOULOS, E.; LAFI, T.; MAKRI, M.; ZOUMBOS, N. C. Peripheral blood mononuclear cells from patients with rheumatoid arthritis suppress erythropoiesis in vitro via production of tumor necrosis factor alpha. **Eur. J. Haematol.**, v. 53, p. 26-30, 1994.

KREUTZER, H. J. H. An immunological turbidimetric method of serum transferrin determination. **J. Clin. Chem. Biochem.**, v. 14, p. 401-406, 1976.

LAINSON, R.; SHAW, J. J. Evolution, classification and geographical distribution. *In*: PETERS, W.; KILLICK-KENDRICK, R. **The leishmaniasis in biology and medicine**. London: Academic Press, 1987. p. 1-120.

LECLAIR, S. J. Leucopenia. *In*: RODAK, B. F.; FRITSMA, G. A.; DOIG, K. **Hematology: clinical principles and applications**. Philadelphia: Elsevier, 2007. p. 124.

LEWIS, S. M.; BAIN, B. J.; BATES, I. **Hematologia prática de Dacie e Lewis**. 9. ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2006.

LIEW, F.; MILLOTT, S.; PARKINSON, C.; PALMER, R.; MANCADA, S. Macrophage killing of *Leishmania* parasites *in vivo* is mediated by nitric oxide from L-arginine. **J. Immunol.**, v. 144, p. 4794-4797, 1990.

LORENZI, T. **Manual de hematologia: propedêutica e clínica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2006.

MAHAJAN, V.; MARWAH, R. K. Immune mediated hemolysis in Visceral Leishmaniasis. **J. Trop. Pediatr.**, v. 53, n. 4, p. 284-286, 2007

MAHANA, G. D. Anemias carenciais. *In*: AZEVEDO, M. R. A. **Hematologia básica: fisiopatologia estudo laboratorial**. São Paulo: Luana Livraria Editora, 2008. p. 111-132.

MALLA, N.; MAHAJAN, R. C. Pathophysiology of Visceral Leishmaniasis. **Indian J. Med. Res.**, v. 123, p. 267-274, 2006.

MALVEZZI, M.; ZAGO, M. A. Deficiência de vitamina B12 e de Folatos: anemias megaloblásticas. *In*: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Hematologia: fundamentos e prática**. São Paulo: Atheneu, 2004. p. 195-210.

MARZOCHI, M. C. A.; COUTINHO, S. G.; SOUZA, W. J.; AMENDOEIRA, M. R. Leishmaniose Visceral (Calazar). **J. Bras. Med.**, v. 41, n. 5, p. 61-84, 1981.

MARZOCHI, M. C. A.; MARSDEN, P. P. Ecologia e controle de vetores: Leishmanioses. *In*: ENCONTRO NACIONAL SOBRE SAÚDE E MEIO AMBIENTE,

1991, Rio de Janeiro. **Trabalho apresentado...** Rio de Janeiro: Fiocruz, 1991. p. 31-36.

MARZOCHI, M. C. A.; MARZOCHI, K. B. F.; CARVALHO, R. W. Visceral Leishmaniasis in Rio de Janeiro. **Parasitol. Today**, v. 10, p. 37-34, 1994.

MEANS, J. R.; KRANTZ, S. B. Progress in understanding the pathogenesis of the anemia of chronic disease. **Blood**, v. 80, p. 1639-1647, 1992.

MEDZHITOV, R.; JANEWAY JR, C. Innate immunity. **N. Engl. J. Med.**, v. 343, n. 5, p. 338-344, Aug. 2000.

MILLER, J. Coagulação sanguínea e fibrinólise. In: HENRY, J. B. **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais**. 19. ed. São Paulo: Manole, 1999. p. 725.

MOURA, E.; NOORDERMEER, M. A.; VERHOEVEN, N.; VERHEUL, A. F.; MARX, J. J. Iron release from human monocytes after erythrophagocytosis in vitro: an investigation in normal subjects and hereditary hemochromatosis patients. **Blood**, v. 92, p. 2511-2519, 1998.

NETEA, M. G.; VAN DER MEER, J. W. M.; KULLBERG, B. J. Toll-like receptors as an escape mechanism from the host defense. **Trends Microbiol.**, v. 12, p. 484-488, 2004.

NICODEMO, E. L.; DUARTE, M. I. S.; NICODEMO, A. C.; AMATO NETO, V. Aspectos clínico-laboratoriais da nefrite intersticial da leishmaniose visceral. **Rev. Paul. Med.**, v. 102, p. 19-22, 1984.

OPPENHEIMER, S. J. Iron and its relation to immunity and infectious disease. **J. Nutr.**, v. 131, n. 2S/2, p. 616S-635S, Feb. 2001.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Leishmaniasis**. Disponível em: <<http://www.who.int/tdr/dw/leish2004.htm>>. Acesso em: 20 maio 2008.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Leishmaniasis: disease information**. Disponível em: <<http://www.who.int/tdr/diseases/leish/diseaseinfo.htm>>. Acesso em: 21 May 2008.

PASTORINO, A. C.; JACOB, C. M. A.; OSELKA, G. W.; SAMPAIO, M. M. C. Leishmaniose visceral: aspectos clínicos e laboratoriais. **J. Pediatr.**, v. 78, p. 120-127, 2002.

PEDROSA, C. M. S.; ROCHA, E. M. M. Aspectos clínicos e epidemiológicos da leishmaniose visceral em menores de 15 anos procedentes de Alagoas, Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 37, n. 4, p. 300-304, 2004.

PONTES, L. B.; DIAS, R. B. P.; CORREA, Z. J. C.; SILVEIRA, F. T. Perfil clínico e laboratorial da leishmaniose visceral aguda: relato de dois casos. **Rev. Para. Med.** v. 17, n. 2, p. 33-37, 2003.

PLEASS, R. J.; WOOF, J. M. Fc receptors and immunity to parasites. **Trends Parasitol.**, v. 17, p. 545-551, 2001.

QUEIROZ, M. J. A.; ALVES, J. G. B.; CORREIA, J. B. Leishmaniose visceral: características clínico-epidemiológicas em crianças de área endêmica. **J. Pediatr.**, v. 80, n. 2, p. 141-146, 2004.

REGO, E. M. Hematopoese: regulação e microambiente. *In*: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Hematologia: fundamentos e prática**. São Paulo: Atheneu, 2004. p.16-22.

REY, L. C.; MARTINS, C. V.; RIBEIRO, H. B.; LIMA, A. A. Leishmaniose visceral americana (calazar) em crianças hospitalizadas de área endêmica. **J. Pediatr.**, v. 81, p. 73-78, 2005.

RIBEIRO, C. C. J. Hemograma-técnica do exame. *In*: AZEVEDO, M. R. A. **Hematologia básica: fisiopatologia estudo laboratorial**. São Paulo: Luana Livraria Editora, 2008. p. 378-379.

ROGERS, K. A.; DEKREY, G. K.; MBOW, M. L.; GILLESPIE, R. D.; BRODSKYN, C. I.; TITUS, R. G. Type 1 and type 2 responses to *Leishmania major*. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 209, n. 1, p. 1-7, Mar. 2002.

SACKS, D.; SHER, A. Evasion of innate immunity by parasitic protozoa. **Nature Immunol.**, v. 3, n. 11, p. 1041-1047, Nov. 2002.

[SANG, D. K.](#); [OUMA, J. H.](#); [JOHN, C. C.](#); [WHALEN, C. C.](#); [KING, C. L.](#); [MAHMOUD, A. A.](#); [HEINZEL, F. P.](#) Increased levels of soluble interleukin-4 receptor in the sera of patients with visceral leishmaniasis. **J. Infect. Dis.**, v. 179, n. 3, p. 743-746, Mar. 1999.

SCHNEIDER, J. M.; FUJII, M. L.; LAMP, C. L.; LÖNNERDAL, B.; DEWEY, K. G.; ZIDENBERG-CHERR, S. Anemia, iron deficiency, and iron deficiency anemia in 12–36-mo-old children from low-income families. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 82, n. 6, p. 1269–1275, Dez. 2005

[SHEIKHA A.](#) Dyserythropoiesis in 105 patients with visceral leishmaniasis. [Lab. Hematol.](#), v. 10, n. 4, p. 206-211, 2004.

SIEDEL, J.; WAHLEFELD, A. W.; ZIEGENHORN, J. A new iron ferro zine- reagent without desproteinization. **Clin. Chem.**, v. 30, p. 975, 1984.

SILVA, A. M.; CAMARGO, N. J.; SANTOS, D. R.; MASSAFERA, R.; FERREIRA, A. C.; POSTAI, C.; CRISTÓVÃO, E. C. Diversidade, distribuição e abundância de Flebotomíneos (Diptera:Psychodidae) no Paraná. **Neotrop. Entomol.**, v. 37, n. 2, p. 209-225, 2008

SILVA, E. S.; GONTIJO, C. M. F.; PACHECO, R. S.; FIUZA, V. O. P.; BRAZIL, R. P. Visceral Leishmaniasis in the Metropolitan Region of Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 3, p. 285-291, 2001.

SILVESTRIS, F.; TUCCI, M.; CAFFORIO, P.; [DAMMACCO, F.](#) Fas-L up-regulation by highly malignant myeloma plasma cells: role in the pathogenesis of anemia and disease progression. **Blood**, v. 97, n. 5, p. 1155-1164, Mar. 2001.

SINGH, R. K.; PANDEY, H. P.; SUNDAR, S. Visceral leishmaniasis(kala-zar): Challenges ahead. **Indian J. Med. Res.**, v. 123, p. 331-344, 2006.

SINHA, A. K.; RIJAL, S.; KARKI, P.; MAJHI, S. Incidence of megaloblastic anaemia and its correction in leishmaniasis--a prospective study at BPKIHS hospital, Nepal. **Indian J. Pathol. Microbiol.**, v. 49, p. 528-531, 2006

SUNDAR, S.; RAI, M. Laboratory Diagnosis of Visceral Leishmaniasis. **Clin. Diagn. Lab. Immunol.**, v. 9, n. 5, p. 951-958, 2002.

TILL, J. E.; MCCULLOCH, E. A. Direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. **Radiat. Res.**, v. 14, p. 213, 1961.

VILELA, R. B.; BORDIN, J. O.; CHIBA, A. K.; CASTELO, A.; BARBOSA, M. C. RBC-associated IgG in patients with visceral leishmaniasis (kala-azar): a prospective analysis. **Transfusion**. v.42, n. 11, p. 1442-1447, 2002.

WEISS, G.; GOODNOUGH, L. T. Anemia of chronic disease. **N. Engl. J. Med.**, v. 352, p. 1011-1023, 2005.

[WILSON, M. E.](#); [LEWIS, T. S.](#); [MILLER, M. A.](#); [MCCORMICK, M. L.](#); [BRITIGAN, B. E.](#) Leishmania chagasi: uptake of iron bound to lactoferrin or transferrin requires an iron reductase. [Exp. Parasitol.](#), v. 100, n. 3, p. 196-207, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Expert Committ. **Control of the Leishmaniases**. Geneva, 1995.

ZAGO, M. A. Eritropoese e eritropoetina: produção e destruição de hemácias. *In*: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Hematologia: fundamentos e prática**. São Paulo: Atheneu, 2004. p. 23-31.

ZAMAI, L.; SECCHIERO, P.; PIERPAOLI, S.; BASSINI, A.; PAPA, S.; ALNEMRI, E. S. *et al.* TNF-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) as a negative regulator of normal human erythropoiesis. **Blood**, v. 95, n. 12, p. 3716-3724, 2000.

## APÊNDICE A - PROTOCOLO DE PESQUISA

**PROTOCOLO DE PESQUISA**

N° \_\_\_\_\_

**DADOS DO PACIENTE:**

**Prontuário N°** \_\_\_\_\_

**Nome:** \_\_\_\_\_ **DN** \_\_\_\_\_ **IDADE** \_\_\_\_\_

**Sexo:** ( ) M ( ) F

**Local onde nasceu:** \_\_\_\_\_

**Local onde mora:** \_\_\_\_\_

**Reside na:** ( ) Zona Urbana ( ) Zona rural

**DURAÇÃO DA DOENÇA EM DIAS**

( ) < 30 ( ) 30|- 90 ( ) 90|- 180 ( ) 180|- 360 ( ) ≥ 360 |

**MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS OBSERVADAS NA INTERNAÇÃO**

**EM PACIENTES COM LEISHMANIOSE VISCERAL.**

Hepatomegalia   
Palidez   
Febre   
Esplenomegalia   
Aumento dos linfonodos   
Cílios longos

Perda de peso   
Aumento do volume abdominal   
Astenia   
Anorexia

---

Jean Lima Prazeres (Mestrando)

---

Paciente

**APÊNDICE B - VALORES DE REFERÊNCIA PARA PARÂMETROS  
HEMATOLÓGICOS\***



PARÂMETROS	VALORES DE REFERÊNCIA		UNIDADE
	HOMEM	MULHER	
<b>SÉRIE VERMELHA</b>			
HEMACIAS:	4,5 - 6,0	4,0 - 5,5	milhões/ $\mu$ l
HEMOGLOBINA	14 - 18	12 - 16	g/dl
HEMATÓCRITO	40 - 54	37 - 47	%
VCM		80 - 96	fl
HCM		27 - 31	pg
CHCM		32 - 36	g/dL
RDW		11 a 15	%
RETICULÓCITOS		25000-75000	/ $\mu$ l
<b>SÉRIE BRANCA</b>			
LEUCÓCITOS:		4000 - 11000	/ $\mu$ L
BASÓFILOS:		0-100	/ $\mu$ L
EOSINÓFILOS:		40-400	/ $\mu$ L
NEUTRÓFILOS		2000-7500	/ $\mu$ L
LINFÓCITOS		1200-3500	/ $\mu$ L
MONÓCITOS		100-800	/ $\mu$ L
<b>PLAQUETAS:</b>		15000 - 400000	/ $\mu$ L
<b>FERRO SÉRICO</b>	59 -158	37-145	$\mu$ g/dL
<b>FERRITINA</b>	30 - 400	13-150	ng/mL
<b>TRANSFERINA</b>		175-287	mg/dL
<b>VITAMINA B12</b>		243-894	pg/mL
<b>ÁCIDO FÓLICO</b>		4,2-19,90	ng/mL
<b>VHS</b>	3 - 8	3-11	mm-1 <sup>a</sup> h
<b>TAP</b>		70-100	%

\*

Valores de referência dos Laboratórios do HGeF e Louis Pasteur Medicina Diagnóstica.

## APÊNDICE C - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA



## COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA (CEP-HSJ)

Referente ao protocolo nº 014/2006

Instituições envolvidas: Universidade Federal do Ceará (UFC)  
Hospital São José de Doenças Infecciosas (HSJ)

Título do Projeto: Avaliação da Anemia na Leishmaniose Visceral

Pesquisador responsável: Dra. Romélia Pinheiro Gonçalves


### PARECER CONSUBSTANCIADO

Analisamos o referido projeto de pesquisa, para retidada de pendência, na reunião ordinária de 24 de julho de 2006. Constatamos que as pendências elencadas no Parecer Consubstanciado exarado pela coordenação do CEP/HSJ em 27 de junho de 2006 foram resolvidas.

Diante do exposto, o projeto foi considerado **aprovado** com sugestão de incluir na metodologia a responsabilidade para assinatura do TCLE aos menores de 18 anos..

Lembramos a necessidade de envio de relatório semestral do andamento do projeto e de relatório final quando de sua conclusão, além de que qualquer mudança na proposta do estudo, deverá passar por uma prévia avaliação deste comitê.

Fortaleza, 25 de julho de 2006.

  
Dra. Maria Lúcia Duarte Pereira  
Coordenador do CEP/HSJ

O objetivo do presente estudo é avaliar a anemia em pacientes portadores de Leishmaniose visceral(LV) no Hospital São José de Doenças Infecciosas, com a finalidade de esclarecer os mecanismo envolvidos e avaliar o tipo e grau da anemia. Destina-se a fazer um levantamento de dados através das análises de prontuários (informações clínicas e coleta de resultados de exames laboratoriais), entrevistas e coleta de amostra de sangue para a realização dos seguintes exames laboratoriais (hemograma completo, contagem do reticulócitos, da velocidade de hemossedimentação das hemácias(VHS), ferro sérico, ferritina, transferrina, níveis séricos de vitamina B12 e de Ácido fólico), com o objetivo também de correlacionar o grau de anemia com os fatores de prognóstico .

Convido o Sr.(a) a participar da pesquisa, em caso de dúvida, poderá comunicar-se com a pesquisadora Dra. Romélia Pinheiro Gonçalves, que reside na rua Pereira Valente, 640, Apto 701, bairro Meireles, Fortaleza,CE. Fone: (0xx85)-91996669. Para tanto, necessitamos que o Sr.(a) responda um questionário contendo informações importantes para o desenvolvimento da pesquisa e que autorize a obtenção da coleta de sangue e das informações para que seja realizado o monitoramento dos parâmetros acima estabelecidos.

A participação do Sr.(a) na pesquisa será plenamente voluntária e consciente, não havendo qualquer forma de pagamento ou compensação material, sendo que , ao participar da pesquisa, não ficará exposto(a) a nenhum risco, podendo desistir de participar, a qualquer momento, sem prejuízo de sua assistência médica. Sua identidade será mantida em sigilo absoluto, sendo a divulgação dos resultados totalmente proibida a terceiros, ficando restrita à discussão acadêmica de âmbito científico e, ainda assim, sem qualquer possibilidade de identificação dos pacientes. Será, no entanto, permitido o acesso às informações sobre procedimentos relacionados à pesquisa.

Certo e ciente dos detalhes acima descritos, e, por concordar na íntegra com todos os termos acima expostos, manifestos, por vontades próprias, livres e conscientes, o propósito de participar do presente estudo.

Fortaleza, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do participante da pesquisa

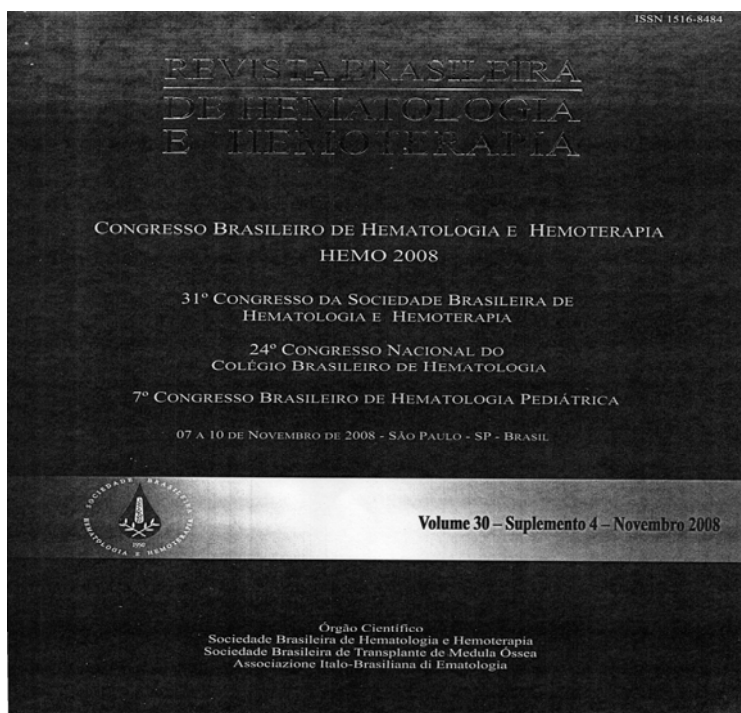
\_\_\_\_\_  
Assinatura do responsável legal

\_\_\_\_\_  
Assinatura de quem obteve o termo

**Pesquisador:** Jean Lima Prazeres, Rua Osvaldo Cruz, 1533, Apto 1002, Meireles, Fortaleza, Ce, Tel: 3224-6752

**Orientadora:** Dra. Romélia Pinheiro Gonçalves, Rua Pereira Valente, 640, Apto 701, Meireles, Fortaleza,CE. Fone: (0xx85)-99966629

# APÊNDICE E - APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS EM CONGRESSO



Temas livres/Abstracts - Hematologia

Rev. bras. hematol. hemoter., novembro 2008;30, suplemento 4:9-222

analisadores automáticos. Nestes casos é realizado um screening de anormalidades leucocitárias qualitativas, com quantificação, se confirmadas. Realizamos uma avaliação quantitativa deste critério de revisão. **Material e Métodos:** Utilizamos os analisadores Sysmex XE 2100 e Sysmex XE 2100D, com uma rotina diária média de 900 hemogramas de pacientes ambulatoriais. No período de 30/06/2008 a 14/08/2008, 94 amostras com resultados normais aos analisadores automáticos foram submetidas à revisão microscópica por febre. Tais exames foram liberados pelo bioquímico na rotina. Estas lâminas foram mescladas a um mesmo número de lâminas de hemogramas normais e sem febre (controles normais), e entregues um segundo observador, que as revisou e documentou suas observações, sem acesso aos resultados do analisador nem aos dados clínicos. Foram revisadas 188 esfregaços, cujos resultados foram então comparados aos liberados na rotina habitual. **Resultados:** Nos 94 hemogramas normais revisados por febre, não foram encontradas anormalidades relevantes por nenhum dos observadores. Em 3 deles (2%) um dos observadores descreveu presença de "raros linfócitos atípicos" (aqui convenionados como menor que 5%). Entre os 94 hemogramas "controle" não foram descritas anormalidades relevantes por nenhum dos observadores. Em 4 deles (2,12%) um dos observadores descreveu presença de "raros linfócitos atípicos". **Conclusão:** Os resultados acima, embora preliminares e realizados em população de pacientes ambulatoriais, sugere que a revisão microscópica sistemática de amostras de pacientes com febre cujos resultados são normais aos analisadores não acrescenta informações importantes ao resultado do hemograma, ressaltando a elevada sensibilidade dos modernos analisadores para as anormalidades morfológicas dos leucócitos.

0522

## Avaliação das alterações hematológicas em pacientes com Leishmaniose visceral no Ceará

RP Gonçalves<sup>1</sup>, JL Prazeres<sup>1</sup>, IP Souza<sup>1</sup>, LGDA Valente<sup>1</sup>, HF Silva<sup>2</sup>, PG Carvalho<sup>3</sup>, ABL Arruda<sup>4</sup>, RFG Machado<sup>4</sup>, RP Gonçalves<sup>1</sup>, MVM Leão<sup>1</sup>, LB Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Ceará

<sup>2</sup>Hospital São José

<sup>3</sup>Unifor

<sup>4</sup>Hemoce

**Introdução:** O calazar ou leishmaniose visceral é uma doença tropical que se caracteriza pela presença de febre, hepatosplenomegalia, pancitopenia e hipergamaglobulinemia. O envolvimento hematológico é comum no calazar, sendo a anemia a anormalidade mais frequente decorrente de causas diversas e com prevalência variável conforme a população analisada. Consiste em avaliar o padrão das alterações hematológicas periféricas dos pacientes com Leishmaniose visceral no Ceará. **Material e Métodos:** As amostras de sangue foram colhidas após o diagnóstico laboratorial de formas amastigotas de *Leishmania sp* em aspirado medular nos pacientes do Hospital São José de Doenças Infecciosas, em Fortaleza, Ceará, no período de Janeiro de 2007 a Julho de 2008. As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Geral de Fortaleza. As contagens dos elementos sanguíneos foram realizadas em contador hematológico Pentra 80 ABX. As dosagens bioquímicas foram realizadas em Analisador Bioquímico HITACHI/Roche. **Resultados:** Das análises parciais (n=30) pacientes, 24(80%) pacientes foram do sexo masculino e 6(20%) do sexo feminino, com idades superiores a 16 anos. Observamos para as hemácias uma média de 3,85x10<sup>9</sup>/mm<sup>3</sup>, Hemoglobina de 9,22±1,39(g/dL), Hematócrito de 28,33±4,02 (%), Volume Corpuscular Médio(VCM) de 78,1± 6,99(fL), Hemoglobina Corpuscular Média(HCM) de 25,42±2,50(pg), concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

(CHCM) de 32± 2,15(%). Para as determinações do Ferro sérico obtivemos uma média de 32,53± 17,31 µg/dL, Transferrina de 146,83 ±42,19 mg/dL, Ferritina de 1339,47±599,05 ng/mL, Ácido Fólico de 10±3,47 ng/mL, Vitamina B12 de 573,5±253,94 pg/mL. **Conclusão:** Das análises observou-se a presença de um comprometimento hematológico ao diagnóstico bastante avançado, cursando a anemia com depleção dos componentes férricos, não se observando redução dos níveis de Ácido fólico e Vitamina B12.

0523

## Avaliação de coagulopatias hereditárias no Serviço de Hematologia do Hemocentro Regional de Uberaba

LF Oliveira<sup>1</sup>, PA Silva<sup>1</sup>, LA Apolinário<sup>1</sup>, PRJ Martins<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFMT)

<sup>2</sup>Hemocentro Regional de Uberaba (HRU)

**Introdução:** Doença de von Willebrand e hemofílias A e B são coagulopatias decorrentes de deficiência qualitativa e/ou quantitativa de fatores de coagulação e o tratamento é sua reposição. Neste estudo objetivou-se verificar eficácia do tratamento destas condições, intercorrências, presença de inibidor, quantidade de fator utilizado e sua tendência. **Material e Métodos:** Trata-se de estudo retrospectivo descritivo e quantitativo de dados de prontuários relativo ao período de 1997-2006. Dados coletados foram analisados em frequência estatística simples, absolutas e percentuais. **Resultados:** De 58 pacientes, 67% eram portadores de hemofilia A, 12% hemofilia B e 21% doença de von Willebrand similar a dados apresentados pelo Tribunal de Contas da União (2007), com idade média de 21,9 anos. Deficiência grave foi caracterizada em 33,3 e 14,3% dos pacientes com hemofílias A e B, respectivamente. Presença de inibidor foi detectada em um caso, sendo este hemofílico A grave. Quantidade de fator utilizada foi superior à estipulada pelo Ministério da Saúde (MS), com maior quantidade de fator empregada por paciente em 2001 e tendência de crescente uso do mesmo com concordância ao crescente número de intercorrências. Principal intercorrência foi representada por hemartroses (38%) com articulações mais comumente afetadas joelhos (20,7%), tornozelos (17,2%) e cotovelos (13,8%) de acordo com dados da literatura. **Conclusão:** No Brasil, 71% das coagulopatias hereditárias são representadas por hemofilia A, 11,6% por hemofilia B e os 17,4% restantes são relacionados às formas clinicamente significativas da doença de von Willebrand e a outras deficiências de fatores de coagulação. Coagulopatias hereditárias são pouco abordadas em publicações e pesquisas com informações limitadas, fragmentadas e heterogêneas. Em Programa de Atenção Integral a Pacientes Portadores de Coagulopatias Hereditárias do MS, pretende-se instituir tratamento preventivo, com redução de gastos com internação hospitalar e tratamentos prolongados. Educação permanente de profissionais e padronização de registros são necessárias para melhoria de assistência. Fonte Financiadora: FIBIC/CNPq.

0524

## Avaliação dos índices hematimétricos e valores de hemoglobina na talassemia beta heterozigota

BM Lima<sup>1</sup>, LS Ondei<sup>1</sup>, IF Estevão<sup>1</sup>, MIP Rocha<sup>1</sup>, P Peiti Jr<sup>2</sup>, CR Bonini-Domingos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unesp/Ibilce, Departamento de Biologia, LHGDH

<sup>2</sup>Unesp/Ibilce, Laboratório de Estudos Genômicos

**Introdução:** A talassemia beta é decorrente de mutações no gene beta, localizado no braço curto do cromossomo 11, que levam a uma redução da produção de cadeias beta, desencadeando um