



Universidade Federal do Ceará  
Faculdade de Medicina  
Departamento de Fisiologia e Farmacologia  
Programa de Pós Graduação em Farmacologia

Gabriela Freire Bezerra

**AVALIAÇÃO DE NOVOS BIOMARCADORES NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DA  
LESÃO RENAL AGUDA EM PACIENTES COM LEISHMANIOSE VISCERAL EM  
USO DE ANFOTERICINA B LIPOSSOMAL**

FORTALEZA – CE

2018

**AVALIAÇÃO DE NOVOS BIOMARCADORES NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DA  
LESÃO RENAL AGUDA EM PACIENTES COM LEISHMANIOSE VISCERAL EM  
USO DE ANFOTERICINA B LIPOSSOMAL**

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito para a obtenção do título de mestre em Farmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Alice Maria Costa Martins.

FORTALEZA-CE

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- B1a BEZERRA, GABRIELA FREIRE.  
AVALIAÇÃO DE NOVOS BIOMARCADORES NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DA LESÃO RENAL AGUDA EM PACIENTES COM LEISHMANIOSE VISCERAL EM USO DE ANFOTERICINA B LIPOSSOMAL / GABRIELA FREIRE BEZERRA. – 2018.  
80 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2018.  
Orientação: Prof. Dr. ALICE MARIA COSTA MARTINS.

1. Anfotericina B. 2. Biomarcadores. 3. Lesão renal aguda. 4. Leishmaniose visceral. I. Título.

CDD 615.1

---

**AVALIAÇÃO DE NOVOS BIOMARCADORES NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DA  
LESÃO RENAL AGUDA EM PACIENTES COM LEISHMANIOSE VISCERAL EM  
USO DE ANFOTERICINA B LIPOSSOMAL.**

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito para a obtenção do título de mestre em Farmacologia.

Aprovada em \_\_/\_\_/\_\_

Banca examinadora

---

Prof. Dra. Alice Maria Costa Martins (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará

---

Profa. Dra. Elizabeth de Francesco Daher  
Universidade Federal do Ceará

---

Prof Dr. Daniel Freire de Sousa  
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro Brasileira

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por tantas graças alcançadas, por ter me dado a coragem de perseguir todos os meus sonhos e por nunca ter me deixado perder a fé ou desistir nos momentos difíceis.

Aos meus pais, por todo incentivo, toda força, todas as palavras nos momentos certos e por todo amor incondicional. Sem eles, eu nada seria.

Ao meu esposo, por estar lado a lado, sonhando junto comigo, e por todo incentivo para que eu pudesse chegar até aqui.

À minha irmã, pela amizade, lealdade, companheirismo em todas as fases de minha vida.

Aos meus familiares, por estarem sempre torcendo por mim e vibrando em cada vitória.

Um agradecimento especial a minha Orientadora, Dra Alice Maria, por toda paciência e confiança que me foi dada para execução desse trabalho.

A todos os meus colegas do laboratório, em especial a Gdayllon, Danya, Mariana, Marília, Tiago, Thaiany e Isabella, por todo apoio e por tornarem os dias de experimentos mais leves. A participação de todos foi fundamental para que eu chegasse até aqui, desde os que ajudaram no preparo de soluções e alíquotas das amostras, aos que me ajudaram nos experimentos e vibraram comigo cada acerto e resultado que obtive ao longo do trabalho.

Aos meus amigos de faculdade, que apesar da distância ocasionada pelo dia a dia, se fazem sempre presentes e são motivo de inspiração para mim.

A todo o pessoal do laboratório do hospital São José, por terem ajudado durante esses anos e por terem aberto as portas do laboratório para mim, facilitando minha pesquisa.

À Dra Elizabeth Daher, Dr Geraldo Bezerra Jr. e Dr Alexandre Libório por fazerem parte do nosso grupo de pesquisa e darem todo suporte necessário, sem eles nada seria possível.

A todos os meus queridos pacientes, por terem acreditado na pesquisa, e terem cedido um pouco de tempo, mesmo doentes, para participar da pesquisa. Sem eles esse trabalho não existiria...

Agradeço a agência de fomento CAPES, por onde fui bolsista durante o mestrado, e que me permitiu seguir com esse sonho. E agradeço ainda, ao CNPQ, pelo financiamento das pesquisas do nosso laboratório.

**“Se você pode sonhar, você pode realizar...”**

**Walt Disney**

## RESUMO

### AVALIAÇÃO DE NOVOS BIOMARCADORES NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DA LESÃO RENAL AGUDA EM PACIENTES COM LEISHMANIOSE VISCERAL EM USO DE ANFOTERICINA B LIPOSSOMAL

**Introdução:** O uso de anfotericina B (Anf-B) é bastante eficaz para o tratamento de leishmaniose visceral (LV), mas é uma das principais causas de lesão renal aguda (LRA) nesses pacientes. A formulação lipossomal tem menor nefrotoxicidade, mas poucos estudos com biomarcadores renais foram feitos avaliando esses efeitos em pacientes com LV. **Objetivo:** Estudar a associação do uso da Anf-B lipossomal com a injúria renal em pacientes com leishmaniose visceral. **Métodos.** Foi realizado um estudo prospectivo, longitudinal entre abril de 2015 e janeiro de 2018; após a aplicação de critérios de inclusão e exclusão, foram acompanhados 17 pacientes com LV hospitalizados no Hospital São José de Doenças Infecciosas, Fortaleza, Ceará. O trabalho foi aprovado pelo comitê de ética CAAE: 61488016.8.3001.5044. Foram feitas duas coletas de soro e urina; a primeira na admissão hospitalar antes dos pacientes iniciarem o tratamento (tempo 1) e a segunda entre o período de 72 horas a 168 horas a partir do início do tratamento com Anf-B lipossomal (tempo 2). Os parâmetros renais avaliados foram taxa de filtração glomerular (TFG) estimada pelo CKD-EPI, creatinina e uréia sérica, fração de excreção de sódio e potássio, proteinúria, albuminúria e os biomarcadores MCP-1, KIM-1, VEGF urinários, além de IL-6 e INF- $\gamma$  séricos pelo ensaio imunoenzimático (ELISA). **Resultados.** Os pacientes tiveram idade média de  $43 \pm 16$  anos e 12 (71%) eram do sexo masculino. Na análise pareada, foi observado que durante o tratamento os pacientes não tiveram aumentos significativos da creatinina e uréia sérica, bem como diminuição da TFG. Além disso, não houve diferença entre a fração de excreção de sódio e potássio e também entre a proteinúria e albuminúria. Em relação aos biomarcadores, o MCP-1 e KIM-1 urinários apresentaram aumentos significativos durante o uso de Anf-B lipossomal; (656,02 (413,81 – 929,55) vs 1871,92 (834,25 – 2299,33) pg/mg-Cr,  $p < 0,05$ ) e (1,62 (1,20 – 1,97) vs 2,51 (1,85 – 3,24) ng/mg-Cr,  $p < 0,05$ ), respectivamente. As concentrações plasmáticas de IL-6 diminuíram de forma significativa durante o tratamento (17,37 (8,74 – 49,08) vs 0,21 (0,00 – 3,55) pg/mL,  $p < 0,05$ ). Os níveis de VEGF e INF- $\gamma$  não apresentaram diferenças significativas. Além disso, os níveis de MCP-1 urinários se correlacionaram estatisticamente com os marcadores renais utilizados atualmente na prática clínica. **Conclusões.** O uso de Anf-B lipossomal não apresentou nefrotoxicidade importante de acordo com parâmetros clássicos de função renal avaliados, mas pode ter contribuído para algum grau de lesão renal evidenciada pela elevação de MCP-1 urinário e KIM-1 urinário.

**Palavras chaves:** Anfotericina B, Biomarcadores, Lesão renal aguda, Leishmaniose visceral.

## ABSTRACT

### NOVEL BIOMARKERS IN EARLY DIAGNOSIS OF ACUTE KIDNEY INJURY IN PATIENTS WITH VISCERAL LEISHMANIASIS IN TREATMENT WITH LIPOSOMAL AMPHOTERICIN B

**Background:** The use of amphotericin B is very effective for treatment of visceral leishmaniasis (VL), but it is one of the main causes of acute kidney injury (AKI) in these patients. The liposomal formulation has less nephrotoxicity, but few studies with renal biomarkers have been done evaluating these effects in patients with VL. **Aims:** To study the association of the use of liposomal Anf-B with renal injury in patients with visceral leishmaniasis **Methods:** A prospective and longitudinal study was conducted between April 2015 and January 2018, and after exclusion criteria, 17 patients with VL were hospitalized in a reference hospital of infectious disease, Fortaleza, Ceará. The work was approved by the ethics committee CAAE: 61488016.8.3001.5044. The serum and urine were collected in two periods, first before patients started treatment (time 1) and the second at 72 hours to 168 hours after starting treatment with liposomal Anf-B (time 2). The renal parameters evaluated were: glomerular filtration rate (GFR) estimated by CKD-EPI, creatinine and serum urea, fractional excretion of sodium and potassium, proteinuria, albuminuria. Urinary biomarkers, MCP-1, KIM-1, VEGF and inflammatory biomarkers, IL-6, INF- $\gamma$  were made by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) **Results:** Patients had a mean age of  $43 \pm 16$  years and 12 (71%) were males. In the paired analysis, it was observed that during the treatment the patients did not have significant increases of creatinine and serum urea, as well as a decrease of the GFR. In addition, there was no difference between the fractional excretion of sodium and potassium and also between proteinuria and albuminuria. Regarding the biomarkers, urinary MCP-1 and KIM-1 showed significant increases during the use of liposomal Anf-B; (656.02 (413.81 - 929.55) vs 1871.92 (834.25 - 2299.33) pg / mg-Cr,  $p < 0.05$ ) and (1.62 (1.20-1.0, 97) vs. 2.51 (1.85-3.24) ng / mg-Cr,  $p < 0.05$ ), respectively. IL-6 levels decreased significantly during treatment (17,37 (8,74 – 49,08) vs 0,21 (0,00 – 3,55) pg/mL,  $p < 0,05$ ). The levels of VEGF and INF- $\gamma$  did not show significant differences. Besides that, urinary MCP-1 levels correlated statistically with the renal markers currently used in clinical practice. **Conclusions:** The use of liposomal Anf-B did not present significant nephrotoxicity according to the classic parameters of renal function evaluated, but may have contributed to renal injury evidenced by elevation of urinary MCP-1 and urinary KIM-1.

**Key words:** Amphotericin B, Acute kidney injury, Biomarkers, Visceral leishmaniasis.



## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ALT</b>	Alanina aminotransferase
<b>AST</b>	Aspartato aminotransferase
<b>Anf-B</b>	Anfotericina B
<b>CKD-EPI</b>	Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration
<b>ELISA</b>	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
<b>IGF-1</b>	Fator de crescimento semelhante à insulina 1
<b>IL-1</b>	Interleucina 1
<b>IL-4</b>	Interleucina 4
<b>IL-6</b>	Interleucina 6
<b>IL-10</b>	Interleucina 10
<b>INF-<math>\gamma</math></b>	Interferon gama
<b>KIM-1</b>	Molécula de injúria renal 1
<b>LPS</b>	Lipopolissacarídeo
<b>LRA</b>	Lesão renal aguda
<b>LRA-AnB</b>	Lesão renal induzida pela anfotericina B
<b>LV</b>	Leishmaniose visceral
<b>MCP-1</b>	Proteína quimiotática de monócitos 1
<b>NO</b>	Óxido Nítrico
<b>PIG- F</b>	Fator de crescimento da placenta
<b>TFG</b>	Taxa de filtração glomerular
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Fator de necrose tumoral alfa
<b>TNF- <math>\beta</math></b>	Fator de necrose tumoral beta
<b>TGF- <math>\beta</math></b>	Fator de transformação do crescimento beta
<b>T<sub>CD4</sub></b>	Linfócito CD <sub>4</sub>
<b>Th1</b>	T helper 1
<b>Th2</b>	T helper 2
<b>VEGF</b>	Fator de crescimento vascular endotelial

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1 -</b>	A leishmaniose visceral no mundo .....	16
<b>Figura 2 -</b>	Áreas com maior concentração de casos de LV no Brasil .....	17
<b>Figura 3 -</b>	Número de casos e incidência de leishmaniose visceral, Ceará, 2008 a 2017* .....	18
<b>Figura 4 -</b>	Número de óbitos e taxa de letalidade por leishmaniose visceral, Ceará, 2008 a 2017* .....	19
<b>Figura 5 -</b>	Proporção de casos de leishmaniose visceral segundo sexo, Ceará, 2008 a 2017* ..	19
<b>Figura 6 -</b>	Casos de leishmaniose visceral segundo faixa etária, Ceará, 2008 a 2017* .....	20
<b>Figura 7 -</b>	O ciclo de vida da <i>Leishmania</i> .....	22
<b>Figura 8 -</b>	Mecanismo de ação da anfotericina B .....	27
<b>Figura 9 -</b>	Fluxograma da população do estudo .....	45
<b>Figura 10 -</b>	Níveis de MCP-1 urinário na admissão e durante o tratamento .....	49
<b>Figura 11 -</b>	Níveis de KIM-1 urinário na admissão e durante o tratamento .....	49
<b>Figura 12 -</b>	Níveis dos biomarcadores inflamatórios na admissão e durante o tratamento .....	50
<b>Figura 13 -</b>	Percentual de alteração média dos biomarcadores em relação à admissão hospitalar.....	51
<b>Figura 14 -</b>	Correlções significativas entre o MCP-1 e os marcadores tradicionais de lesão renal na admissão hospitalar .....	53
<b>Figura 15 -</b>	Correlções significativas entre o MCP-1 e os marcadores tradicionais de lesão renal durante o tratamento com a Anf-B lipossomal .....	53

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Características gerais dos pacientes com leishmaniose visceral .....	46
<b>Tabela 2</b>	Exames laboratoriais dos pacientes com leishmaniose visceral .....	47
<b>Tabela 3</b>	Marcadores renais tradicionais em pacientes com leishmaniose visceral .....	48
<b>Tabela 4</b>	Biomarcadores urinários e inflamatórios em pacientes com leishmaniose visceral .....	48
<b>Tabela 5</b>	Correlação entre os níveis de MCP-1 urinário e os marcadores renais tradicionais nos dois períodos .....	52

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
1.1	Epidemiologia .....	16
1.2	Ciclo biológico da Leishmaniose visceral .....	20
1.3	Imunopatogenia da leishmaniose visceral .....	22
1.4	Manifestações clínicas da doença .....	23
1.5	Diagnóstico .....	24
1.6	Tratamento .....	25
1.7	Envolvimento Renal .....	28
1.8	O uso de novos biomarcadores renais urinários .....	30
1.8.1	<i>Proteína quimiotática de monócitos1 (MCP-1)</i> .....	31
1.8.2	<i>Fator de crescimento vascular endotelial (VEGF)</i> .....	32
1.8.3	<i>Molécula de injúria renal (KIM-1)</i> .....	33
1.9	Justificativa .....	34
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>37</b>
2.1	Objetivo geral .....	37
2.2	Objetivo específico .....	37
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA .....</b>	<b>39</b>
3.1	Tipo de estudo .....	39
3.2	Caracterização do local e da população de estudo .....	39
3.3	Critérios de inclusão e exclusão .....	39
3.4	Diagnóstico da leishmaniose visceral .....	40
3.5	Coleta de material biológico .....	40
3.6	Análises laboratoriais .....	40
3.7	Análise da função renal .....	41
3.8	Quantificação dos novos biomarcadores renais urinários e biomarcadores inflamatórios .....	42
3.9	Análise estatística .....	43
3.10	Aspéctos éticos .....	43
<b>4</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>45</b>
4.1	Características demográficas, clínicas e laboratoriais .....	45
4.2	Níveis dos biomarcadores renais nos pacientes com LV .....	47

4.3	Correlação entre os níveis de MCP-1 urinário e os marcadores renais tradicionais	51
5	<b>DISCUSSÃO</b> .....	55
6	<b>CONCLUSÃO</b> .....	62
7	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	63
8	<b>APÊNDICE</b> .....	75

# **Introdução**

## 1. INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV), doença popularmente conhecida como calazar, é causada por parasitas do gênero *Leishmania*, possui evolução crônica e pode ser letal se não for tratada. É uma doença que acomete milhares de pessoas no mundo, sendo uma das principais doenças tropicais negligenciadas e que se encontra em quase todos os continentes, como América do Sul, África, Ásia e América Central (WHO, 2015).

Diversos são os agentes etiológicos causadores da Leishmaniose visceral no mundo, como: *Leishmania (L.) infantum* encontrada nas regiões do Mediterrâneo, Ásia, China e norte da África, *Leishmania (L.) donovani* encontrada no Sudão, Índia, Bangladesh, Paquistão e Nepal, e a *Leishmania (L.) chagasi* encontrada na América Latina, com exceção do Chile e Uruguai, que é bastante semelhante a *Leishmania (L.) infantum* encontrada em alguns países do Mediterrâneo e da Ásia. (CHAPPUIS, 2007; SHAW, 2006).

Esses parasitas são transmitidos aos seres humanos através da picada do mosquito flebotomíneo fêmea infectado, *Lutzomyia longipalpis*, conhecido também como mosquito palha, um minúsculo vetor que possui apenas de 2 a 3 mm de comprimento (WHO, 2015). Embora, outras espécies de flebotomíneos já tenham sido apontadas como transmissores deste agente, como a *Lutzomyia cruzi* encontrada no Mato grosso do sul (TRAVI, 1996; SALOMÓN, 2010; GUIMARÃES, 2016; GALVIS-OVALLOS, 2017).

Nas diversas regiões endêmicas de leishmaniose visceral no Mundo, diferentes mamíferos podem ser utilizados como reservatórios de diferentes espécies de *Leishmania* como animais silvestres e animais domésticos. Entre eles, o cão doméstico (*Canis familiaris*) está muito associado, pois costuma ser o principal reservatório nas áreas urbanas devido a um maior contato com os homens (DANTAS-TORRES, 2009; SALOMÓN, 2015).

A LV é uma doença que apresenta uma dinâmica influenciada por alguns fatores socioeconômicos como a pobreza e o limitado acesso das pessoas aos serviços de saúde (MOLYNEUX, 2017; KAMHAWI, 2017), e também alguns fatores biológicos específicos, como as interações entre os agentes etiológicos, os hospedeiros e os vetores, além da resposta imune do hospedeiro (READY, 2013).

O acometimento renal na LV acontece com frequência e a ocorrência de lesão renal aguda (LRA) pode chegar a 46% dos pacientes que se encontram hospitalizados, estando ainda, associada com a mortalidade deles. (DA SILVA JUNIOR; GUARDÃO

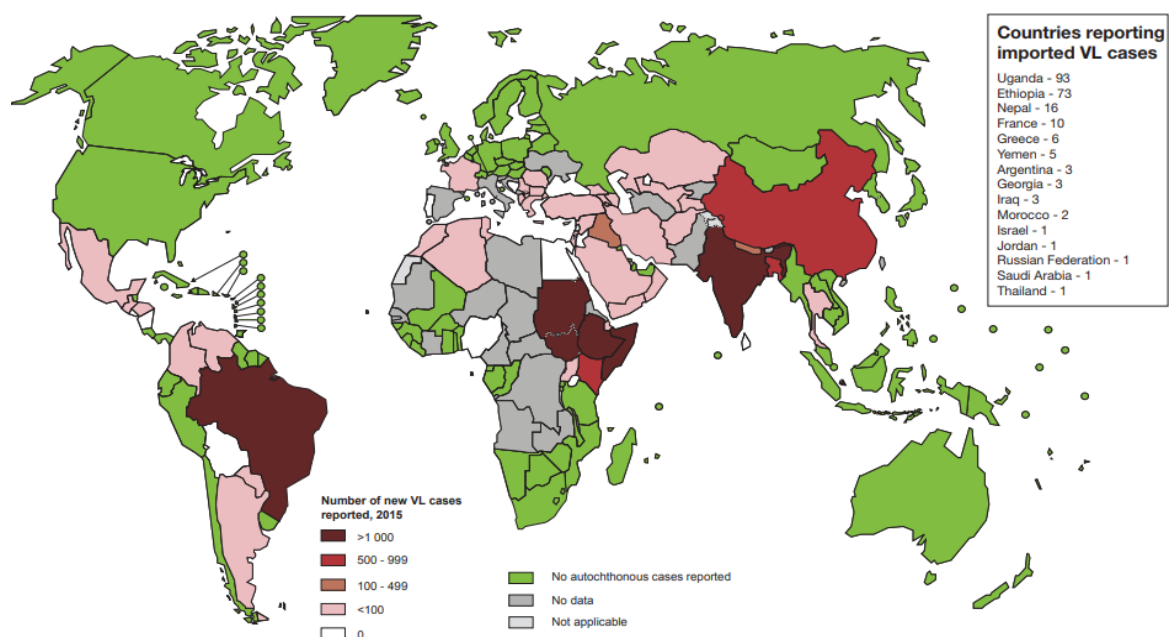
BARROS; DE FRANCESCO DAHER, 2014; LIBÓRIO et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2010). Existem algumas alterações da função renal e já foi relatado em vários estudos que os pacientes afetados podem vir a desenvolver problemas como proteinúria, hematúria, anormalidades na concentração urinária e acidificação, além de insuficiência renal aguda e crônica. Além disso, os diversos medicamentos que são utilizados para o tratamento da LV nos diversos países no mundo, como os antimoniais pentavalentes, anfotericina B, pentamidina, miltefosina, paromomicina e simatequina, estão associados a diferentes riscos de toxicidade renal (CLEMENTI, 2011; LIMA VERDE, 2009; OLIVEIRA 2014; MENESES, 2017).

Os estudos com novos biomarcadores renais mais específicos e mais sensíveis são importantes para o diagnóstico e a descoberta de novos mecanismos de lesão renal associados ao tratamento da leishmaniose visceral.

### 1.1 Epidemiologia

De acordo com a Organização mundial de saúde (WHO) 2015, a Leishmaniose visceral, conhecida também como calazar, é considerada uma doença negligenciada, com cerca de 200 a 400 mil casos detectados todo ano, ela é endêmica em 98 países com 90% dos casos concentrados em Bangladesh, Nepal, Sudão, Índia e Brasil (Figura 1).

**Figura 1.** A leishmaniose visceral no mundo.



Fonte: Adaptado de WHO (2015).



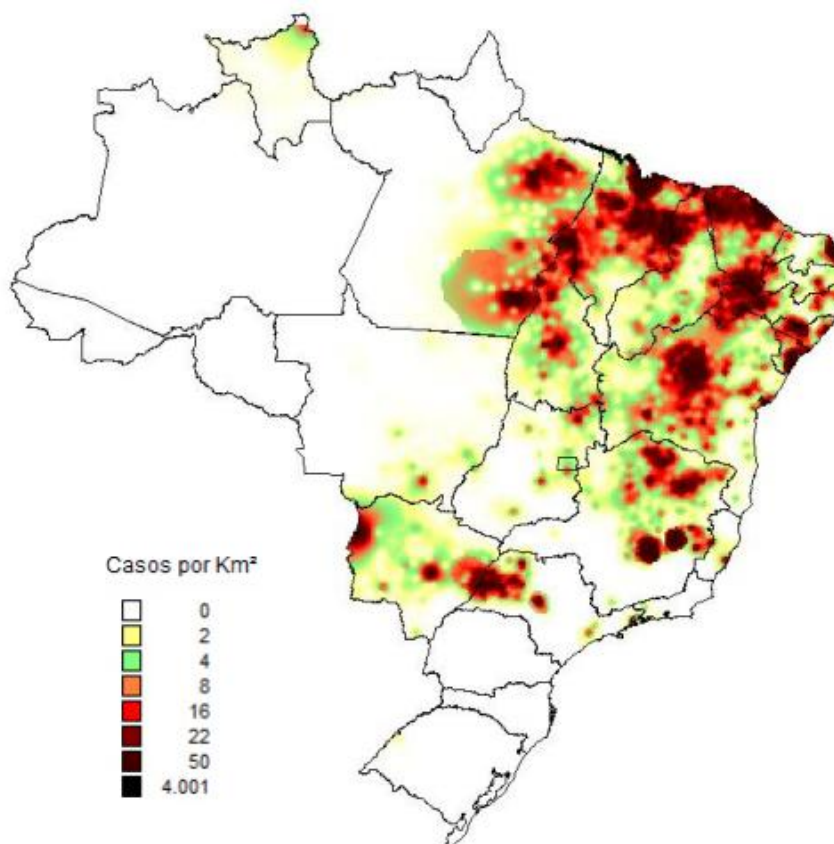
No Brasil no ano de 1990 foram registrados 1.944 novos casos de LV e em 2016 esse número aumentou para 3.200 casos, onde percebe-se que o número de doentes vem aumentando ao longo dos anos (BRASIL, 2016).

Dentre todas as doenças negligenciadas presentes no Brasil, a LV ficou em terceiro lugar no que se refere à mortalidade no período de 2000 a 2011, causando mais mortes do que doenças como dengue e malária. No Brasil houve 265 óbitos pela LV só no ano de 2016 (MARTINS-MELO, 2014; BRASIL, 2016).

Nos últimos 30 anos, o Nordeste brasileiro tem sido considerada a principal região endêmica do Brasil, onde foram registrados os maiores números de casos, apresentando 1.523 casos no ano de 2016, o que representou quase a metade de todos os casos do Brasil, enquanto a região Sudeste, a segunda região com maior número de casos, apresentou apenas 18,5% de todos os casos (BRASIL, 2016).

Segundo Reis et al (2017), os estados com as maiores concentrações de doentes e que possuem também os maiores números de óbitos são Maranhão, Piauí, Bahia e Ceará (Figura 2).

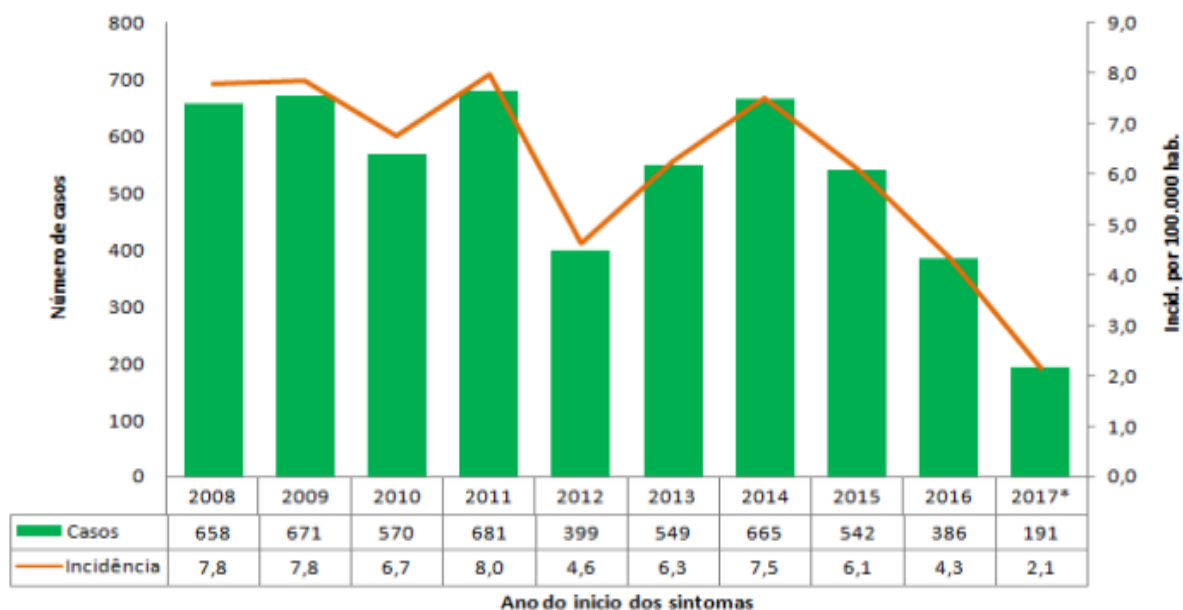
**Figura 2.** Áreas com maior concentração de casos de LV no Brasil.



Fonte:SVS/MS (2015).

No Ceará, no período de 2008 até agosto de 2017, foram notificados 9.247 casos e destes, 5.312 (57,4%) foram confirmados. A média anual de casos confirmados de LV nesse período foi de 531 e a incidência de 6,1 casos/100.000 hab. Comparando-se o número de casos confirmados de 2015 com 2016 verificou-se uma redução de 28,8% (Figura 3) (CEARÁ, 2017).

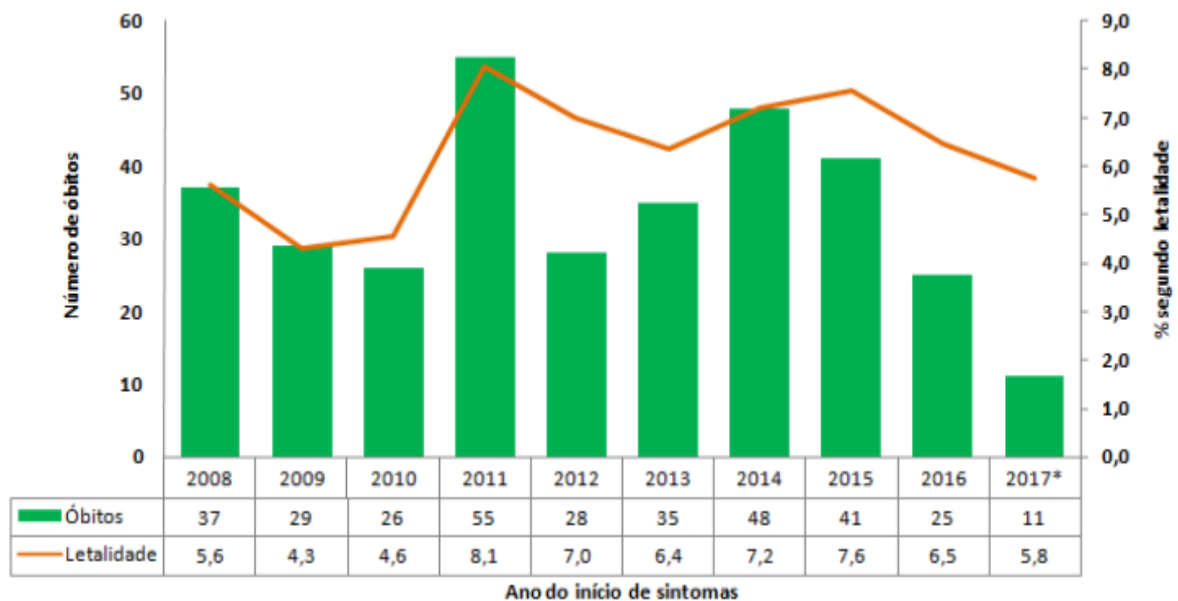
**Figura 3.** Número de casos e incidência de leishmaniose visceral, Ceará, 2008 a 2017\*.



\*Dados de 2017 até 26/08/17. Fonte: SESA/COPROM/NUVEP. Adaptado de Ceará (2017)

A taxa de letalidade por LV apresentou média de 5,7% no período de 2008 até agosto de 2017. Comparando-se os óbitos do ano de 2015 com 2016, verificou-se uma redução de 39%, passando de 41 para 25 óbitos. Em 2017, até a semana epidemiológica 34, houve 11 óbitos pela doença (Figura 4) (CEARÁ, 2017).

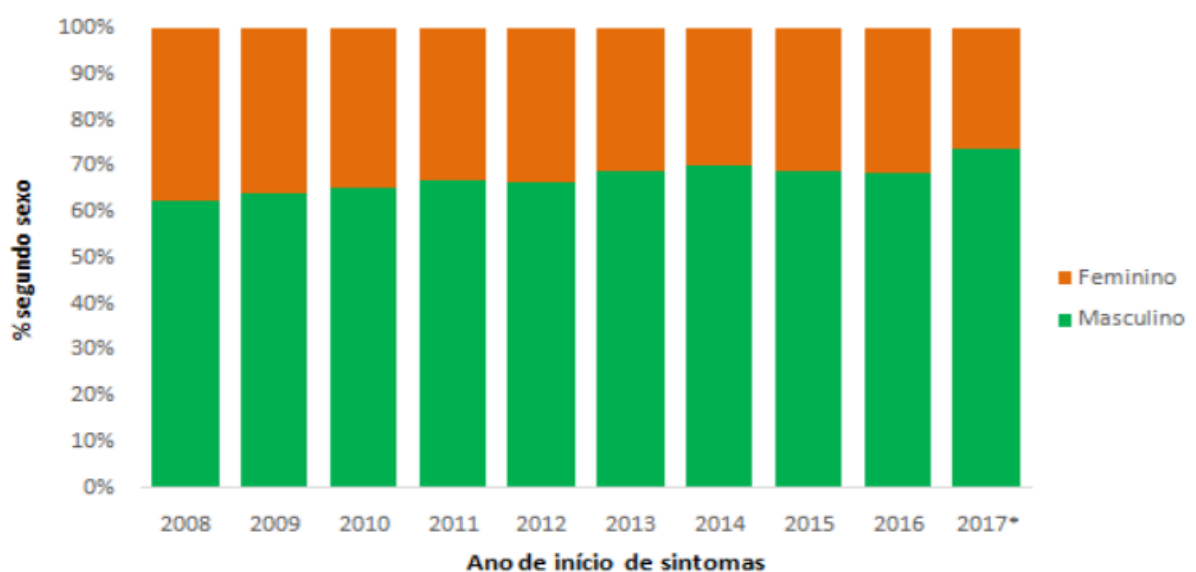
**Figura 4.** Número de óbitos e taxa de letalidade por leishmaniose visceral, Ceará, 2008 a 2017\*.



\*Dados de 2017 até 26/08/17. Fonte: SESA/COPROM/NUVEP. Adaptado de Ceará (2017)

No que se refere ao sexo, os homens, ao longo dos anos, vêm sendo mais acometidos pela doença do que as mulheres, em média, 67,6% dos casos ocorrem em pessoas do sexo masculino (Figura 5) (CEARÁ, 2017).

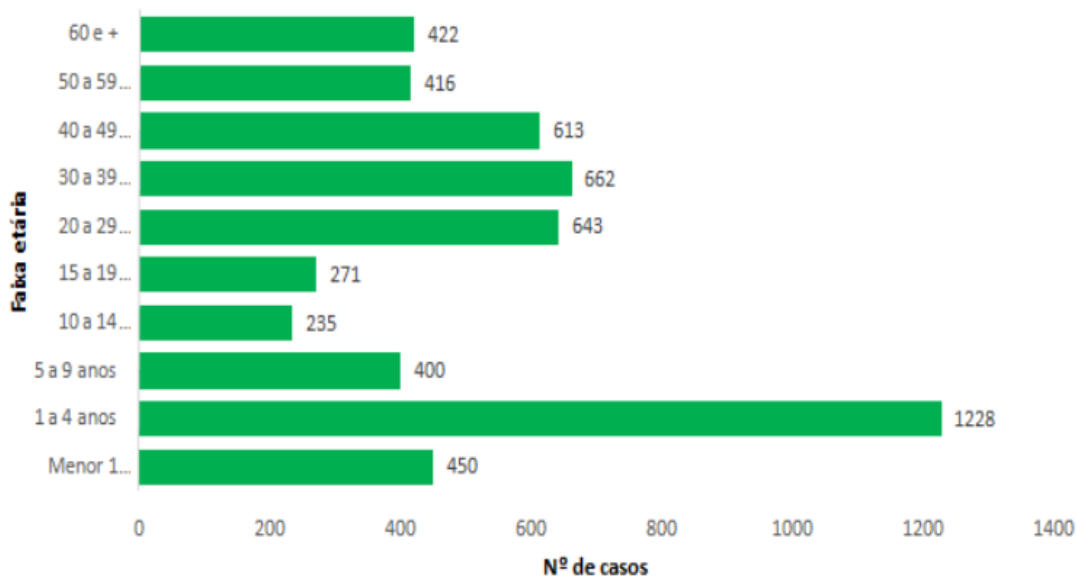
**Figura 5.** Proporção de casos de leishmaniose visceral segundo sexo, Ceará, 2008 a 2017\*.



\* Dados de 2017 até 26/08/17. Fonte: SESA/COPROM/NUVEP. Adaptado de Ceará (2017).

Ao analisar a faixa etária dos casos de leishmaniose visceral no Ceará, observa-se que as crianças de 1 a 4 anos são as mais propensas a adquirir e desenvolver a doença, somando 21,9% (1.228/5.600) dos casos, seguidas dos adultos de 30 a 39 anos que representam 11,8% (662/5.600) dos casos confirmados (Figura 6) (CEARÁ, 2017).

**Figura 6.** Casos de leishmaniose visceral segundo faixa etária, Ceará, 2008 a 2017.



\* Dados de 2017 até 26/08/17. Fonte: SESA/COPROM/NUVEP. Adaptado de Ceará (2017).

## 1.2 Ciclo biológico da Leishmaniose visceral

A *Leishmania* possui um ciclo de vida digenético que envolve um hospedeiro mamífero, como o cão domiciliar, e um inseto vetor. Os parasitas apresentam formas morfológicas distintas e vários tipos de células (formas de desenvolvimento) que são próprias do hospedeiro ou vetor. Algumas dessas formas evolutivas são proliferativas, enquanto outras são pré-adaptadas para a transmissão ao próximo hospedeiro (MATTHEWS, 2011).

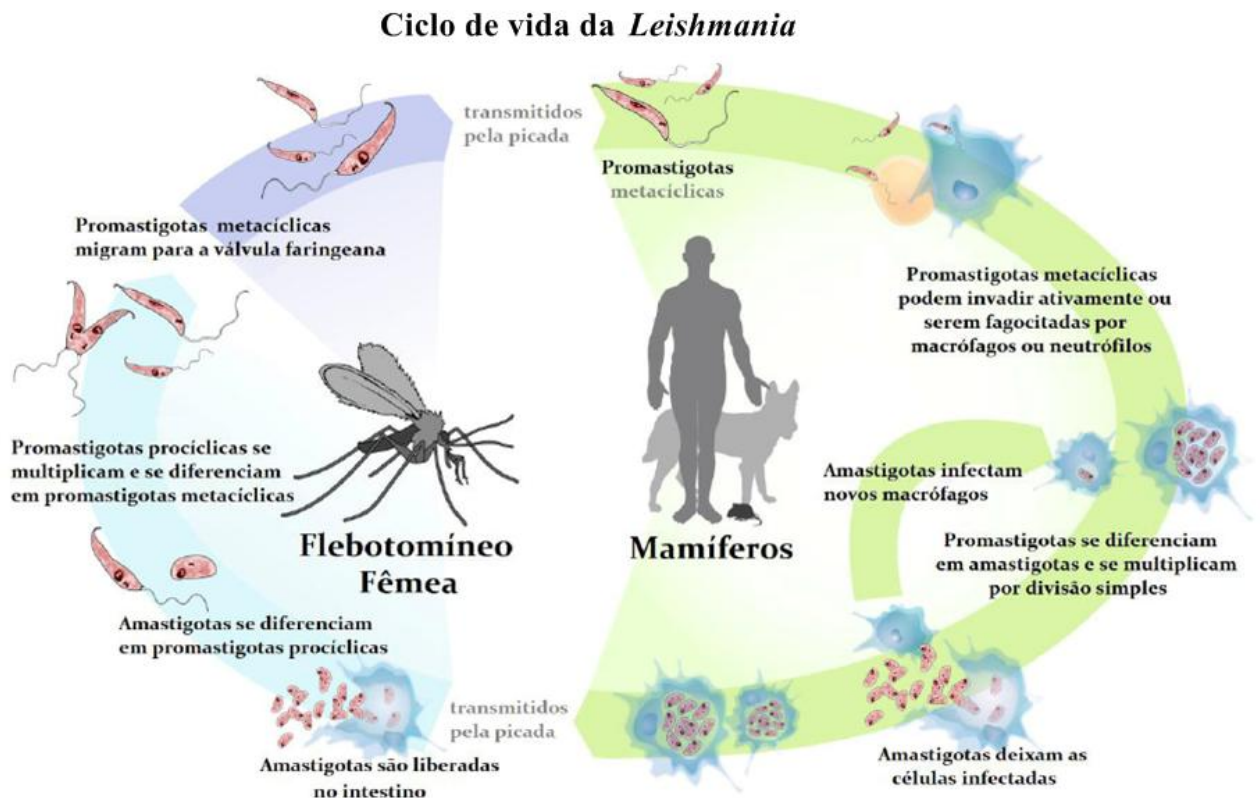
As principais morfologias celulares são exemplificadas pelas formas promastigota e amastigota. A forma promastigota metacíclica, forma infectante do parasita, possui um flagelo e se encontra no intestino do vetor, a sua transmissão ocorre através da saliva do mosquito durante a picada no mamífero. E existe a forma amastigota que se encontra nos hospedeiros mamíferos e é uma forma obrigatoriamente intracelular, infectando células de defesa como macrófagos (LESTINOVA et al., 2017).

O ciclo começa durante o repasto sanguíneo, quando os mosquitos fêmeas ingerem o sangue de mamíferos infectados, que contém macrófagos com as formas amastigotas em seu interior. Devido a mudanças do ambiente do hospedeiro mamífero para o intestino do vetor, mudanças na morfologia do parasita acontecem e eles se transformam na forma evolutiva chamada de promastigotas procíclicos (DOSTÁLOVÁ, 2012). Os promastigotas procíclicos são formas com locomoção um pouco limitada, pois apresentam um curto flagelo. Passado um período de aproximadamente 2 ou 3 dias, esses parasitas conseguem se diferenciar e proliferar no ambiente adequado, formando assim, diferentes formas promastigotas que conseguem atingir o intestino, aumentando a sua capacidade de deslocamento até se transformarem na forma promastigota metacíclica, que é a forma infectante da doença (ROGERS; CHANCE; BATES, 2002).

É durante outro repasto sanguíneo em um hospedeiro mamífero, que as fêmeas infectadas inserem a saliva contendo as formas promastigotas metacíclicas e substâncias com grandes potenciais anticoagulantes e vasoativos, como o Maxidilam, que vão apresentar importante papel na infectividade dos hospedeiros. Esses parasitas acabam sendo fagocitados pelas células do Sistema Fagocitário Mononuclear (macrófagos, neutrófilos e células dendríticas imaturas, células de Kupffler do fígado, células reticulares, macrófagos do baço e medula óssea do hospedeiro vertebrado) e se transformam nas formas amastigotas. Ocorre uma reprodução por divisão binária, onde os parasitas se multiplicam dentro dessas células que estão infectadas até ocuparem todo o citoplasma o que acaba levando ao rompimento celular com consequente liberação de novas formas amastigotas, que irão fazer a infecção em outras células e assim continuar o ciclo no hospedeiro (Figura 7). Na LV, os parasitas possuem forte tropismo pelas células do sistema monofagocitário presentes em tecidos linfoides, além de fígado, baço e medula óssea (DAVIES, 2003; DOSTÁLOVÁ, 2012; MURRAY, 2005; LANE, 2016).

O período de incubação da doença na espécie humana costuma levar em média de dois a seis meses, mas pode variar ainda de dez dias a vinte e quatro meses. Esse período depende da susceptibilidade do hospedeiro. No cão a média do período de incubação é aproximadamente três a sete meses, com variação ampla entre três meses a vários anos (BRASIL, 2016).

**Figura 7.** O ciclo de vida da *Leishmania*.



Fonte: Harvay et al., 2011.

### 1.3 Imunopatogenia da Leishmaniose visceral

A LV é uma doença que possui uma redução na resposta imune celular frente aos antígenos do parasita *Leishmania*. É considerado ainda que a LV é um estado de imunossupressão mediado pela redução de células T, que pode ser acompanhado também pela redução de outros tipos celulares encontrados no sangue periférico como eritrócitos, plaquetas e neutrófilos (CARVALHO; BACELAR; BARRAL, 1989; SANTOS-OLIVEIRA; DA-CRUZ, 2012 apud OLIVEIRA, 2014).

A interação que ocorre entre *Leishmania* e a resposta imune celular resultam em diversas manifestações clínicas da doença. O aumento da susceptibilidade à doença é marcado por uma resposta vinda de perfil  $T_H2$  com a produção de determinadas interleucinas, como IL-4 e IL-10, que favorecem a inibição da produção de radicais livres e espécies reativas de oxigênio com consequente inibição da eliminação do parasita pelas células macrófagicas. Em contrapartida, em alguns estudos experimentais já foi sugerido que uma resposta imunológica

de perfil  $T_H1$ , com a produção de IFN- $\gamma$ , poderia estar relacionada com um mecanismo de resistência do indivíduo (PACE, 2014; SAPORITO, 2013).

O tipo de espécie da *Leishmania* também pode vir a influenciar no tipo de resposta do linfócito T, suprimindo a atividade dos macrófagos. Assim, os linfócitos  $T_{CD4}$  que são induzidos através do perfil  $T_H1$  secretam IFN- $\gamma$ , que levam os macrófagos a produzirem TNF- $\alpha$ , e este por sua vez, ativam os fagócitos para destruírem as *Leishmanias* por meio de metabólitos tóxicos como o peróxido de hidrogênio e o óxido nítrico. Já os linfócitos  $T_{CD4}$  estimulados pelo perfil  $T_H2$  vão secretar IL-4 que atua em sinergismo com IL-10, inibindo a ativação macrofágica, por meio de IFN- $\gamma$ , com consequente inibição do TNF- $\alpha$ . Acredita-se que é por meio desses mecanismos imunológicos que nem todos os pacientes infectados cheguem a desenvolver o calazar (SANTOS-GOMES, 2002; LANE, 2016).

A interleucina-6 (IL-6) está relacionada com a sobrevivência dos parasitas, pois esta interleucina leva a uma diminuição da atividade macrofágica, inibindo IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ , além de se mostrar capaz de acarretar uma supressão de respostas do tipo  $T_H1$  e induzir as respostas do tipo  $T_H2$  que não possuem efetividade para matar o parasita em questão (DOS SANTOS et al., 2016).

Estudos em humanos mostram que a resposta imunológica após a infecção pelo parasita tem predominância principalmente de linfócitos T auxiliares ( $T_H2$ ) com deficiente produção IL-2 e IFN- $\gamma$  durante as manifestações clínicas da doença, o que leva a inativação dos mecanismos de destruição dos parasitas através das células de defesa humana, principalmente os macrófagos. Neste estudo, observou-se ainda que essa condição é revertida após a cura desses doentes (PASTORINO, 2002).

#### **1.4 Manifestações clínicas da doença**

A LV é uma doença que pode se manifestar com diversos sinais e sintomas, o que dificulta o diagnóstico. Os pacientes podem evoluir assintomáticos ou com poucos sintomas, ou com quadros clínicos graves que se não forem diagnosticados e tratados podem levar esses pacientes a um pior prognóstico e até mesmo a óbito em alguns casos (OLIVEIRA et al., 2010; OLIVEIRA 2014).

Alguns fatores que podem ser relacionados com a gravidade da doença são, a idade do paciente (a doença se torna mais grave em crianças e idosos), estado nutricional do paciente, icterícia, alteração nos rins e a imunossupressão, incluindo pacientes co-infectados

com HIV, e aqueles pacientes que utilizam medicamentos imunossupressores ou imunomoduladores (DANTAS BRITO, 2014; GAMA, 2004; JERORSKI, 2015).

Os sintomas clássicos da doença são febre, que pode durar até quatro semanas, palidez, hepatoesplenomegalia, cansaço, fraqueza, falta de apetite e diminuição maciça de peso (OLIVEIRA, 2014).

As alterações laboratoriais encontradas mais comuns são redução do número de eritrócitos, hemoglobina, leucócitos e plaquetas. (DAHER et al., 2015). A anemia desses pacientes pode estar relacionada a uma destruição esplênica das hemácias. Foi demonstrado ainda, através de estudos, uma possível alteração na produção de eritrócitos, com consequente apoptose, morte programada, de eritroblastos através de fatores mediados por citocinas (CHAPPUIS, et al 2007; PIPPARD et al., 1986; LAFUSE et al., 2013 apud MENESES, 2017).

Outra condição comum nos pacientes com LV é a hipoalbuminemia que está relacionada ao parasitismo no fígado que leva a uma diminuição da produção de albumina, visto que este órgão é o responsável pela sua produção. Ocorre também uma menor absorção da albumina pelo intestino em pacientes que se encontram sub-nutridos (AL-GHAZALY; AL-DUBAI, 2016; apud MENESES 2017). Além disso, esse parasitismo acentuado que acomete o fígado pode ocasionar um aumento do infiltrado de células mononucleares, inflamação, perda de hepatócitos e até a fibrose em casos mais graves (HAG et al., 1994; KHADEM et al., 2016; apud MENESES 2017).

O envolvimento hepático presente no calazar acarreta no aumento das enzimas hepáticas e das bilirrubinas. Além disso, pode levar a um quadro com o aumento da icterícia que está envolvida com um pior prognóstico dos pacientes (BELO et al., 2014). Há ainda grande produção de gamaglobulinas, devido a uma marcada ativação policlonal de linfócitos B podendo ser detectada através de uma eletroforese de proteínas (LIMA VERDE et al., 2009; RONET et al., 2010 apud MENESES, 2017).

## **1.5 Diagnóstico**

Os exames para o diagnóstico da LV devem ser bastante sensíveis e específicos, pois é uma doença grave e os medicamentos que atualmente são utilizados para o tratamento possuem efeitos colaterais, como hepatotoxicidade e nefrotoxicidade (CHAPPUIS et al., 2007; MURRAY et al., 2005; ROCHA et al., 2015a).



Além de exames clínicos e laboratoriais, os dados epidemiológicos também devem ser levados em consideração para o fechamento do diagnóstico da LV, pois se trata de uma doença com muitos sinais e sintomas que normalmente também podem ser encontrados em outras doenças. Dessa forma, é imprescindível que o diagnóstico seja realizado através de exames laboratoriais tanto parasitológicos como os exames imunológicos (RIGO; RIGO; HONER, 2009 apud OLIVEIRA, 2014).

O diagnóstico parasitológico é confirmado através da presença da *Leishmania* no aspirado medula óssea, que atualmente é o teste padrão ouro para o diagnóstico da LV, mas também podem ser feitos os aspirados do baço, fígado e até linfonodos. Esse procedimento possui especificidade de 100%, mas a sua sensibilidade pode variar bastante, visto que a distribuição dos parasitas é heterogenia nos órgãos e eles podem não serem detectados em alguns exames (SUNDAR; RAI, 2002). Além disso, o aspirado é demorado para ser realizado e necessita de qualificação e experiência dos profissionais, tanto para a coleta do material, como para a preparação das lâminas e a leitura dos resultados (REITHINGER; DUJARDIN, 2007).

Os testes sorológicos têm sido amplamente utilizados para o diagnóstico da LV, pois eles evitam em determinadas situações o uso dos métodos parasitológicos que são muito mais invasivos. Além disso, esses testes sorológicos possuem boa sensibilidade devido à hipergamaglobulinemia e grande produção de anticorpos que é comum nos pacientes (GONTIJO, 2004).

Dentre os testes sorológicos, têm-se o teste de aglutinação direta que é um exame semi-quantitativo realizado através de microplacas contendo 96 poços que avaliam as reações de aglutinação entre os anticorpos que já se encontram presentes no sangue dos pacientes e os antígenos que são os parasitas mortos na placa (CHAPPUIS et al., 2007).

Outro teste sorológico amplamente utilizado na prática clínica é o do antígeno recombinante K-39, que se trata de um teste rápido, imunocromatográfico, facilmente executável pelos profissionais e que leva cerca de 20 minutos para ser realizado. Ele apresenta alta sensibilidade e especificidade (CHAPPUIS et al., 2007).

## **1.6 Tratamento**

No Brasil, desde a década de 30, o tratamento das leishmanioses vem sendo realizado com os antimoniais pentavalentes, principalmente o antimoniato de N-metil glucamina, conhecido também por Glucantime®, que são os medicamentos de primeira

escolha para o tratamento da doença. Esses medicamentos agem nas formas amastigotas, levando a uma inibição da atividade glicolítica e da via oxidativa de ácidos graxos. Alguns estudos demonstraram que esses medicamentos são rapidamente depurados através da via renal (BRASIL, 2006; GONTIJO, 2004).

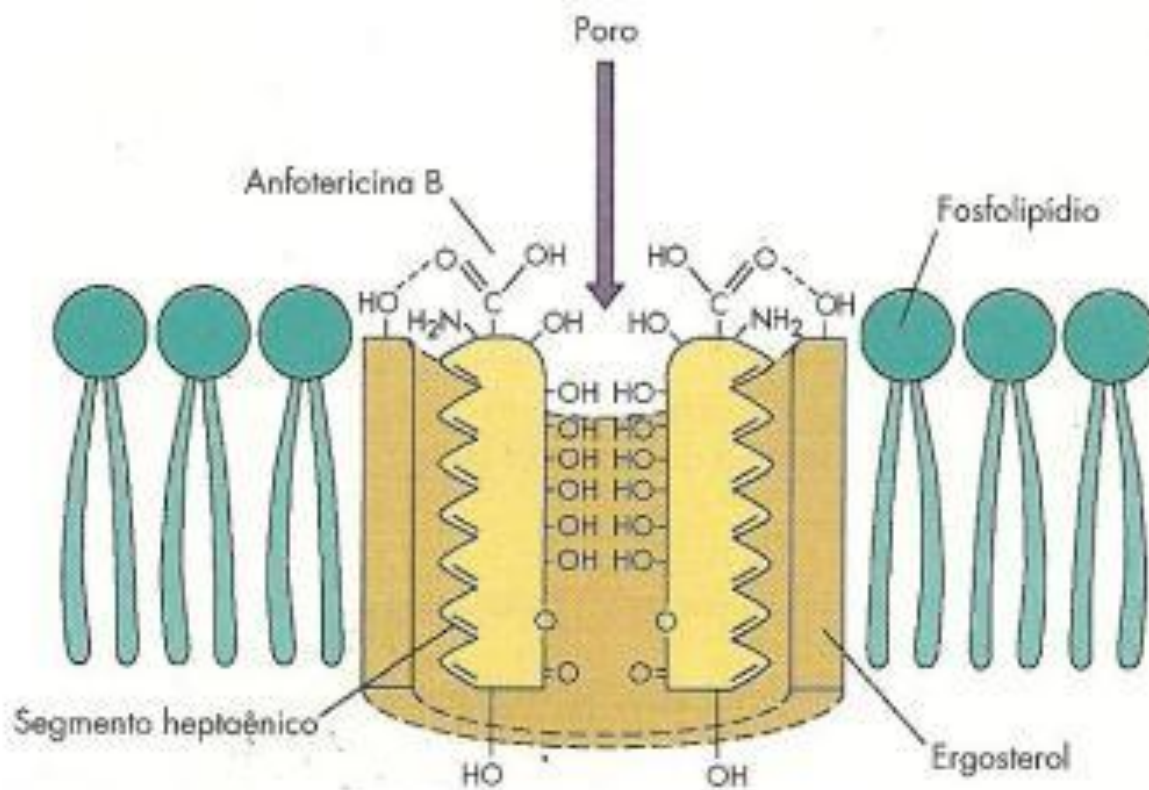
Os antimoniais são tóxicos e nem sempre são efetivos. Estes são utilizados em esquemas prolongados e possuem diversos efeitos colaterais, onde os principais são dores nas articulações, dores musculares, falta de apetite, náuseas, vômitos, dor na região epigástrica, azia, dor abdominal, prurido, febre, fraqueza, dor de cabeça, tontura, palpitações cardíacas, choque pirogênico, edema e alguns tipos de disfunção renal aguda. Em alguns casos devido aos efeitos colaterais é preciso interromper o tratamento. Além disso, doses excessivas podem desencadear tanto toxicidade cardíaca como disfunção renal (OLIVEIRA, 2014).

Os antimoniais pentavalentes podem ser administrados no ambulatório, o que leva a uma diminuição das complicações tardias relacionadas com a internação hospitalar, como infecções secundárias. Contudo, mesmo no ambulatório os antimoniais devem ser administrados com bastante cuidado em determinados pacientes, como os cardiopatas, nefropatas e hepatopatas. Além disso, a monitorização dos pacientes deve ser rigorosa com realização de eletrocardiograma durante todo o tratamento, e com a realização de exames de sangue semanais para o acompanhamento das enzimas hepáticas e da função renal dos pacientes (BRASIL, 2011; apud OLIVEIRA, 2014).

Outro medicamento muito utilizado no tratamento da LV é a anfotericina B (Anf-B), que possui propriedades antiparasitárias e antifúngicas. É um macrolídeo polieno onde seu principal alvo é um precursor da vitamina D que se encontra presente na membrana celular dos fungos e dos protozoários chamado de ergosterol. Após a ligação do fármaco com o ergosterol são formados poros na membrana que acarretam no escape de cátions importantes para a manutenção da vida dos parasitas com consequente morte destes (Figura 8) (ROCHA et al., 2015a; TAKAHISATYANO et al., 2009).

A Anf-B e suas diferentes formulações vêm substituindo os antimoniais pentavalentes em vários países por serem altamente eficazes, atuando nas diferentes formas evolutivas do parasita (tanto nas amastigotas, quanto nas promastigostas), e também, devido ao aumento no número de falhas terapêuticas e resistência com os antimoniais pentavalentes (CHAPPUIS et al., 2007; SUNDAR, 2000; PONTE-SUCRE et al. 2013; MENESES, 2017).

**Figura 8.** Mecanismo de ação da Anfotericina B



Fonte: MURRAY et al. 2004.

A Anf-B possui forte ação leishmanicida, mas está correlacionada com um alto acometimento renal, além de outros efeitos secundários bem descritos na literatura (CHAPPUIS, 2007). Diferentes estudos em humanos e animais mostram que a Anf-B convencional está correlacionada com alguns problemas renais dose-dependente, tais como lesão renal aguda (LRA), acidose tubular renal, diabetes insípido nefrogênico, além do aumento da perda de potássio urinário. Contudo, alguns efeitos podem ser revertidos com a finalização do tratamento (GOLDMAN, 2004; OLLIARO, 2005; SUNDAR, 2006)

A grande nefrotoxicidade que está associada a Anf-B, apesar de sua alta eficiência, é um dos fatores limitantes para o seu uso (BAGINSKI et al., 2005). Diversos estudos apontam mecanismos de danos nos rins causados a nível tubular, que estão associados à diminuição do fluxo sanguíneo nos rins com consequente isquemia renal, acarretando em lesão à células tubulares e defeitos na excreção de ácidos, levando a uma acidose tubular renal (HEIDEMANN et al., 1983; SABRA; BRANCH, 1991; SAWAYA; BRIGGS;

SCHNERMANN, 1995; SAWAYA et al., 1991; STEINMETZ; LAWSON, 1970; TAKAHISATYANO et al., 2009). A junção desses mecanismos acima descritos levam a insultos isquêmicos ou até toxicidade direta do fármaco nas células, ocasionando assim a Lesão Renal Aguda (LRA) associada ao uso de Anfotericina B (LRA-AnB).

Uma alta taxa de nefrotoxicidade (com variação de 30 a 80%) impulsionou o desenvolvimento de novas formulações de Anfotericina em três bases lipídicas diferentes: complexo lipídico, dispersão coloidal e a forma lipossomal, que é a mais utilizada (MISTRO et al., 2012). Entretanto, apesar de menores taxas de nefrotoxicidade com as novas formas lipídicas utilizadas no tratamento da leishmaniose, a LRA-AnB ainda pode acometer 20% dos pacientes que fazem o uso da Anf-B lipossomal, que é a formulação com menor nefrotoxicidade de todas (LEENDERS et al., 1998; ROCHA et al., 2015a).

A Anf-B lipossomal é formada por lipossomas com diâmetro aproximado de 70 nm que englobam o fármaco. Esses lipossomas possuem uma menor afinidade ao tecido renal, apresentando dessa forma, melhores índices terapêuticos e menores taxas de nefrotoxicidade (CLINIC et al., 1999; FALCI; PASQUALOTTO, 2015). No Brasil, ela é utilizada como tratamento de primeira escolha para pacientes que são diagnosticados com leishmaniose visceral grave, incluindo aqueles pacientes co-infectados com HIV, e em casos onde há contraindicação ou falha terapêutica com o uso de antimoniais pentavalentes. A dose recomendada é de 1,0 a 1,5 mg/Kg/dia durante 21 dias, ou 3,0 mg/Kg/dia durante 7 dias. (BRASIL, 2014; SUNDAR et al., 2008; AIT-LOUDHIA et al., 2011).

## **1.7 Envolvimento renal**

O comprometimento dos rins bem descrito na LV tem sido estudado por causa de complicações e aumento da morbimortalidade nesses pacientes, visto que cerca de quase metade dos pacientes chegam a desenvolver a lesão renal aguda (LRA) durante a hospitalização e a mortalidade é bem maior nesse grupo de pessoas (CLEMENTI et al., 2011; DA SILVA JUNIOR, 2014; OLIVEIRA, 2010).

A LV e outras doenças infecto-parasitárias podem causar danos renais por diferentes maneiras. É descrito em outros estudos que o envolvimento renal ocorre devido ao infiltrado de inflamatório, causado pela presença dos parasitas nos tecidos, podendo levar a danos na membrana basal glomerular. Na maioria dos casos os sintomas desaparecem após tratamento, mas esse processo pode evoluir também para a fibrose de um modo mais raro

(DUARTE; SILVA; GOTO, 1983; DUTRA; MARTINELLIM; CARVALHO, 1985; apud OLIVEIRA, 2014).

O acometimento renal ocorre principalmente através da deposição de imunocomplexos nos rins. A nefrite intersticial e também as glomerulonefrites proliferativas ocasionadas por esta deposição já foram descritas também em outras doenças parasitárias como a malária e a esquistossomose (SALGADO-FILHO; FERREIRA; COSTA, 2003). O comprometimento intersticial é apresentado principalmente por meio de alterações tubulares características como déficit de acidificação urinária e redução da capacidade de concentração urinária (LIMA VERDE, 2009; MENESES, 2017).

De acordo com vários os achados clínicos que estão correlacionados a alterações renais em pacientes com LV descritos na literatura já foram relatados, proteinúria, hematúria, leucocitúria, microalbuminúria, alterações hidroeletrolíticas e problemas na concentração e acidificação urinária (CLEMENTE, 2011; LIMA VERDE et al., 2009; DAHER et al., 2008, 2011, 2017; FILHO, 2003; OLIVEIRA et al., 2010, 2014; MENESES, 2017).

A microalbuminúria é comum e pode estar presente em até 40% dos pacientes acometidos com calazar, demonstrando que possivelmente há algum distúrbio a nível glomerular (CLEMENTI et al., 2011; ELNOJOMI et al., 2010; MENESES, 2017).

Foi relatado em um estudo anterior realizado por Daher et al (2008) a alteração da função glomerular em pacientes utilizando parâmetros renais clássicos como a creatinina sérica e a taxa de filtração glomerular, onde de um total de 57 pacientes com diagnóstico confirmado de calazar, 26,3% chegaram a desenvolver LRA, sendo oito casos, antes do tratamento com anfotericina B.

Em outro estudo realizado por Oliveita et al (2010) com 227 pacientes foi observado que 33,9% dos casos desenvolveram lesão renal aguda, e os principais fatores de risco para o desenvolvimento da LRA foram idade superior a 45 anos, icterícia e o uso de Anf-B (OLIVEIRA, 2014), e em outra pesquisa contendo 55 pacientes diagnosticados com LV foi observada uma diminuição na taxa de filtração glomerular estimada em 28% dos pacientes (LIMA VERDE et al., 2007).

## 1.8 O uso de novos biomarcadores renais urinários

A lesão renal aguda (LRA) é responsável por 1% de todas as internações hospitalares e se encontra nos pacientes mais graves, ajudando a levar eles a um pior prognóstico. Apesar de muitos avanços ao longo dos anos nos cuidados intensivos e da nefrologia, a taxa de mortalidade de pacientes hospitalizados com LRA esteve relativamente constante em torno de 50% nas últimas décadas (ENDRE, PICKERING e WALKER, 2011; SIROTA, KLAWITTER e EDELSTEIN, 2011).

A LRA pode ser detectada por meio de marcadores convencionais de função renal, tais como uréia e creatinina sérica (KAUCSAR, 2016). Entretanto, o uso desses marcadores clínicos tradicionais utilizados para avaliação da função renal como, por exemplo, a creatinina sérica, possuem muitas limitações, pois sofrem influências extrarrenais que acabam interferindo em suas concentrações, como a idade, sexo, massa muscular, etnia, dieta (principalmente com uma grande ingestão de proteína), e o estado nutricional (PARIKH; MANSOUR, 2017; VAIDYA; FERGUSON; BONVENTRE, 2008). Além disso, o aumento da creatinina sérica não mostra de forma exata o local onde está ocorrendo a lesão renal, que pode ser de três formas: pré-renal, renal intrínseca e pós-renal. Além disso, a elevação da creatinina sérica é tardia, só ocorrendo quando 50% da função renal já se encontra completamente comprometida (SIROTA, KLAWITTER e EDELSTEIN, 2011).

Os estudos com novos biomarcadores mostram informações importantes a respeito do local da lesão renal, influenciando assim na criação de novas estratégias para um melhor manejo terapêutico e ajudando a descoberta de mecanismos fisiopatológicos. Alguns tipos de biomarcadores que são estudados: proteínas, lipídeos, padrões genômicos, determinações de imagem, sinais elétricos e células presentes na urina (SABBISSETTI; BONVENTRE, 2012 apud MENESES 2013).

Os biomarcadores vêm sendo cada vez mais estudados em diferentes doenças e em diferentes grupos de pacientes. Alguns já demonstraram uma maior especificidade e sensibilidade em relação aos marcadores renais atualmente utilizados na prática clínica, além disso, os novos biomarcadores vem sendo promissores para a elucidação dos mecanismos de LRA (KASHANI; CHEUNG PASITPORN RONCO, 2017).

Os novos biomarcadores podem ser avaliados em amostras de sangue e em amostras de urina. A detecção desses biomarcadores em amostras de sangue é muito importante, pois são amostras de fácil coleta e podem ser utilizados em estudos com pacientes no cuidado intensivo, onde a urina é mais difícil de ser coletada. A avaliação de amostras

urinárias também é imprescindível, visto que a coleta da urina é um exame não invasivo, que traz muitas informações da função renal e é de baixo custo (GONZALES; PISITKUN; KNEPPER, 2008; MÅRTENSSON; MARTLING; BELL, 2012 apud MENESES, 2017).

A busca por novos biomarcadores que sejam capazes de detectar de forma precoce a lesão renal, antes do estabelecimento da mesma, tem sido muito importante (MCCULLOUGH et al., 2013). Esses biomarcadores vêm sendo estudados e classificados de acordo com a sua correlação com os tipos de lesão que podem ocorrer, como marcadores de lesão glomerular e lesão tubular, ou ainda podem ser correlacionados de acordo com o mecanismo de dano renal, que pode ser estresse oxidativo, inflamação e fibrose renal (SABBISSETTI; BONVENTRE, 2012; TESCH, 2010 apud MENESES 2013).

Molécula de injúria renal (KIM-1), Fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) e a Proteína quimiotática de monócitos (MCP-1) são exemplos de novos biomarcadores urinários que vem sendo estudados em doenças renais (BAGSHAW; BELLOMO, 2007; DEVARAJAN, 2010; KIM; TAM, 2011; HOEBEN et al, 2004; MCCULLOUGH et al., 2013; SABBISSETTI; BONVENTRE, 2012; TESCH, 2010; VAIDYA; FERGUSON; BONVENTRE, 2008).

### 1.8.1 Proteína quimiotática de monócitos 1 (MCP-1)

As citocinas quimiotáticas são proteínas formadas por cerca de 60 a 100 aminoácidos. Estas, são subdivididas em quatro famílias de acordo com o número e espaçamento dos resíduos de cisteína da porção N-terminal (C, CC, CXC e CX3C). A proteína quimiotática de monócitos 1 possui especificamente 76 aminoácidos e faz parte do grupo da subfamília CC, tendo sido a primeira delas a ser descoberta e é a que é melhor caracterizada (CONDUCTIER et al., 2010; KIM, TAM, 2011).

A MCP-1 se encontra onde está acontecendo um processo inflamatório ou um dano tecidual, o que leva a um recrutamento de macrófagos e adesão destes ao receptor CCR2 de quimiocinas (GRANDALIANO et al, 1996; HODGKINS; SCHNAPER, 2012 apud OLIVEIRA, 2014).

Ela pode ser produzida por diversos tipos de células, incluindo as células epiteliais tubulares, as células endoteliais, as células mesangiais além de podócitos (KIM; TAM, 2011; HALLER et al., 2016). A produção de MCP-1 por meio dessas células ocorre devido a

estímulos, cujos principais são a IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ , IL-4 e TNF- $\beta$ , além de produtos exógenos, LPS, vírus e imunocomplexos (HORA et al., 1992; KIM; TAM, 2011 apud MENESES, 2017).

A MCP-1 vem sendo estudada em doenças crônicas, e já foi descrito que a presença de infiltrado inflamatório que acontece com a progressão da doença renal crônica, acarreta em um aumento da expressão tubular de MCP-1 devido à lesão túbulo-intersticial (GRANDALIANO et al, 1996; HODGKINS; SCHNAPER, 2012). Outro estudo mostrou também associação entre albuminúria, MCP-1 urinário e presença de macrófagos em grande número no interstício renal com a evolução da doença renal crônica (EARDLEY et al, 2006 apud OLIVEIRA, 2014).

Outros estudos mostram uma relação dos níveis de MCP-1 urinário com o desenvolvimento de alterações histológicas nos rins correlacionadas com alterações inflamatórias renais na nefrite lúpica e nefropatia diabética (SHOUKRY; BDEER; EL-SOKKARY, 2015 apud MENESES, 2017). Também já foi correlacionada a elevação de MCP-1 urinário em casos de doença renal aguda, como em glomerulonefrites proliferativas (HODGKINS; SCHNAPER, 2012).

Em estudo prévio contendo pacientes com esquistossomose estes apresentaram altos níveis de MCP-1 urinários, e esses níveis de MCP-1 se mantiveram após o tratamento (HANEMANN et al, 2013; apud OLIVEIRA, 2014). Esses resultados encontrados nesses estudos mostram MCP-1 urinário como um marcador promissor e sensível para disfunção renal em pacientes com esquistossomose, podendo, dessa forma, apresentar bons resultados em outras parasitoses, como na leishmaniose visceral antes do tratamento, conforme foi descrito por Oliveira (2014) e Meneses (2017).

### 1.8.2 Fator de crescimento vascular endotelial (VEGF)

A família VEGF é formada por 7 glicoproteínas diméricas, conhecidas como VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F e fator de crescimento placentário (PIGF) (HOEBEN et al., 2004; GONÇALVES, 2006).

VEGF-A se trata de uma glicoproteína que possui 45 kDa e está envolvida em atividades angiogênicas tanto fisiológicas como patológicas. Foi a primeira delas a ser



identificada como um fator indutor de permeabilidade vascular secretado por células tumorais, conhecido como fator de permeabilidade vascular (VPF) (HOEBEN et al., 2004, HICKLIN; ELLIS, 2005; GONÇALVES 2006).

No rim humano, a expressão de VEGF tem sido demonstrada por células epiteliais glomerulares (podócitos) (KRETZLER, 1998; SHULMAN, 1996) e por células tubulares (SIMON, 1995), os seus receptores estão no endotélio dos glomérulos e nos capilares peritubulares (SIMON, 1998; THOMAS 2000).

A presença da hipóxia é um dos principais estímulos para o aumento da expressão do VEGF. Essa expressão também pode ser regulada e influenciada por uma grande variedade de hormônios, fatores de crescimento, citocinas, como fator de crescimento epidérmico, fator de crescimento transformador (TGF), fator de crescimento da placenta (PlGF), fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I), angiotensina II, IL-1 e IL-6. O VEGF acarreta na proliferação de células endoteliais, aumenta a permeabilidade vascular e medeia a vasodilatação do endotélio via aumento da produção de óxido nítrico (NO) pela sintetase NO endotelial (eNOS) (HOOD, 1998). Além disso, VEGF induz a proteína quimioatática de monócitos 1 (MCP-1) (MARUMO, 1999) que consequentemente promove a quimiotaxia de monócitos e expressão de moléculas de adesão (NEUFELD, 1999).

Em um estudo realizado sobre nefrite lúpica percebeu-se que a lesão glomerular poderia estar associada à expressão do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), sendo este produzido por células T ativadas e macrófagos durante a resposta inflamatória, após a indução de TGF-  $\beta$ 1. Dessa forma, os níveis séricos de VEGF-A estavam aumentados em pacientes com nefrite lúpica ativa (EDELBAUER, 2012).

### 1.8.3 Molécula de injúria renal (KIM-1)

A Molécula de injúria renal (KIM-1) é bem estudada e tem sido descrita como um biomarcador precoce de lesão renal. Trata-se de uma proteína transmembranar tubular que possui 104 kDa em sua forma completa e que é formada por duas porções, um porção citoplasmática e outra porção extracelular, que apresenta uma imunoglobulina e domínio de mucina, com um receptor de fosfatidilserina que medeia a fagocitose de corpos apoptóticos,

indicando que o KIM-1 possui a função de sinalização (BONVENTRE, 2008, 2014; ICHIMURA; MOU, 2008).

A parte extracelular do KIM-1 possui cerca de 90 kDa e é quebrada através de metaloproteinases, sendo esta a parte que é liberada a nível tubular para ser excretada na urina e que pode ser quantificada nos testes (SABBISSETTI; BONVENTRE, 2012).

O KIM-1 é indetectável em rins saudáveis, mas é fortemente induzido na LRA, como marcador de lesão de túbulo contorcido proximal. Nesta porção do rim, as células epiteliais indiferenciadas expressam KIM-1 durante os insultos isquêmicos, tornando essa molécula um biomarcador promissor, visto que é específico para injúrias no túbulo proximal, pois nenhum outro órgão apresenta expressão de KIM-1 capaz de alterar suas concentrações urinárias (BONVENTRE, 2014; CHATURVEDI; FARMER; KAPKE, 2009; WASUNG; CHAWLA; MADERO, 2015).

Os primeiros achados que demonstraram uma correlação de KIM-1 urinário com a LRA em humanos avaliaram biópsias humanas renais com a presença de necrose tubular aguda devido à isquemia com consequente aumento de KIM-1 nessas amostras, além de aumento de KIM-1 urinário no grupo com isquemia e necrose tubular aguda e no grupo com a nefropatia induzida por contraste (HAN et al., 2002 apud MENESES 2017). Além disso, em outros estudos, o KIM-1 urinário se correlacionou com algumas variáveis clínicas de disfunção renal, além de tempo de hospitalização, diálise e morte (CARVALHO PEDROSA et al., 2015; KARAKUŞ et al., 2015; KASHANI; CHEUNG PASITPORN; RONCO, 2017; XU et al., 2011; ZHANG et al., 2008 apud MENESES, 2017).

## **1.9 Justificativa**

A lesão renal aguda (LRA) continua sendo um problema de saúde pública comum, e que apresenta muita incidência no ambiente hospitalar, mesmo com todos os avanços significativos da nefrologia, a taxa de mortalidade de pacientes hospitalizados com LRA permaneceu em torno de 50% nas últimas décadas (ENDRE, PICKERING e WALKER, 2011; SIROTA, KLAWITTER e EDELSTEIN, 2011).

Portanto, é importante novos estudos com diferentes biomarcadores que podem ajudar como base na utilização de novas ferramentas para monitorar a nefrotoxicidade

induzida por diversas doenças, inclusive a induzida pela Anf-B lipossomal. Nesse contexto, o diagnóstico precoce da lesão renal no início do tratamento ou até mesmo antes do começo do tratamento auxilia ao médico tomar decisões que possam evitar qualquer tipo de dano renal adicional que levaria a progressão para LRA-AnB, contribuindo para um uso controlado da terapêutica e assim, diminuição dos índices de LRA, tempo de internação hospitalar e mortalidade nesses pacientes.

# Objetivos

## **2. OBJETIVOS:**

### **2.1 GERAL:**

Avaliar novos biomarcadores no diagnóstico precoce de lesão renal aguda em pacientes com leishmaniose visceral em uso de anfotericina B lipossomal.

### **2.2 ESPECÍFICOS:**

2.2.1 Quantificar os níveis de KIM-1, VEGF e MCP-1 urinários nos pacientes com LV antes e durante o tratamento com Anf-B lipossomal.

2.2.2 Quantificar os níveis de biomarcadores inflamatórios IL-6, IFN- $\gamma$  nos pacientes com LV antes e durante o tratamento com Anf-B lipossomal.

2.2.3 Comparar os níveis dos novos biomarcadores renais urinários e os níveis de biomarcadores inflamatórios nos pacientes com LV antes e durante o tratamento com Anf-B lipossomal.

2.2.4 Correlacionar os novos biomarcadores urinários com os marcadores tradicionais utilizados na prática clínica.

# Metodologia

### **3. METODOLOGIA**

#### **3.1. Tipo de Estudo**

Trata-se de um estudo prospectivo, longitudinal com pacientes diagnosticados com Leishmaniose visceral grave atendidos em ambiente hospitalar para tratamento com anfotericina b lipossomal.

#### **3.2. Caracterização do local e da população de estudo**

Foram incluídos no estudo 41 pacientes com diagnóstico clínico e laboratorial de Leishmaniose visceral que se internaram no Hospital São José, Fortaleza, Ceará, Brasil, no período de abril de 2015 a janeiro de 2018.

#### **3.3. Critérios de Inclusão e Exclusão**

##### **Foram incluídos:**

- Pacientes de ambos os sexos;
- Com diagnóstico confirmado de LV atendidos no local de estudo;
- Pacientes com idade igual ou superior a 18 anos e até 75 anos;
- Pacientes que utilizaram Anf-B lipossomal para o tratamento;
- Pacientes que assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido após esclarecimento adequado em relação aos procedimentos e a pesquisa.

##### **Foram excluídos:**

- Pacientes com LRA já estabelecida;
- Pacientes com nefrolitíase, doença renal crônica prévia, lúpus eritematoso sistêmico e infecção do trato urinário;
- Pacientes em uso de medicamentos nefrotóxicos;
- Gestantes;
- Tempo de internação menor que 48 horas

- Pacientes que mudaram a linha de tratamento durante a internação.

### **3.4 Diagnóstico da leishmaniose visceral**

O diagnóstico de Leishmaniose visceral foi feito clinicamente pelo médico responsável do setor e pela pesquisa do parasita no aspirado de medula óssea ou através de testes sorológicos utilizando o antígeno recombinante k-39.

### **3.5 Coleta do material biológico**

Após o diagnóstico, amostras de sangue e urina dos pacientes foram coletadas em dois períodos, antes do tratamento com Anf-B lipossomal (admissão hospitalar) e entre o intervalo de 72 a 168 horas após o início tratamento com Anf-B lipossomal (durante o tratamento). Os pacientes foram acompanhados durante o período de internação para avaliação da função renal durante o tratamento.

Foram coletados 5 mL de sangue, por punção venosa, utilizando tubos BD Vacutainer® com ativador de coágulo, que acelera o processo de coagulação, e gel separador para a obtenção de soro, além de tubos com EDTA para hemograma. Após 10 minutos da coleta, o sangue coletado em tubos com gel separador foi centrifugado a 3500 rpm por 5 minutos para obtenção do soro. Essas amostras foram identificadas, aliqüotadas e congeladas a -80°C para análises bioquímicas e quantificação dos biomarcadores inflamatórios. As amostras de urina foram coletadas em frasco coletor estéril pelo próprio paciente e centrifugada a 1000g por 15 minutos. O sobrenadante urinário foi identificado e aliqüotado para quantificação dos parâmetros urinários clássicos, como creatinina urinária, albuminúria, dosagem de eletrólitos, proteinúria e dos novos biomarcadores renais urinários. Depois, as aliqüotas foram congeladas a -80°C para as futuras análises.

### **3.6 Análises laboratoriais**

Para avaliação de dados laboratoriais, foram utilizados exames como hemograma completo a fim de verificar a hemoglobina, os leucócitos e as plaquetas. Esses resultados hematológicos foram fornecidos pelo Laboratório do Hospital São José.

As dosagens bioquímicas, como creatinina (mg/dL), ureia (mg/dL), globulinas (g/dL), albumina (g/dL), aspartato aminotransferase-AST (U/L), e alanina aminotransferase-



ALT (U/L) e relação albumina/globulina foram feitas em analisador automático de bioquímica (Cobas C111, Roche ®).

O sódio e potássio séricos e urinários foram dosados por um analisador de eletrodo íon seletivo (9180, Analisador de eletrólitos, Roche ®).

### 3.7 Análise da função renal

A taxa de filtração glomerular (TFG) foi estimada pela fórmula CKD-EPI “Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration” (LEVEY et al., 2009), que se baseia na dosagem de creatinina sérica (Cr), antes e durante o tratamento com Anf-B lipossomal:

- Para mulheres com creatinina <0,7mg/dL (62mmol):

$$TFG = 144 \times (Cr/0,7)^{-0.329} \times (0,993)^{idade}.$$

- Para mulheres com creatinina >0,7mg/dL (62mmol):

$$TFG = 144 \times (Cr/0,7)^{-1.209} \times (0,993)^{idade}.$$

- Para homens com creatinina <0,9mg/dL (80mmol):

$$TFG = 141 \times (Cr/0,9)^{-0.411} \times (0,993)^{idade}.$$

- Para homens com creatinina >0,9mg/dL (80mmol):

$$TFG = 141 \times (Cr/0,9)^{-1.209} \times (0,993)^{idade}.$$

Para a análise da função tubular foram calculadas as frações de excreção de sódio e potássio antes e durante o tratamento com Anf-B lipossomal, onde se utilizam os valores quantificados dos eletrólitos no soro e na urina através do analisador eletrodo íon seletivo (9180, Analisador de eletrólitos, Roche ®)

- $FENa+ = (U_{Na+} * P_{Na+}) / (Ucr * Pcr) \times 100$

- $FEK+ = (U_{K+} * P_{K+}) / (Ucr * Pcr) \times 100$

Onde temos:

- $U_{Na+}$  e  $U_{K+}$  Concentração urinária de sódio e potássio (mEq/L);
- $P_{Na+}$  e  $P_{K+}$  Concentração plasmática de sódio e potássio (mEq/L);
- $Ucr$  e  $Pcr$  Concentração urinária e plasmática de creatinina (mg/dL).

Para avaliação da função glomerular, além da TFG estimada foram dosadas a proteinúria e albuminúria dos pacientes antes de iniciarem o tratamento e durante o tratamento com a Anf-B lipossomal. A proteinúria dos pacientes foi dosada pelo método colorimétrico, através da reação com o vermelho de pirogalol. Essa análise foi realizada utilizando o kit de proteinúria Labtest® (MENESES, 2017).

A determinação da albuminúria dos pacientes foi feita através de ensaio de imunoturbidimetria, onde ocorre uma reação de anticorpos anti-albumina com a albumina que se encontra presente na amostra de urina e a partir disso são formados complexos aglutinados albumina/anti-albumina. Estes complexos são quantificados por meio da turbidimetria, que é um método de espectrofotometria capaz de medir a diminuição de luz em um meio causado pela turbidez de uma amostra (complexos formados). Essa análise foi feita utilizando o Cobas C111, Roche ® (MENESES, 2017).

A creatinina urinária foi dosada no Cobas C111, Roche ®. Todos esses marcadores urinários utilizados atualmente na prática clínica, como os novos biomarcadores renais urinários avaliados, foram corrigidos pelo valor da creatinina urinária, eliminando o viés da diferença de concentração urinária entre as amostras dos pacientes (WAIKAR; SABBISSETTI; BONVENTRE, 2010). Além disso, a proteinúria e a albuminúria foram expressas em “mg/g-Creatinina”

### **3.8 Quantificação dos novos biomarcadores renais urinários e de biomarcadores inflamatórios**

Os novos biomarcadores renais urinários (VEGF, KIM-1, MCP-1) e biomarcadores inflamatórios séricos (IFN- $\gamma$  e IL-6) foram dosados utilizando a técnica de ELISA, que se trata de um ensaio imunoenzimático de alta sensibilidade e especificidade. Os kits utilizados de ELISA para os experimentos eram da marca R&D Systems ® (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA).

Os ensaios de ELISA realizados eram do tipo sanduíche e foram feitos conforme as recomendações do fabricante. Para as amostras de urina, as concentrações dos biomarcadores urinários foram corrigidas usando os níveis de creatinina urinária (WAIKAR; SABBISSETTI; BONVENTRE, 2010).

### **3.9 Análise Estatística**

Os dados obtidos dos pacientes foram digitados em planilha no programa Microsoft Excel 2003. As análises estatísticas foram conduzidas no programa estatístico SPSS para Windows (IBM, USA). As variáveis contínuas foram expressas como média e desvio padrão ou como mediana e amplitude interquartil, de acordo com a distribuição dos dados. Para a avaliação da distribuição normal ou não normal foi aplicado o teste de Shapiro-Wilk. As variáveis categóricas foram expressas como contagem absoluta e frequência, demonstrada pela porcentagem dentro do grupo. Para comparar mudanças nos parâmetros estudados dos pacientes a partir da admissão e em relação ao período durante o uso de Anf-B liposomal, foi utilizado o teste de Wilcoxon ou teste t pareado, de acordo com a normalidade dos dados.

Para avaliação da correlação entre MCP-1 com marcadores tradicionais de lesão renal foi utilizado o Rho de Spearman. Todas as análises foram bicaudais, considerando  $p < 0,05$  como significativo.

### **3.10 Aspectos éticos**

O protocolo do estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa envolvendo seres humanos da Universidade Federal do Ceará (Propesq - UFC); CAAE: 61488016.8.0000.5054 (APÊNDICE 1), aprovado também pelos comitês de ética das instituições co-participantes, o Hospital Universitário Walter Cantídio da Universidade Federal do Ceará; CAAE: 61488016.8.3002.5045 (APÊNDICE 2), e o Hospital São José de Doenças Infecciosas; CAAE: 61488016.8.3001.5044 (APÊNDICE 3). Todos os pacientes foram informados sobre a pesquisa e os que aceitaram participar e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (APÊNDICE 4).

# Resultados

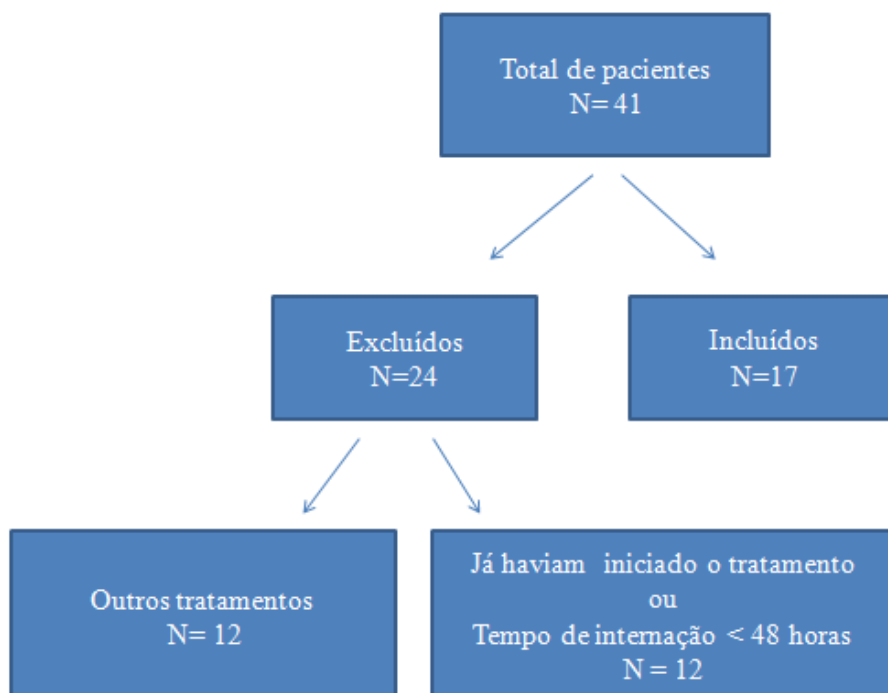
## 4. RESULTADOS

### 4.1 Características demográficas, clínicas e laboratoriais.

No período da pesquisa 41 pacientes tiveram diagnóstico de leishmaniose visceral. Foram coletadas amostras de soro e urina desses pacientes. Após critérios de exclusão foram incluídos e acompanhados um total de 17 pacientes.

Entre os pacientes excluídos (n=24), 12 (50%) foram tratados com outros medicamentos, 4 (33%) utilizaram glucantime e 8 (67%) iniciaram o tratamento com Anf-B desoxicolato e mudaram para a Anf-B lipossomal ao longo da internação. Os outros 12 pacientes (50%) excluídos já haviam iniciado o tratamento ou apresentaram tempo de internação < 48 horas, inviabilizando assim o acompanhamento (Figura 9).

**Figura 9.** Aplicação de critérios de inclusão e exclusão



Os pacientes com LV eram na grande maioria do sexo masculino (71%) e a idade média deles era de 43±16 anos. Cinco pacientes (29%) possuíam alguma comorbidade, como diabetes ou hipertensão, e dos 17 pacientes acompanhados, 1 (6%) evoluiu para o óbito (Tabela 1).

**Tabela 1.** Características gerais dos pacientes com leishmaniose visceral

	<b>Características gerais do grupo incluído</b>
	<b>N=17</b>
<b>Idade (anos)</b>	43±16
<b>Sexo</b>	
Masculino, n (%)	12 (71)
Feminino, n (%)	5 (29)
<b>Pressão arterial sistólica (mmHg)</b>	122,63 ± 20,4
<b>Pressão arterial diastólica (mmHg)</b>	72,25 ± 14,8
<b>Comorbidades</b>	
Sim, n (%)	5 (29)
Não, n (%)	12 (71)
<b>Tempo de internação em dias (mínimo e máximo)</b>	14 (6 - 33)
<b>Óbito</b>	
Sim, n (%)	1 (6)
Não, n (%)	16 (94)

Dados expressos como média ± desvio padrão, como mediana e amplitude interquartil (quartil 1 - quartil 3) entre parêntesis ou ainda como porcentagem entre parêntesis.

Os pacientes apresentaram alterações em exames laboratoriais características da doença, incluindo distúrbios hematológicos, como anemia, leucopenia e trombocitopenia, além de hipoalbuminemia, hipergamaglobulinemia e distúrbios hepáticos (Tabela 2).

Foi observado que quando comparados os exames laboratoriais desses pacientes no período da admissão hospitalar, com os exames laboratoriais durante o tratamento com Anf-B lipossomal, houve uma melhora de forma significativa apenas no número de leucócitos (2260,00 (1290–3170) vs 2665,00 (2210 – 3050) por mm<sup>3</sup>, p = 0,008) (Tabela 2).

**Tabela 2.** Exames laboratoriais dos pacientes com leishmaniose visceral

	<b>Admissão hospitalar</b>	<b>Durante o uso da Anf-B lipossomal (72 h – 162 h)</b>	<b>P</b>
<b>Hemoglobina (g/dL)</b>	8,78 ± 2,47	8,46 ± 1,52	0,264
<b>Leucócitos (por mm<sup>3</sup>)</b>	2260,00 (1290–3170)	2665,00 (2210 – 3050)	0,008*
<b>Plaquetas (10<sup>3</sup> /mm<sup>3</sup>)</b>	91,71 ± 73,53	92,7 ± 44,5	0,238
<b>K (mEq/L)</b>	3,96 ± 0,54	3,88 ± 0,52	0,864
<b>Na (mEq/L)</b>	135,2 ± 5,6	138 ± 4,0	0,417
<b>Proteínas totais (g/dL)</b>	7,04 ± 1,56	6,66 ± 0,81	0,850
<b>Albumina (g/dL)</b>	2,65 ± 0,85	2,47 ± 0,79	0,537
<b>Globulina (g/dL)</b>	4,46 ± 1,17	4,19 ± 1,06	0,564
<b>Relação A/G</b>	0,61 ± 0,23	0,65 ± 0,33	0,606
<b>AST (U/L)</b>	60 (35 – 138)	67 (36 – 167)	0,683
<b>ALT (U/L)</b>	46 (32 – 64)	46 (23 – 71)	0,202

Dados apresentados como média ± desvio padrão ou como mediana e amplitude interquartil (quartil 1 - quartil 3) entre parêntesis. AST - aspartato aminotransferase, ALT - alanina aminotransferase. Relação A/G, relação albumina/globulina. Foi utilizado o teste de Wilcoxon ou teste t pareado, de acordo com a normalidade dos dados.

#### 4.2 Níveis dos biomarcadores renais nos pacientes com LV

A comparação dos pacientes com LV no momento da admissão hospitalar e durante o uso da Anf-B lipossomal utilizando marcadores renais tradicionais não mostraram diferenças significativas (Tabela 3).

Já em relação aos novos biomarcadores renais, houve diferença significativa nos níveis de MCP-1 urinário (656,02 (413,81 – 929,55) vs 1871,92 (834,25 – 2299,33) pg/mg-Cr,  $p < 0,05$ ), nos níveis de KIM-1 urinário (1,62 (1,20 – 1,97) vs 2,51 (1,85 – 3,24) ng/mg-Cr,  $p < 0,05$ ) e nos níveis de VEGF urinário apenas nos resultados sem a correção pela creatinina urinária (33,28 (11,98 – 103,77) vs 8,62 (2,94 – 21,96) pg/mL,  $p < 0,05$ ) (Tabela 4, Figura 10 e 11).

Com relação aos biomarcadores inflamatórios, houve diferença significativa apenas nas concentrações séricas de IL-6 (55,46 ± 103,98 vs 5,94 ± 13,8, pg/mL,  $p < 0,05$ ). (Tabela 4 e Figura 12).

**Tabela 3.** Marcadores renais tradicionais em pacientes com leishmaniose visceral

	<b>Admissão hospitalar</b>	<b>Durante o uso da Anf-B lipossomal (72 h – 162 h)</b>	<b>P</b>
<b>TFG (mL/min/1,73m<sup>2</sup>)</b>	86,21 ± 31,70	89,8 ± 33,9	0,550
<b>Creatinina (mg/dL)</b>	1,00 ± 0,46	1,02 ± 0,43	0,645
<b>Uréia (mg/dL)</b>	32,24 ± 12,64	32,00 ± 10,00	0,596
<b>FE Na<sup>+</sup></b>	0,99 (0,24 -1,55)	0,4 (0 - 2,39)	0,594
<b>FE K<sup>+</sup></b>	10,22 (8,26 -18,73)	14,09 (10,97 - 16,38)	0,441
<b>Proteinúria (mg/g-Cr)</b>	555,71 (271,29 - 936,72)	444,18 (228,22 - 700,22)	0,422
<b>Albuminúria (mg/g-Cr)</b>	20,28 (13,47 - 30,52)	26,59 (14,75 - 42,78)	0,642

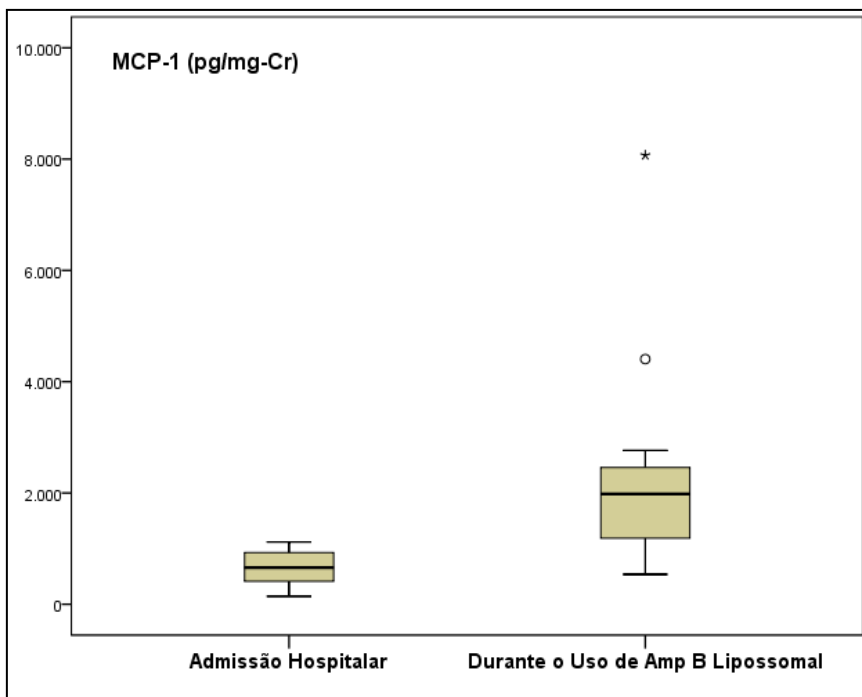
Dados apresentados como média ± desvio padrão ou como mediana e amplitude interquartil (quartil 1 - quartil 3) entre parêntesis. TFG = taxa de filtração glomerular estimado pela fórmula CKD-EPI, “g-Cr”= concentração do marcador corrigida pela creatinina urinária, FE= Fração de excreção. Foi utilizado o teste de Wilcoxon ou teste T pareado, de acordo com a normalidade dos dados.

**Tabela 4.** Biomarcadores urinários e inflamatórios em pacientes com leishmaniose visceral.

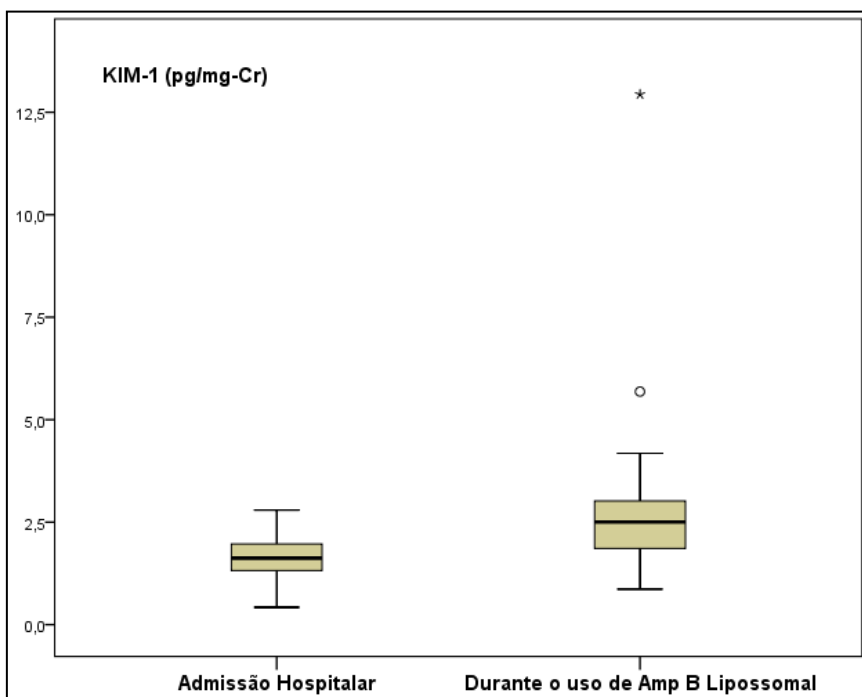
	<b>Admissão hospitalar</b>	<b>Durante o uso da Anf-B lipossomal (72 h – 162 h)</b>	<b>P</b>
<b>uMCP-1 (pg/mL)</b>	495,73 (311,96 - 697,27)	639,16 (340,32 – 912,36)	0,109
<b>uMCP-1 (pg/mg-Cr)</b>	656,02 (413,81 – 929,55)	1871,92 (834,25 – 2299,33)	0,005*
<b>uKIM-1 (ng/mL)</b>	1,18 (1,10 – 1,28)	1,09 (0,62 – 1,25)	0,189
<b>uKIM-1 (ng/mg-Cr)</b>	1,62 (1,20 – 1,97)	2,51 (1,85 – 3,24)	0,031*
<b>uVEGF (pg/mL)</b>	33,28 (11,98 – 103,77)	8,62 (2,94 – 21,96)	0,047*
<b>uVEGF (pg/mg-Cr)</b>	59,82 (11,30 – 139,62)	26,28 (12,46 – 92,59)	0,564
<b>IL-6 (pg/mL)</b>	17,37 (8,74 – 49,08)	0,21 (0,00 – 3,55)	0,028*
<b>IFN-γ (pg/mL)</b>	15,63 (12,53 – 18,46)	18,93 (15,40 – 39,76)	0,125

Dados apresentados como mediana e amplitude interquartil (quartil 1 - quartil 3) entre parêntesis. “mg-Cr” = concentração do biomarcador corrigida pela creatinina urinária, uMCP-1 = Proteína quimiotática de monócitos - 1 urinário, uKIM-1 = Molécula de injúria renal - 1 urinário, uVEGF = Fator de crescimento vascular endotelial urinário, IL-6 = interleucina 6. IFN-γ = interferon gama. Foi utilizado o teste de Wilcoxon.



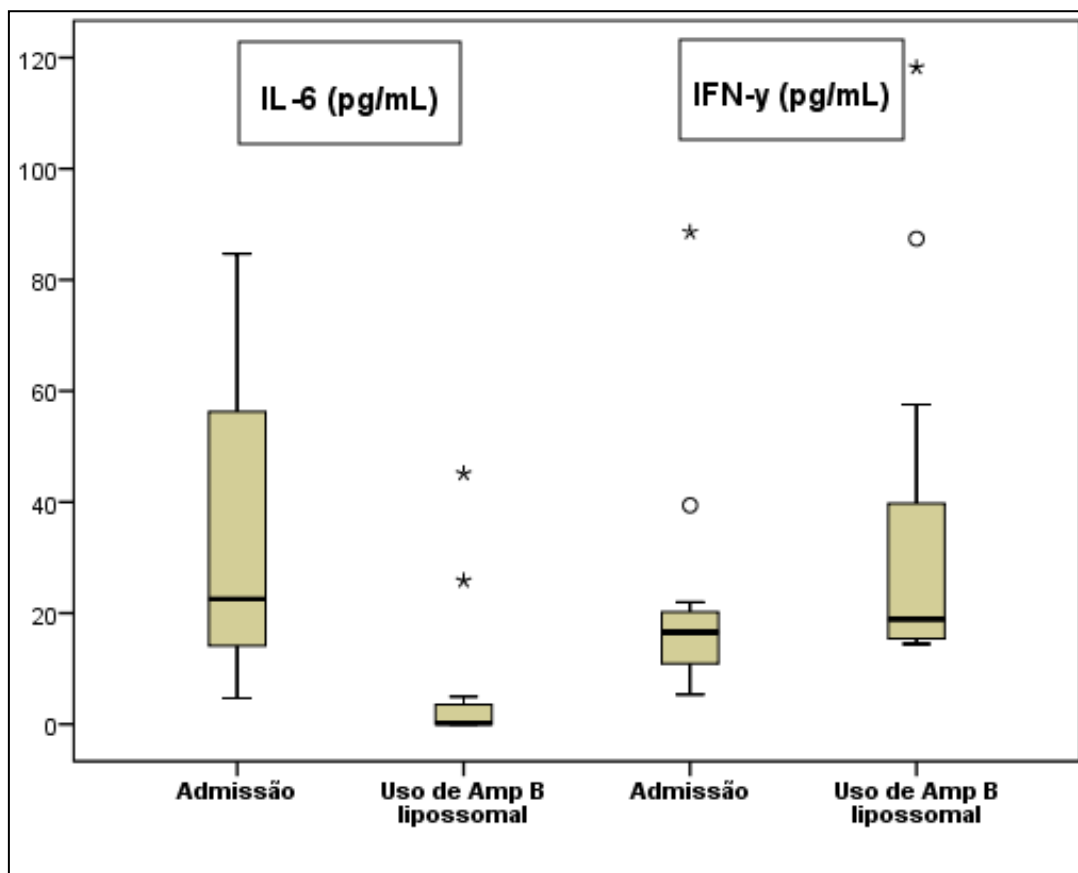
**Figura 10.** Níveis de MCP-1 urinário na admissão e durante o tratamento.

Diagramas em caixa representando os níveis de MCP-1 urinário em quartis nos pacientes com leishmaniose visceral na admissão e durante o uso de Anf-B lipossomal.  $P=0,005$  aplicando o teste de Wilcoxon entre os dois períodos.

**Figura 11.** Níveis de KIM-1 urinário na admissão e durante o tratamento.

Diagramas em caixa representando os níveis de KIM-1 urinário em quartis nos pacientes com leishmaniose visceral na admissão e durante o uso de Anf- B lipossomal.  $P=0,031$  aplicando o teste de Wilcoxon entre os dois períodos.

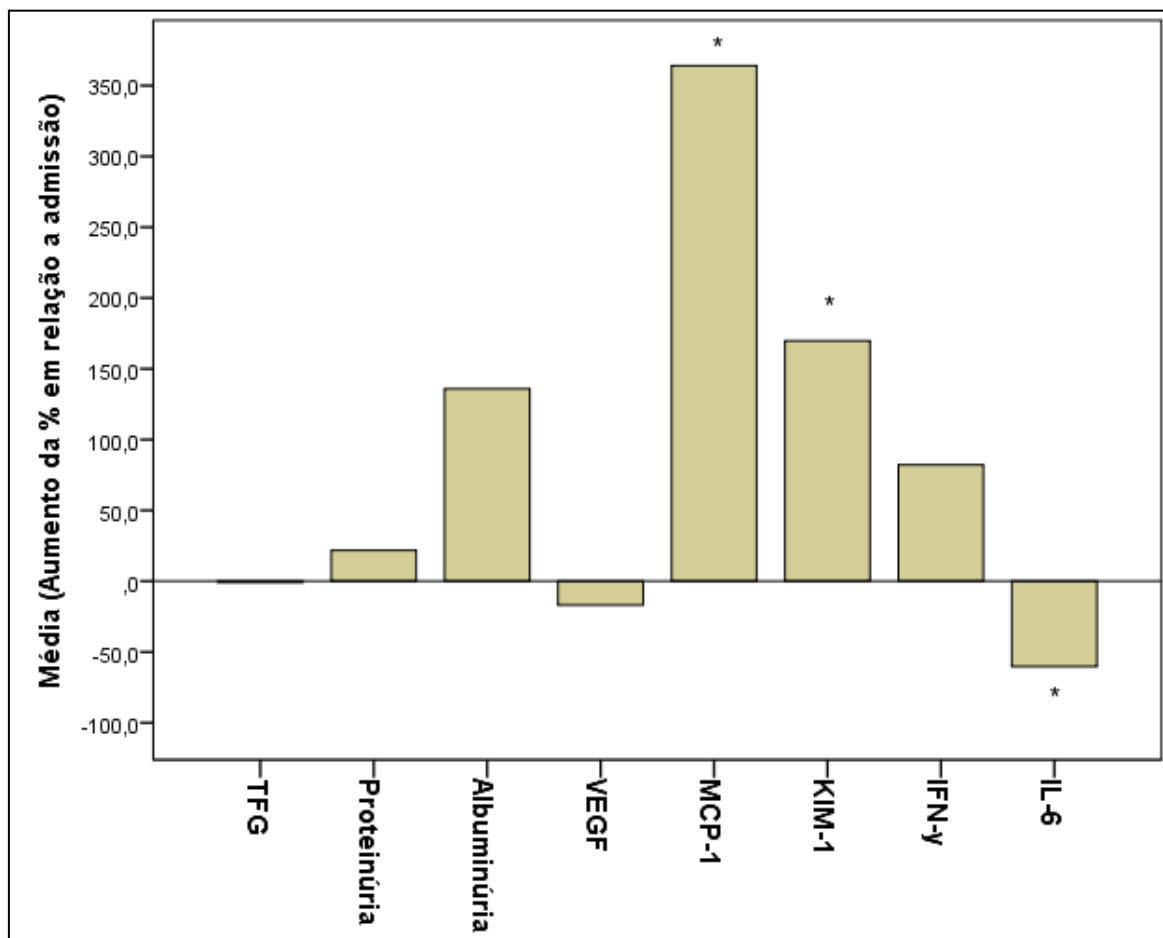
**Figura 12.** Níveis dos biomarcadores inflamatórios na admissão e durante o tratamento.



Diagramas em caixa representando os níveis dos biomarcadores inflamatórios, avaliados em quartis nos pacientes com leishmaniose visceral na admissão e durante o uso de Anf-B lipossomal.  $P=0,028$  para a IL-6 aplicando o teste de Wilcoxon entre os dois períodos.

A figura 13 mostra a alteração média dos novos biomarcadores renais, biomarcadores tradicionais e dos biomarcadores inflamatórios durante o uso da Anf-B lipossomal, em relação à média dos valores na admissão hospitalar. Foi observado o aumento da média dos níveis de MCP-1 e KIM-1 de forma significativa durante o uso do medicamento quando comparados com a média dos níveis desses biomarcadores na admissão. Foi observado também, a diminuição da média dos níveis de IL-6, biomarcador inflamatório, de forma significativa durante o tratamento, quando comparada a média dos níveis durante a admissão. Os níveis de INF-γ, VEGF, bem como os valores de proteinúria, albuminúria e a taxa de filtração glomerular não apresentaram diferenças significativas quando comparados os valores nos pacientes durante o tratamento e na admissão hospitalar.

**Figura 13.** Percentual de alteração média dos biomarcadores em relação à admissão hospitalar



Alteração média dos biomarcadores renais tradicionais (TFG, proteinúria e albuminúria) e novos (VEGF, MCP-1 e KIM-1 urinários), e dos biomarcadores inflamatórios (IL-6, IFN- $\gamma$ ). Os valores expressam a média do aumento ou diminuição percentual durante o uso de Anf-B lipossomal em relação às medidas iniciais obtidas na admissão hospitalar. \*  $p < 0,05$  para comparação da alteração média da linha de base entre os grupos, aplicando o teste de Wilcoxon entre os dois períodos.

### 4.3 Correlação entre os níveis de MCP-1 urinário e os marcadores renais tradicionais.

Na análise de correlações, os níveis MCP-1 urinário foram avaliados quanto a sua associação com os biomarcadores renais durante a admissão hospitalar e durante o tratamento com a Anf-B lipossomal.

Os níveis de MCP-1 urinário da admissão hospitalar (uMCP-1) apresentaram correlação moderada com a creatinina sérica ( $Rho=0,724$ ,  $p=0,03$ ), correlação leve com a

uréia sérica (Rho=0,626, p=0,017), albuminúria (Rho=0,622, p=0,018) e correlação inversa com a TFG (Rho= -0,678, p=0,015) também no período da admissão hospitalar.

Os níveis de MCP-1 urinário da admissão hospitalar (uMCP-1) também estiveram correlacionados de forma moderada com a creatinina sérica (Rho=0,839, p=0,002), de forma leve com a ureia sérica (Rho=0,709, p=0,022) e de forma inversa com a TFG (Rho= -0,745, p= 0,013) durante o uso da Anf-B lipossomal (Tabela 5, Figuras 14 e 15).

**Tabela 5.** Correlação entre os níveis de MCP-1 urinário e os marcadores renais tradicionais nos dois períodos.

	MCP-1		MCP-1	
	(Admissão hospitalar)		(Anf-B lipossomal)	
	Rho	p	Rho	P
<b>Marcadores tradicionais na admissão hospitalar</b>				
TFG (mL/min/1,73m <sup>2</sup> )	-0,678*	0,015	-0,222	0,446
Creatinina (mg/dL)	0,724**	0,003	0,118	0,663
Uréia (mg/dL)	0,626*	0,017	-0,082	0,762
Proteinúria (mg/g-Cr)	0,508	0,064	-0,062	0,820
Albuminúria (mg/g-Cr)	0,622*	0,018	-0,032	0,905
<b>Marcadores tradicionais durante o uso de Anf-B lipossomal</b>				
TFG (mL/min/1,73m <sup>2</sup> )	-0,745*	0,013	-0,182	0,593
Creatinina (mg/dL)	0,839**	0,002	0,187	0,581
Uréia (mg/dL)	0,709*	0,022	0,018	0,958
Proteinúria (mg/g-Cr)	0,188	0,603	0,451	0,122
Albuminúria (mg/g-Cr)	0,445	0,128	0,491	0,053

\*\*Correlação moderada. \*Correlação leve. Rho de spearman.

**Figura 14.** Correlações significativas entre os níveis de MCP-1 e os marcadores tradicionais de lesão renal na admissão hospitalar.

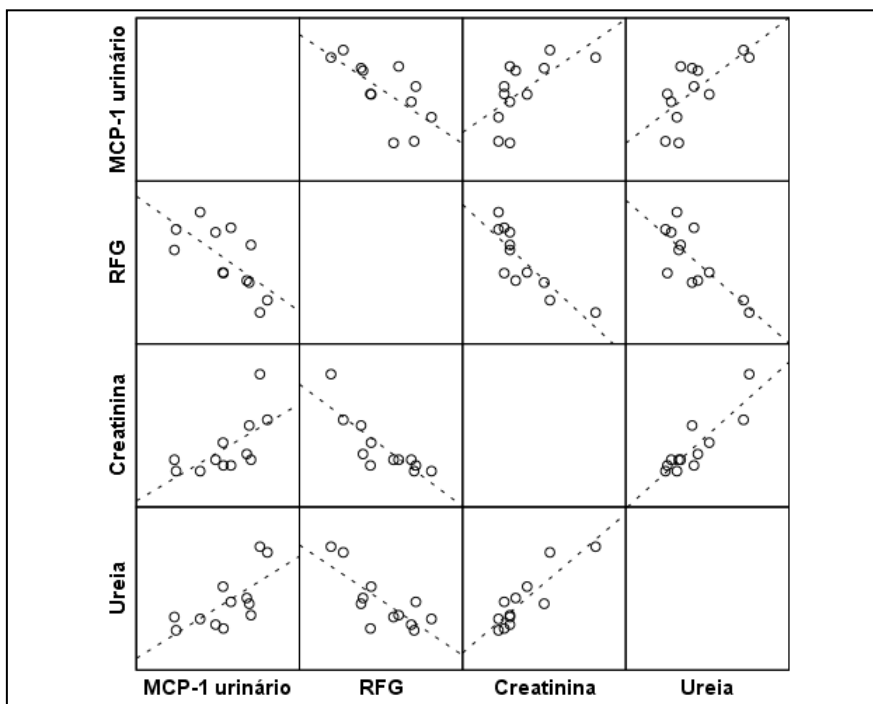
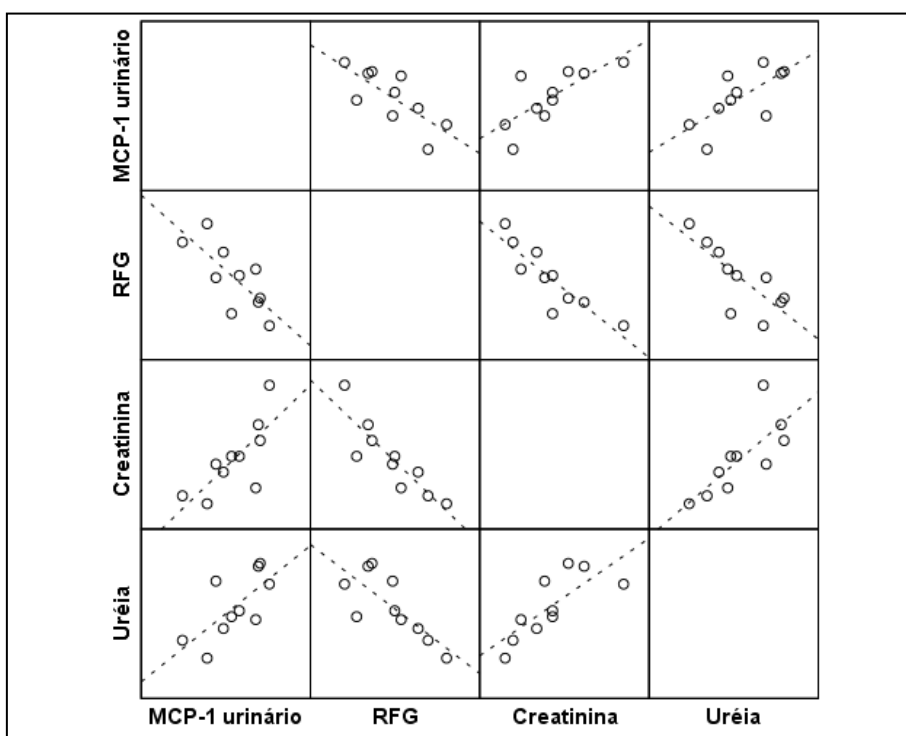


Gráfico de dispersão em matriz das correlações significativas observadas entre MCP-1 urinário e marcadores tradicionais de lesão renal no período da admissão hospitalar. Dados resumidos na Tabela 5.

**Figura 15.** Correlações significativas entre os níveis de MCP-1 e os marcadores tradicionais de lesão renal durante o tratamento com a Anf-B lipossomal.



Correlações significativas observadas entre MCP-1 urinário da admissão com marcadores tradicionais de lesão renal durante tratamento com Anf-B lipossomal. Dados resumidos na Tabela 5.

# Discussão

## 5. Discussão

No presente estudo, foi observado que a maior parte dos pacientes acometidos pelo calazar era do sexo masculino (71%) e que a faixa etária adulta foi a mais acometida (43±16). Esse perfil epidemiológico vem sendo encontrado em estudos sobre LV ao longo de muitos anos, como foi mostrado desde Alencar et al (1983) até estudos mais recentes como mostrado em Meneses (2017).

Em algumas áreas pode ocorrer uma maior incidência de casos nas pessoas do sexo masculino e em outras a distribuição entre homens e mulheres é mais uniforme. Não se sabe ainda se isto ocorre devido a uma diferença na exposição, ou se isso ocorre devido a subnotificação de casos do sexo feminino (OLIVEIRA, 2014). Já foi sugerido que fatores genéticos e hormonais estão envolvidos a essa maior susceptibilidade e propensão do sexo masculino à infecção (COSTA, 1990).

No presente estudo, os pacientes com LV apresentaram as alterações nos exames laboratoriais características da doença, como anemia, leucopenia, trombocitopenia, hipergamaglobulinemia e hipoalbuminemia antes de iniciarem o tratamento e a maioria dessas alterações permaneceram evidentes ainda durante o tratamento com a Anf-B lipossomal. O único parâmetro onde foi observada uma melhora significativa durante o tratamento foi o aumento no número de leucócitos.

Os pacientes acometidos pela LV apresentam parasitismo no sistema reticuloendotelial, que pode afetar diferentes órgãos como fígado, baço, medula óssea, linfonodos, sistema digestivo e os rins (VAN GRIENSVEN; DIRO, 2012). Esse parasitismo está correlacionado a um quadro de sintomas e alterações em exames laboratoriais bem características da doença, como febre, hepatoesplenomegalia, palidez, astenia e perda ponderal. Entre as alterações laboratoriais mais comuns estão a pancitopenia, hipoalbuminemia, hipergamaglobulinemia, elevação das enzimas do fígado e alteração das bilirrubinas (AL-GHAZALY, AL-DUBAI, 2016; DAHER et al 2015; MENESES 2017).

A inflamação que ocorre de forma sistêmica com consequente aumento de citocinas inflamatórias pode ser considerada como a principal causa direta algumas manifestações clínicas severas da LV. De fato, essa liberação de diferentes mediadores inflamatórios pode ser responsável por um grande dano tecidual, e sua influência na gravidade da LV já foi indicada por Costa et al (2010, 2013).

Os problemas renais na LV acontecem por diferentes mecanismos, podendo levar a alterações túbulo-intersticiais e glomerulares (CLEMENTI et al., 2011; BARSOUM, 2013).

O estudo desse envolvimento renal tem sido necessário devido às grandes complicações e aumento da morbidade e mortalidade nesse grupo de pacientes conforme foi descrito anteriormente por Oliveira et al (2010). Além da disfunção renal causada através do infiltrado inflamatório em decorrência da presença do parasita e a grande deposição de imunocomplexos nos rins, os medicamentos existentes atualmente no Brasil para o tratamento do calazar estão correlacionados a um alto risco de toxicidade renal (CLEMENTI, 2011; SALGADO-FILHO; FERREIRA; COSTA 2003).

A nefrotoxicidade é o principal efeito adverso limitante do tratamento da Anf-B lipossomal, mas o risco varia dependendo da população de pacientes, dose diária que é administrada, tempo da terapia e o uso de outros agentes nefrotóxicos que podem estar sendo administrados concomitantemente (SALIBA, 2008).

Em um estudo realizado com outro grupo de doentes que utilizou o critério de classificação RIFLE em pacientes com neoplasias hematológicas, que receberam o tratamento com Anf-B lipossomal, um terço destes apresentaram alterações na função renal associadas ao risco de lesão renal (19,4%), lesão (13,6%) ou insuficiência renal (5,8%). Contudo, a insuficiência renal ocorreu apenas em pacientes com insuficiência de múltiplos órgãos associada a estágios terminais da leucemia. Outro achado importante desse mesmo estudo foi que a incidência de lesão renal foi mais baixa durante os primeiros 7 a 10 dias de terapia. No entanto, esta janela de baixo risco durante o tratamento com Anf-B lipossomal foi afetada pelo uso de outros medicamentos concomitantemente, especialmente inibidores de calcineurina isoladamente ou em combinação com terapia diurética (STANZANI et al, 2017).

Atualmente, um problema enfrentado é a dificuldade na identificação da lesão renal, por causa da falta de sensibilidade dos marcadores que vem sendo utilizados na prática clínica, sendo diagnosticada quando a lesão já se encontra devidamente instalada. Desse modo, um diagnóstico mais rápido da LRA nos pacientes pode vir a diminuir o tempo de internação hospitalar e a mortalidade (VAIDYA; FERGUSON; BONVENTRE, 2008).

No presente estudo foram analisados os parâmetros renais, através de marcadores tradicionalmente utilizados na prática clínica, como a creatinina sérica, antes e durante o tratamento com Anf-B lipossomal. Os níveis de creatinina sérica não apresentaram diferenças significativas entre o período da admissão hospitalar e durante o tratamento, mostrando que a Anf-B lipossomal não influenciou na alteração dos seus níveis. Previamente, em outro estudo realizado com pacientes diagnosticados com LV, foram analisados os parâmetros renais antes e após o tratamento com antimoniais pentavalentes e, do mesmo modo, não foram encontradas diferenças significativas nos níveis de creatinina sérica nos dois tempos.



Contudo, é importante considerar a diferença entre os dois tratamentos e a diferença da gravidade dos pacientes nos dois estudos, visto que a Anf-B lipossomal é administrada na grande maioria das vezes em pacientes graves (OLIVEIRA, 2014).

A creatinina sérica não é um marcador precoce para avaliação da função renal e diversos fatores interferem em seus resultados. A sua produção varia não só de um paciente para o outro, mas também no mesmo paciente quando ele é posto sob diferentes condições (OLIVEIRA, 2014). A idade, sexo, massa muscular, etnia, dieta, e o estado nutricional interferem na produção da creatinina. Dessa maneira, é importante o uso de outros parâmetros para se possa esclarecer melhor problemas com a função renal (SIROTA, KLAWITTER e EDELSTEIN, 2011).

No presente estudo, foi observado que a avaliação da TFG calculada através da fórmula CKD-EPI (LEVEY et al., 2009) não apresentou diferença significativa quando comparados os valores encontrados antes do tratamento com os valores encontrados durante o tratamento. Dados semelhantes foram encontrados por Oliveira (2014) e em um estudo onde foram avaliados 50 pacientes com diagnóstico de LV e comparados com um grupo controle para avaliação da função renal, onde a TFG (avaliada pela medida laboratorial da depuração da creatinina através da obtenção do volume urinário em 24 horas) também não apresentou significância (LIMA VERDE et al. 2007).

Foi observado no presente estudo um aumento da proteinúria e da albuminúria, quando comparados com os valores de referência em indivíduos saudáveis. No entanto não houve diferenças significativas quando comparados os valores encontrados no período da admissão hospitalar e durante o uso da Anf-B lipossomal.

O aumento da proteinúria no calazar pode estar correlacionado com a hipergamaglobulinemia frequente na doença, com a presença de frações de proteínas, como alfa1, alfa2, beta microglobulinas e gama globulinas na urina. Vale destacar que esse fato pode apressar o desenvolvimento da doença renal por meio da indução de quimiocinas e ativação do sistema complemento, que podem causar um grande aumento do infiltrado de células inflamatórias no rim (GORRIZ; MARTINEZ-CASTELAO, 2012 apud MENESES, 2017).

Além disso, um fator que é grave para a piora da função renal é a existência de proteinúria. Um estudo prévio realizado com 163 pacientes mostrou que os pacientes que tinham proteinúria na admissão hospitalar apresentavam 7,4 vezes mais chances de ter alterações na creatinina sérica após o tratamento, e quando a creatinina já estava elevada, a chance era de 3,8 vezes maior de continuar alterada após o tratamento, além disso, se

houvesse alteração de ambos, tanto de proteinúria quanto de creatinina sérica no período admissional, o risco de persistência do aumento da creatinina subia para 7,1 vezes (RIGO; RIGO; HONER, 2009 apud OLIVEIRA, 2014).

No presente estudo, avaliou-se ainda o uso de novos biomarcadores renais com o intuito de analisar o comportamento destes durante o tratamento com Anf-B lipossomal nos pacientes com leishmaniose visceral e as suas possíveis correlações com os marcadores renais tradicionalmente usados na prática clínica.

No presente estudo foi evidenciado um aumento significativo dos níveis de MCP-1 urinários nos pacientes com LV durante o tratamento com a Anf-B lipossomal quando comparados com os níveis desse biomarcador na admissão. Sugerindo uma possível relação da Anf-B lipossomal no aumento dos seus níveis.

A MCP-1 encontra-se presente na patogênese da lesão renal. Estudos demonstram que a MCP-1 é produzida e liberada por diferentes células renais, como as células mesangiais, endoteliais e podócitos durante a estimulação por diferentes indutores inflamatórios, como complexos imunes e a liberação das citocinas (HALLER et al., 2016; KIM, TAM, 2011 apud MENESES, 2017).

Em estudos prévios realizados com doenças infecciosas, inclusive com a LV, esquistossomose e hanseníase, os pacientes apresentaram níveis aumentados de MCP-1 urinário, sugerindo um maior risco para o desenvolvimento de doença renal (DUARTE et al., 2014; HANEMANN, et al, 2013; MENESES et al., 2014; OLIVEIRA, 2014; MENESES 2017).

Além disso, no presente estudo foi observado através de uma análise de correlação que os níveis de MCP-1 urinário na admissão hospitalar se correlacionaram com marcadores tradicionalmente utilizados na prática clínica, como a creatinina, ureia, albuminúria e apresentaram ainda correlação inversa com a TFG no período da admissão hospitalar.

Da mesma forma, os níveis de MCP-1 urinário na admissão hospitalar também se correlacionaram com marcadores tradicionalmente utilizados na prática clínica durante o uso da Anf-B lipossomal, como a creatinina, ureia, e se correlacionaram de forma inversa com a TFG.

Percebe-se dessa forma, que neste estudo foram encontradas boas associações de MCP-1 urinário com marcadores renais atualmente utilizados. Resultados semelhantes foram encontrados em outros estudos com MCP-1 urinário, onde a MCP-1 foi apontada como um biomarcador potencial para LRA (MUNSHI et al., 2011). Em um estudo com LV antes do

tratamento foi evidenciado ainda que níveis elevados de MCP-1 urinário (uMCP-1) se associaram com o aumento da albuminúria (MENESES, 2017).

No presente estudo foi observada uma diminuição de forma significativa nos níveis séricos de IL-6 nos pacientes com LV, quando comparados os resultados obtidos durante o tratamento com Anf-B lipossomal com os resultados encontrados na admissão hospitalar, evidenciando uma melhora desses pacientes durante o tratamento. Esse resultado sugere que o aumento do MCP-1 nos pacientes durante o uso da Anf-B lipossomal, pode estar relacionado a um possível dano tecidual provocado pela terapia medicamentosa e pela morte dos parasitas, visto que o mecanismo de ação da Anf-B leva a perda da integridade da membrana plasmática, com consequente liberação do conteúdo citoplasmático, causando dano às células vizinhas, além de uma reação inflamatória local. Além disso, a diminuição das concentrações séricas da IL-6 levam a um aumento da atividade macrofágica que ajudam na eliminação e remoção dos parasitas mortos (DOS SANTOS et al, 2016; NAGATA et al, 2010; TAKAHISATYANO et al., 2009).

Resultado semelhante foi encontrado recentemente em um estudo com LV, onde os níveis de IL-6 estavam aumentados nesses pacientes antes do tratamento quando comparados com um grupo controle, e após o tratamento os níveis diminuíram significativamente. Nesse mesmo estudo, a IL-6 se correlacionou com as manifestações clínicas da doença juntamente com IL-10, IL-27 e TNF- $\alpha$ . Além disso, a mesma se correlacionou fortemente com a gravidade da doença, apresentando níveis mais elevados em pacientes mais graves quando comparados com pacientes menos graves e estando presente nos pacientes que evoluíram para o óbito (DOS SANTOS et al, 2016).

Outro biomarcador analisado neste estudo foi o KIM-1 urinário, que está presente nas células tubulares proximais durante a lesão, contudo na ausência de problemas renais, não existe expressão do mesmo (ICHIMURA et al., 1998; SHAO et al., 2014; MENESES 2017).

No presente estudo, de forma semelhante à MCP-1, os níveis de KIM-1 urinário também apresentaram diferenças significativas quando comparados os valores encontrados na admissão hospitalar com os valores encontrados durante o tratamento com Anf-B lipossomal nos pacientes com LV. Foi observado um aumento nos níveis de KIM-1 que podem estar relacionados com algum grau de lesão tubular causada pelo uso da Anf-B lipossomal em pacientes com LV. Apesar do aumento em seus níveis, o KIM-1 não se associou de forma significativa com os marcadores tradicionalmente utilizados na prática clínica.

Em um estudo experimental feito com ratos utilizando Anf-B desoxicolato, a toxicidade renal dessa formulação foi avaliada através de KIM-1 urinário, que foi dosado

antes do início do tratamento e após 7 dias consecutivos de injeção IV Fungizone®. Os níveis urinários de KIM-1 aumentaram em 3 vezes após o tratamento (KANG et al, 2016).

Em um estudo recente com pacientes diagnosticados com LV antes do tratamento, foram detectados níveis elevados de KIM-1 urinário (uKIM-1) e esses níveis estiveram correlacionados com a creatinina sérica, uréia, hiponatremia, albuminúria e proteinúria (MENESES, 2017).

Em outros estudos realizados com diferentes contextos clínicos foi observado que, em pacientes com cirrose hepática, os níveis sanguíneos de KIM-1 aumentaram significativamente, à medida que os níveis da TFG diminuíram (LUO, 2015). Também foi demonstrado em outro estudo, que a concentração urinária de KIM-1 foi significativamente maior em pacientes com LRA secundária à cirrose descompensada quando comparada a um grupo controle de pessoas saudáveis, e as concentrações de KIM-1 aumentaram com progressão da doença. Isso mostra que o KIM-1 urinário pode servir como um marcador efetivo para monitorar a LRA secundária à cirrose e pode ser um marcador precoce da progressão da doença (LEI et al, 2018).

Sobre os níveis de VEGF urinários encontrados nesse estudo, não foram evidenciadas diferenças significativas nos seus níveis na admissão hospitalar e nos níveis durante o tratamento. O VEGF, assim como o KIM-1, não se associou com os marcadores renais atualmente utilizados.

A limitação deste estudo é o número pequeno de pacientes acompanhados, o que dificulta uma avaliação melhor da associação desses novos marcadores com a Anf-B lipossomal. Essa limitação não invalida os resultados encontrados, mas mostra a necessidade de outras pesquisas que se envolvam nesse contexto.

Dessa forma, são necessários mais estudos em busca de novos biomarcadores que sejam mais sensíveis e que auxiliem em um diagnóstico de lesão renal mais rápido do que os marcadores atualmente utilizados, visando assim, um melhor manejo clínico para esses pacientes com doenças infecto-parasitárias, comumente negligenciadas, como no caso da leishmaniose visceral.

# Conclusão

## 6. CONCLUSÃO

- Houve um aumento significativo nos níveis de MCP-1 e KIM-1 urinários nos pacientes com leishmaniose visceral durante o uso da Anf-B lipossomal em relação aos níveis destes na admissão hospitalar.
- O uso da Anf-B lipossomal levou a uma diminuição dos níveis de IL-6 de forma significativa, mostrando uma melhora dos pacientes com o tratamento.
- O uso da Anf-B lipossomal não apresentou nefrotoxicidade importante de acordo com parâmetros renais clínicos, mas pode ter contribuído para algum grau de lesão renal, evidenciada pela elevação de MCP-1 urinário e KIM-1 urinário.
- Os níveis de uMCP-1 se associaram estatisticamente aos marcadores renais utilizados na prática clínica.

## 7. REFERÊNCIAS

AIT-LOUDHIA, K.; GAZANION, E.; VERGNES, B.; OURY, B.; SERENO, D. Leishmania antimony resistance what we know what we can learn from the field. **Parasitol. Res.**, v. 109, p. 1225-1232, 2011.

ALENCAR, J. E. Expansão do calazar no Brasil. **Ceará méd**, v. 5, n. 1/2, p. 86-102, 1983.

AL-GHAZALY, J.; AL-DUBAI, W. The clinical and biochemical characteristics of Yemeni adults and children with visceral leishmaniasis and the differences between them: a prospective cross-sectional study before and after treatment. **Tropical doctor**, v. 46, n. 4, p. 224–231, out. 2016.

BAGINSKI, M. et al. Molecular modelling of membrane activity of amphotericin B, a polyene macrolide antifungal antibiotic. **Acta Biochimica Polonica**, v. 52, n. 3, p. 655–658, 2005.

BAGSHAW, S. M.; BELLOMO, R. Early diagnosis of acute kidney injury. **Current opinion in critical care**, v. 13, n. 6, p. 638–644, dez. 2007.

BARSOUM, R. S. Parasitic kidney disease: milestones in the evolution of our knowledge. **Am. J. Kidney Dis.**, v. 61, n. 3, p. 501-513, 2013

BELO, V. S. et al. Risk Factors for Adverse Prognosis and Death in American Visceral Leishmaniasis: A Meta-analysis. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 7, p. 1–9, 2014

BHATHENA DB, Bullock WE, Nuttall CE et al. The effects of amphotericin B therapy on the intrarenal vasculature and renal tubules in man. **Clin Nephrol**, v. 9, p. 103-110 1978

BONVENTRE, J. V. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a specific and sensitive biomarker of kidney injury. Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation. **Supplementum**, v. 241, p. 78–83, 2008.

BONVENTRE, J. V. KIDNEY INJURY MOLECULE-1: A TRANSLATIONAL JOURNEY. **TRANSACTIONS OF THE AMERICAN CLINICAL AND CLIMATOLOGICAL ASSOCIATION**, v. 125, p. 293–299, 2014

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Situação Epidemiológica, leishmaniose visceral. <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/oministerio/principal/secretarias/svs/leishmaniose-visceral-lv>, 2016.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Situação Epidemiológica, leishmaniose visceral. <http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-z/leishmaniose-visceral/11334-situacao-epidemiologica-dados>, 2016.

BRASIL. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**. v. 1ª edição. 2006

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Brasília, 2014. 122 p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Leishmaniose visceral grave: normas e condutas. Brasília, 2006a. 60 p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Leishmaniose visceral recomendações clínicas para redução da letalidade**. Brasília, 2011. 78 p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

BURNS, J. M. et al. Molecular characterization of a kinesin-related antigen of *Leishmania chagasi* that detects specific antibody in African and American visceral leishmaniasis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 90, n. 2, p. 775–9, 1993.

CARVALHO PEDROSA, D. et al. Urinary KIM-1 in children undergoing nephrotoxic antineoplastic treatment: a prospective cohort study. **Pediatric Nephrology**, 2015.

CARVALHO, E. M.; BACELAR, O.; BARRAL, A. Antigen specific immunosuppression in visceral leishmaniasis is cell mediated. **J. Clin. Invest.**, v. 83, p. 860-864, 1989

CEARÁ, S. DA S. DO. Boletim Epidemiológico Leishmaniose Visceral Secretaria da Saúde do Ceará. 2017.

CHAPPUIS, François et al. Visceral leishmaniasis: what are the needs for diagnosis, treatment and control?. **Nature reviews microbiology**, v. 5, n. 11, p. 873-882, 2007.

CHATURVEDI, S.; FARMER, T.; KAPKE, G. F. Assay validation for KIM-1: human urinary renal dysfunction biomarker. **International journal of biological sciences**, v. 5, n. 2, p. 128–34, 2009.

CLEMENTI, A.; GIORGIO, B.; FLORIS, M.; CASTELLINO, P.; RONCO, C.; CRUZ, D. N. Renal involvement in leishmaniasis: a review of the literature. **NDT Plus**, v. 4, p. 147-152, 2011.

CLINIC, M. et al. LIPOSOMAL AMPHOTERICIN B FOR EMPIRICAL THERAPY IN PATIENTS WITH PERSISTENT FEVER AND NEUTROPENIA. **The New England Journal of Medicine**, v. 340, n. 10, p. 764–771, 1999.

COLLIN, S.; DAVIDSON, R.; RITMEIJER, K.; KEUS, K.; MELAKU, Y.; KIPNGETICH, S.; DAVIES, C. Conflicts and Kala-azar: determinants of adverse outcomes of Kala-azar among patients in southern Sudan. **Clin. Infect. Diseases**, v. 38, n. 5, p. 612-619, 2004.

CONDUCTIER, G.; BLONDEAU, N.; GUYON, A.; NAHON, J.; ROVÈRE, C. The role of monocyte chemoattractant protein MCP1/CCL2 in neuroinflammatory diseases. **Journal of Neuroimmunology**, v. 224, p. 93-100, 2010.

COSTA, Carlos Henrique N.; PEREIRA, Humberto F.; ARAÚJO, Maurílio V. Epidemia de leishmaniose visceral no Estado do Piauí, Brasil, 1980-1986. **Revista de Saúde Pública**, v. 24, n. 5, p. 361-372, 1990.

COSTA, C.H, WERNECK, G.L, COSTA, D.L, HOLANDA, T.A, AGUIAR, G.B, CARVALHO, A.S, et al. Is severe visceral leishmaniasis a systemic inflammatory response syndrome? A case control study. **Rev Soc Bras Med Trop**, v.43, p. 386 – 392, 2010.



COSTA, D.L, ROCHA, R.L, CARVALHO, R.M, LIMA-NETO, A.S, HARHAY, M.O, COSTA, C.H, et al. Serum cytokines associated with severity and complications of kala-azar. **Pathog Glob Health**. V. 107, p. 78-87, 2013.

DAHER, E. F. et al. Hemophagocytic Syndrome in Children With Visceral Leishmaniasis. **The Pediatric infectious disease journal**, v. 34, n. 12, p. 1311–4, 2015.

DAHER, E. D. F. et al. Hyponatremia and risk factors for death in human visceral leishmaniasis: new insights from a cross-sectional study in Brazil. **BMC Infectious Diseases**, v. 17, n. 1, p. 168, 2017.

DAHER, E. F. et al. Clinical Presentation and Renal Evaluation of Human Visceral Leishmaniasis ( Kala-azar ): A Retrospective Study of 57 Patients in Brazil. **Braz. Journal of Infectious Diseases** v. 12, p. 329–332, 2008.

DAHER, E. F. et al. Renal function improvement with pentavalent antimonial agents in patients with visceral leishmaniasis. **American Journal of Nephrology**, v. 33, p. 332–336, 2011.

DANTAS BRITO, M. et al. Visceral leishmaniasis: a differential diagnosis to remember after bone marrow transplantation. **Case reports in hematology**, v. 2014, 2014.

DANTAS-TORRES, Filipe. Canine leishmaniosis in South America. **Parasites & Vectors**, v. 2, n. 1, p. 1, 2009

DA SILVA JUNIOR, G. B.; GUARDÃO BARROS, E. J.; DE FRANCESCO DAHER, E. Kidney involvement in leishmaniasis-A review. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 18, n. 4, p. 434–440, 2014.

DAVIES, C. R., Kaye, P., Croft, S. L., & Sundar, S. 2003. Leishmaniasis: new approaches to disease control. **BMJ : British Medical Journal**, v. 326(7385), p. 377–382. 2003

DEVARAJAN, P. The use of targeted biomarkers for chronic kidney disease. **Advances in chronic kidney disease**, v. 17, n. 6, p. 469–79, nov. 2010.

DOS SANTOS, P. L. et al. The Severity of Visceral Leishmaniasis Correlates with Elevated Levels of Serum IL-6, IL-27 and sCD14. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 1, p. e0004375, 2016.

DOSTÁLOVÁ, A.; VOLF, P. Leishmania development in sand flies: parasitevector interactions overview. **Parasites & vectors**, v. 5, p. 276, 2012

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

DUARTE, D. B. et al. Renal function in hepatosplenic schistosomiasis--an assessment of renal tubular disorders. **PloS one**, v. 9, n. 12, p. e115197, 2014.

DUTRA, M.; MARTINELLIM, R.; CARVALHO, E. M. Renal involvement in visceral leishmaniasis. **Am. J. Kidney Dis.**, v. 7, p. 22-27, 1985.

EARDLEY, K. S.; ZEHNDER, D.; QUINKLER, M. et al. The relationship between albuminuria, MCP-1/CCL2, and interstitial macrophages in chronic kidney disease. **Kidney International**. v. 69, p. 1189-1197, 2006.

EDELBAUER, M.; KSHIRSAGAR S, RIED, M. et al. Soluble VEGF receptor 1 promotes endothelial injury in children and adolescents with lupus nephritis. **Pediatr Nephrol**, v.27, p 793-800, 2012.

EFSTRATIADIS, G.; BOURA E.; GIAMALIS, P. Renal involvement in a patient with visceral leishmaniasis. **Nephrol. Dial. Transplant.**, v. 21, p. 235-236, 2006. Supplement 1.

ELNOJOMI, N. A. A. et al. Surrogate markers of subtle renal injury in patients with visceral leishmaniasis. **Saudi journal of kidney diseases and transplantation: an official publication of the Saudi Center for Organ Transplantation, Saudi Arabia**, v. 21, n. 5, p. 872–5, set. 2010.

ENDRE, Z. H.; PICKERING, J. W.; WALKER, R. J. Clearance and beyond: the complementary roles of GFR measurement and injury biomarkers in acute kidney injury (AKI). **Am J Physiol Renal Physiol**, v. 301, n. 4, p. F697-707, Oct 2011.

FALCI, D. R.; PASQUALOTTO, A. C. Anfotericina B: uma revisão sobre suas diferentes formulações, efeitos adversos e toxicidade. **Clinical & Biomedical Research**, v. 35, n. 2, p. 65–82, 2015.

FILHO, N. S. Envolvimento da função renal em pacientes com leishmaniose visceral (calazar). v. 36, n. 2, p. 217–221, 2003

GALVIS-OVALLOS F.; DA SILVA, M.D.; BISPO, G.B.; DE OLIVEIRA, A.G.; NETO J.R.; MALAFRONTA R.D, GALATI, E.A. Canine visceral leishmaniasis in the metropolitan area of São Paulo: *Pintomyia fischeri* as potential vector of *Leishmania infantum*. **Parasite**. v. 24, n. 2 2017.

GAMA, M. E. A; COSTA, J. M. L.; GOMES, C. M. C.; CORBETT, C. E. P. Subclinical form of the American visceral leishmaniasis. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.99, p.889-93, 2004.

GONÇALVES, S. B. *Efeito do VEGF na angiogênese pulpar e na apoptose*. 2006. Tese (Doutorado em odontologia), Universidade de São Paulo, Bauru.

GOLDMAN, Ran D.; KOREN, Gideon. Amphotericin B nephrotoxicity in children. **Journal of pediatric hematology/oncology**, v. 26, n. 7, p. 421-426, 2004

GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N.; Leishmaniose visceral no Brasil. **Rev. Bras. Epidemiol.**, v. 7, n. 3, p. 338-349, 2004.

GONZALES, P.; PISITKUN, T.; KNEPPER, M. A. Urinary exosomes: is there a future? **Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association**, v. 23, n. 6, p. 1799–801, jun. 2008.

GORRIZ, J. L.; MARTINEZ-CASTELAO, A. Proteinuria: detection and role in native renal disease progression. **Transplantation reviews (Orlando, Fla.)**, v. 26, n. 1, p. 3–13, jan. 2012.

GRANDALIANO, G.; GESULADO, L.; RANIERE, E. et al. Monocyte chemotactic peptide-1 expression in acute and chronic human nephritides: a pathogenetic role in interstitial monocytes recruitment. **J Am Soc Nephrol.**, v. 7, p. 906-913, 1996.

GUIMARÃES, V.C. et al. *Lutzomyia migonei* is a permissive vector competent for *Leishmania infantum*. **Parasit Vectors.** v.17. n.9 p.159, 2016.

HAG, I. A. EL et al. Liver morphology and function in visceral leishmaniasis (Kala-azar). **Jf Clin Pathol**, v. 47, p. 547–551, 1994

HALLER, H. et al. Monocyte chemoattractant protein-1 and the kidney. **Current opinion in nephrology and hypertension**, v. 25, n. 1, p. 42–9, jan. 2016.

HAN, W. K. et al. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): A novel biomarker for human renal proximal tubule injury. **Kidney International**, v. 62, n. 1, p. 237– 244, 2002.

HANEMANN, ANA LÚCIA P.; LIBÓRIO, ALEXANDRE B. ; DAHER, ELIZABETH F. ; MARTINS, ALICE MARIA C. ; PINHEIRO, MARTA CRISTHIANY C. ; SOUSA, MARIANA S. ; BEZERRA, FERNANDO SCHEMELZER M. . Monocyte Chemotactic Protein-1 (MCP-1) in Patients with Chronic Schistosomiasis Mansoni: Evidences of Subclinical Renal Inflammation. **Plos One JCR**, v. 8, p. e80421, 2013.

HARHAY, Michael O. et al. Urban parasitology: visceral leishmaniasis in Brazil. **Trends in parasitology**, v. 27, n. 9, p. 403-409, 2011.

HEIDEMANN, H. T. et al. Effect of aminophylline on renal vasoconstriction produced by amphotericin B in the rat. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 324, n. 2, p. 148–152, 1983.

HICKLIN, D.; ELLIS, L.M. Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis. **J Clin Oncol**, New York, v.23, n.5, p.1011-1027, 2005.

HODGKINS, K. S.; SCHNAPER, H. W. Tubulointerstitial injury and progression of chronic kidney disease. **Pediatr. Nephrol.**, v. 27, p. 901-909, 2012.

HOOD, J.D; MEININGER, C.J, ZICHIE, M., GRANGER, H.J. VEGF upregulates ecNOS message, protein, and NO production in human endothelial cells. **Am J Physiol.** v.274, n.3, p.1054-8. 1998

HORA, K. et al. Receptors for IgG complexes activate synthesis of monocyte chemoattractant peptide 1 and colony-stimulating factor 1. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 89, n. 5, p. 1745–9, mar. 1992.

HOEBEN, A. et al. Vascular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis. **Pharmacol Rev**, Baltimore, v.56, n.4, p549-580, 2004.

ICHIMURA, T. et al. Kidney injury molecule-1 is a phosphatidylserine receptor that confers a phagocytic phenotype on epithelial cells. **Journal of Clinical Investigation**, v. 118, n. 5, p. 1657–1668, 2008.

ICHIMURA, T.; MOU, S. Kidney injury molecule-1 in acute kidney injury and renal repair: a review. **Zhong xi yi jie he xue bao = Journal of Chinese integrative medicine**, v. 6, n. 5, p. 533–8, maio 2008.

JEZIORSKI, E. et al. Mucosal relapse of visceral leishmaniasis in a child treated with antiTNF $\alpha$ . **International Journal of Infectious Diseases**, v. 33, p. 135-136, 2015.

KAMHAWI ,S. The yin and yang of leishmaniasis control. **PLoS Negl Trop Dis**. v. 11. n.4, p. e0005529, 2017.

KANG, J.Y, GAO, J, SHIN, D.H, ALVAREZ, C, ZHONG, W, KWON, G.S. Pharmacokinetics and Renal Toxicity of Monomeric Amphotericin B in Rats after a Multiple Dose Regimen. **Pharmaceutical nanotechnology**. v. 4, p. 16-23. 2016.

KARAKUŞ, S. et al. Urinary IP-10, MCP-1, NGAL, Cystatin-C and KIM-1 Levels in Prenatally-Diagnosed Unilateral Hydronephrosis: the Search for an Ideal Biomarker. **Urology**, v. 87, p. 185–192, 2015

KASHANI, K.; CHEUNG PASITPORN, W.; RONCO, C. Biomarkers of acute kidney injury: the pathway from discovery to clinical adoption. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)**, v. 55, n. 8, p. 1074–1089, 2017.

KAUCSÁR, Tamás et al. Urine/Plasma Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin Ratio Is a Sensitive and Specific Marker of Subclinical Acute Kidney Injury in Mice. **PloS one**, v. 11, n. 1, p. e0148043, 2016

KAYE, P.; SCOTT, P. Leishmaniasis: complexity at the host-pathogen interface. **Nature reviews. Microbiology**, v. 9, n. 8, p. 604–615, 2011.

KHADEM, F. et al. Hepatic stellate cells regulate liver immunity to visceral leishmaniasis through P110 $\delta$ -dependent induction and expansion of regulatory T cells in mice. **Hepatology**, v. 63, n. 2, p. 620–632, 2016.

KIM, M. J.; TAM, F. W. K. Urinary monocyte chemoattractant protein-1 in renal disease. **Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry**, v. 412, n. 23-24, p. 2022– 30, nov. 2011.

KIMA, P. E.; SOONG, L. Interferon gamma in leishmaniasis. **Frontiers in Immunology**, v. 4, n. JUN, p. 1–5, 2013.

KRETZLER M.; SCHROPPEL, B.; MERKLE, M.; HUBER, S.; MUNDEL, P.; HOSTER, M, et al. Detection of multiple vascular endothelial growth factor splice isoforms in single glomerular podocytes. **Kidney Int Suppl** v. 67, p. 159-61, 1998.

LANE, V. F. M, *Análise epidemiológica da leishmaniose visceral humana no Brasil: Contribuição às políticas de controle*. 2016. Tese (Doutorado em ciências médicas), Universidade de Brasília, Brasília.

LAFUSE, H. P.; STORY, R.; MAHYLIS, L. GUPTA, G.; VARIKUTI, S.; STEINKAMP, H.; OQHUMU, S.; SATOSKAR, A. R. Leishmania donovani infection induces anaemia in hamsters by differentially altering erythropoiesis in bone marrow and spleen. **PLoS One**, v. 83, n. 3, 2013.

LEENDERS, A. C. A. P. et al. Liposomal amphotericin B compared with amphotericin B

deoxycholate in the treatment of documented and suspected neutropenia-associated invasive fungal infections. **British Journal of Haematology**, v. 103, n. 1, p. 205–212, 1998.

LEI, L.; LI, L.P.; ZENG, Z, et al. Value of urinary KIM-1 and NGAL combined with serum Cys C for predicting acute kidney injury secondary to decompensated cirrhosis. **Scientific Reports**. v. 8, p. 7962, 2018.

LESTINOVA, T. et al. Insights into the sand fly saliva: Blood-feeding and immune interactions between sand flies , hosts , and Leishmania. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 7, p. 1–26, 2017.

LEVEY, A. S. et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. **Annals of internal medicine**, v. 150, n. 9, p. 604–612, 2009.

LIBÓRIO, A. B. et al. Acute Kidney Injury in Children With Visceral Leishmaniasis. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, 2012.

LIMA VERDE, F. A.; LIMA VERDE, F. A. A.; LIMA VERDE, I. A.; SILVA JR., G. B.; DAHER, E. F.; LIMA VERDE, E. M. Evaluation of renal function in human visceral leishmaniasis (kala-azar): a prospective study on 50 patients from Brazil. **J. Nephrol.**, v. 20, n. 4, p. 430-46, 2007.

LIMA VERDE, F. A. A.; LIMA VERDE, F. A.; DAHER, E. F.; SANTOS, G. M.; SABÓIA NETO, A.; LIMA VERDE, E. M. Renal tubular dysfunction in human visceral leishmaniasis (kala-azar). **Clin. Nephrol.**, v. 71, p. 492-500, 2009.

LUO, J. H. & WU, N. Value of serum kidney injury molecule-1 level in early predicting renal dysfunction secondary to liver cirrhosis. **Lab. Med. Clin.** v.12, p. 188–190, 2015.

MARUMO, T.; SCHINI-KERTH, V.B.; BUSSE, R. Vascular endothelial growth factor activates nuclear factor-kappaB and induces monocyte chemoattractant protein-1 in bovine retinal endothelial cells. **Diabetes**, v. 48, p 1131-7, 1999.

MÅRTENSSON, J.; MARTLING, C.-R.; BELL, M. Novel biomarkers of acute kidney injury and failure: clinical applicability. **British journal of anaesthesia**, v. 109, n. 6, p. 843–50, 2012.

MARTINS-MELO, F. R., LIMA, M. D. S., RAMOS, A. N., ALENCAR, C. H. & HEUKELBACH, J. Mortality and case fatality due to visceral leishmaniasis in Brazil: A nationwide analysis of epidemiology, trends and spatial patterns. **PLoS ONE** 9, 2014.

MATTHEWS, K.R. Controlling and coordinating development in vector-transmitted parasites. **Science** v. 331, p. 1149 – 1153, 2011

MCCULLOUGH, P. A et al. Implementation of novel biomarkers in the diagnosis, prognosis, and management of acute kidney injury: executive summary from the tenth consensus conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI). **Contributions to nephrology**, v. 182, p. 5–12, 2013.

MENESES, G. C. *Relação entre marcadores tradicionais de função renal e a proteína quimiotática de monócitos-1(MCP-1) urinária em pacientes com hanseníase*. 2013. Dissertação (mestrado em farmacologia), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

MENESES, G. C. et al. Urinary monocyte chemotactic protein-1 ( MCP-1 ) in leprosy patients : increased risk for kidney damage. **BMC Infectious Diseases**, v. 1, n. 14, p. 1–5, 2014

MENESES, G.C. *Investigação de novos biomarcadores renais em pacientes com leishmaniose visceral*. 2017. Tese (doutorado em farmacologia), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza

MISTRO, S. et al. Does lipid emulsion reduce amphotericin B nephrotoxicity? A systematic review and meta-analysis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 54, n. 12, p. 1774–1777, 2012.  
Molyneux DH, Savioli L, Engels D. Neglected tropical diseases: progress towards addressing the chronic pandemic. **Lancet**. v. 389, p. 312–25, 2017.

MÜLLER, I. et al. Gamma interferon response in secondary Leishmania major infection: role of CD8+ T cells. *Infection and immunity*, v. 61, n. 9, p. 3730–8, 1993.

MURRAY, H. W. et al. Advances in leishmaniasis. **Lancet (London, England)**, v. 366, n. 9496, p. 1561–77, 2005.

MUNSHI, R. et al. MCP-1 Gene Activation Marks Acute Kidney Injury. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 22, n. 1, p. 165–175, 2011

NAGATA, S.; HANAYAMA, R.; KAWANE, K.; Autoimmunity and the Clearance of Dead Cells, **CELL**, v.140, p. 619-630, 2010.

NEUFELD G, COHEN T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. **FASEB J**. v. 13, p 9-22, 1999.

OLIVEIRA, R. A.; SILVA, L. S. V.; CARVALHO, V. P.; COUTINHO, A. F.; PINHEIRO, F. G.; LIMA, C. G.; LEANDRO JR., J. E.; SILVA JR., G. B.; DAHER, E. F. Visceral Leishmaniasis after transplantation: report of four cases in Northeastern Brazil. **Transplant Infectious Diseases**, v. 10, p. 364-368, 2008

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

OLIVEIRA, M. J. C. **Manifestações clínicas e fatores de risco relacionados à lesão renal aguda na leishmaniose visceral e aplicação do critério RIFLE**. 2010.

OLIVEIRA, M. J. C. et al. Preliminary Study on Tubuloglomerular Dysfunction and Evidence of Renal Inflammation in Patients with Visceral Leishmaniasis. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 91, n. 5, p. 908–911, 2014.

OLIVEIRA, M. J. C. *Estudo da função túbulo-glomerular e inflamação renal em pacientes com leishmaniose visceral*. 2014. Tese (doutorado em ciências médicas), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

OLLIARO, Piero L. et al. Treatment options for visceral leishmaniasis: a systematic review of clinical studies done in India, 1980–2004. **The Lancet infectious diseases**, v. 5, n. 12, p. 763774, 2005.

PACE D. Leishmaniasis. **J Infect.** v. 69, p. 10-18, 2014.

PARIKH, C. R.; MANSOUR, S. G. Perspective on Clinical Application of Biomarkers in AKI. **Journal of the American Society of Nephrology**, 2017.

PASTORINO AC; JACOB CMA; OSELKA GW; CARNEIRO-SAMPAIO MMS. Visceral Leishmaniasis: clinical and laboratorial aspects. **J. Pediatr.** v.78 n.2 p.120-127, 2002.

PERES, Luis Alberto Batista et al. Papel da lipocalina associada à gelatinase neutrofílica (NGAL) urinária na nefrotoxicidade da cisplatina em pacientes com câncer de cabeça e pescoço. **J. bras. nefrol**, v. 36, n. 3, p. 280-288, 2014.

PIPPARD, M. J.; MOIR, D.; WEATHERALL, D. J.; LENICKER, H. M. Mechanism of anaemia in resistant visceral leishmaniasis. **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, v. 80, n. 3, p. 317-323, 1986

PONTE-SUCRE A, DIAZ E, PADRON-NIEVEZ M. Drug resistance in Leishmania parasites. **Vienna: Springer**; p. 459, 2013.

REIS, L. L., Balieiro, A. A. da S., Fonseca, F. R. & Gonçalves, M. J. F. Changes in the epidemiology of visceral leishmaniasis in Brazil from 2001 to 2014. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** v.50, p. 638–645, 2017.

READY, P.D. Biology of phlebotomine sand flies as vectors of disease agents. **Annu Rev Entomol** v.58, p.227-50, 2013.

READY, P. D. Epidemiology of visceral leishmaniasis. **Clinical Epidemiology**, v. 6, p. 147–154, 2014

REITHINGER, R.; DUJARDIN, J. C. Molecular diagnosis of leishmaniasis: Current status and future applications. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n. 1, p. 21–25, 2007

RIGO, R. S.; RIGO, L.; HONER, M. R. Aspectos clínicos e laboratoriais na leishmaniose visceral americana. **J. Bras. Nefrol.**, v. 31, n. 1, p. 48-54, 2009

ROCHA, P. N. et al. Incidence, Predictors, and Impact on Hospital Mortality of Amphotericin B Nephrotoxicity Defined Using Newer Acute Kidney Injury Diagnostic Criteria. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 59, n. 8, p.4759–69, 2015a.

ROGERS, M. E; CHANCE, M. L.; BATES, P. A. The role of promastigote secretory gel in the origin and transmission of the infective stage of *Leishmania mexicana* by the sandfly *Lutzomyia longipalpis*. **Parasitology**, v. 124, n. Pt 5, p. 495–507, maio 2002.

ROLLINO, C.; BELLIS, D.; BELTRAME, G.; BASOLO, B.; MONTEMAGNO, A.; BUCOLO, S. Acute renal failure in leishmaniasis. **Nephrol. Dial. Transplant**, v. 18, p. 1950-1951, 2003.

RONET, C. et al. Regulatory B cells shape the development of Th2 immune responses in BALB/c mice infected with *Leishmania major* through IL-10 production. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 184, n. 2, p. 886–94, 2010.

SABRA, R.; BRANCH, R. A. Mechanisms of amphotericin B-induced decrease in glomerular filtration rate in rats. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 35, n. 12, p. 2509–2514, 1991.

SABBISSETTI, V.; BONVENTRE, J. V. Brenner and Rector's The Kidney. **Ninth Edit ed. [s.l.] Elsevier**, p. 1016–1042, 2012

SALGADO FILHO, N.; FERREIRA, T. M. A. F.; COSTA, J. M. L. Involvement of the renal function in patients with visceral leishmaniasis (kala-azar). **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 36, p. 217-221, 2003.

SALIBA, F.; DUPONT, B. Renal impairment and amphotericin B formulations in patients with invasive fungal infections. **Med Mycol.** v. 46 p. 97–112. 2008.

SALOMON O.D, QUINTANA M.G, BEZZI G., MORAN M.L, BETBEDER E., VALDEZ D.V. *Lutzomyia migonei* as putative vector of visceral leishmaniasis in La Banda, Argentina. **Acta Trop.** v.113, n.1, p. 84-87, 2010.

SALOMON OD, Feliciangeli MD, Quintana MG, Afonso MM, Rangel EF. *Lutzomyia longipalpis* urbanisation and control. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz.** v.110, p.831-46, 2015.

SANTOS-GOMES GM, Rosa R, Leandro C, Cortes S, Rão P, Silveira H. Cytokine expression. During the out-come of canine experimental infection by *Leishmania infantum*. **Vet. Immunol Immunopathol.** v.88, p.21-30, 2002.

SANTOS-OLIVEIRA, J. R.; DA-CRUZ, A. M. Lipopolysaccharide-induced cellular activation may participate in the immunopathogenesis of visceral leishmaniasis alone or in HI coinfection. **International Journal of Microbiology**, v.4, 2012.

SAPORITO L, GIAMMANCO GM, De GRAZIA S, COLOMBA C. Visceral Leishmaniasis: host-parasite interactions and clinical presentation in the immunocompetent and in the immunocompressed host. **Int J Infect Dis.** v 17, p 572-6, 2013.

SEAMAN, J.; MERCER, A. J.; SONDORP, H. E.; HERWALDT, B. L. Epidemical visceral leishmaniasis in southern Sudan: treatment of severely debilitated under wartime conditions and with limited resources. **Ann. Intern. Med.**, v. 124, n. 7, p. 664-672, 1996.

SHAW JJ. Further thoughts on the use of the name *Leishmania [Leishmania] infantum chagasi* for the aetiological agent of American visceral leishmaniasis. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** v.101, p.57, 2006.



SHOUKRY, A.; BDEER, S. E.-A.; EL-SOKKARY, R. H. Urinary monocyte chemoattractant protein-1 and vitamin D-binding protein as biomarkers for early detection of diabetic nephropathy in type 2 diabetes mellitus. **Molecular and Cellular Biochemistry**, 2015.

SHULMAN K, Rosen S, Tognazzi K, Manseau E, Brown L. Expression of vascular permeability factor (VPF/VEGF) is altered in many glomerular diseases. **J Am Soc Nephrol** , v.7, p661-6, 1996.

SIMON, M., Grone HJ, Jöhren O, Kullmer J, Plate KH, Risau W, et al. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in human renal ontogenesis and in adult kidney. **Am J Physiol Renal Physiol** v.268, p.240-50,1995.

SIMON, M.; Rockl W, Hornig C, Grone EF, Theis H, Weich HA, et al. Receptors of vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor (VEGF/VPF) in fetal and adult human kidney: localization and [125I]VEGF binding sites. **J Am Soc Nephrol.** v.9, p.1032-44,1998.

SIROTA, Jeffrey C.; KLAWITTER, Jelena; EDELSTEIN, Charles L. Biomarkers of acute kidney injury. **Journal of toxicology**, v. 2011, 2011.

STANZANI, M.; VIANELLI, N.; CAVO, M.; MARITATI, A.; MOROTTI, M.; LEWIS, R.E. Retrospective Cohort Analysis of Liposomal Amphotericin B Nephrotoxicity in Patients with Hematological Malignancies. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy.** v. 61, p. e02651-16, 2017.

SUNDAR, Shyam et al. Failure of pentavalent antimony in visceral leishmaniasis in India: report from the center of the Indian epidemic. **Clinical Infectious Diseases**, v. 31, n. 4, p. 1104-1107, 2000.

SUNDAR, Shyam; CHATTERJEE, Mitali. Visceral leishmaniasis-current therapeutic modalities. **Indian Journal of Medical Research**, v. 123, n. 3, p. 345, 2006.

SUNDAR, S.; RAI, M. Laboratory diagnosis of visceral leishmaniasis. **Clin Diagn. Lab. Immunol.**, v. 9, p. 951-958, 2002.

SUNDAR, S.; CHAKRAVARTY, J.; AGRAWAL, D.; SHAH, A.; AGRAWAL, N.; RAI, M. Safety of a pre-formulated amphotericin B lipid emulsion for the treatment of Indian kala-azar. **Trop. Med. and Intern. health**, v. 13, p. 1208-1212, 2008.

SAWAYA, B.; BRIGGS, J.; SCHNERMANN, J. Amphotericin B nephrotoxicity: the adverse consequences of altered membrane properties. **Journal of the American Society of Nephrology...**, v. 6, n. 2, p. 154–164, 1995.

SAWAYA, B. P. et al. Direct vasoconstriction as a possible cause for amphotericin B-induced nephrotoxicity in rats. **Journal of Clinical Investigation**, v. 87, n. 6, p. 2097–2107, 1991.

STEINMETZ, P. R.; LAWSON, L. R. Defect in urinary acidification induced in vitro by amphotericin B. **Journal of Clinical Investigation**, v. 49, n. 3, p. 596–601, 1970.

TARABRA, E. et al. Effect of the Monocyte Chemoattractant Protein-1 / CC Chemokine Receptor 2 System on Nephritin Expression in. **Diabetes**, v. 58, n. September, p. 2109–2118,

2009.

TAKAHISATYANO, Y. et al. Amphotericin B-induced renal tubular cell injury is mediated by Na<sup>+</sup> influx through ion-permeable pores and subsequent activation of mitogen-activated protein kinases and elevation of intracellular Ca<sup>2+</sup> concentration. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 4, p. 1420–1426, 2009.

TESCH, Greg H. Review: Serum and urine biomarkers of kidney disease: A pathophysiological perspective. **Nephrology**, v. 15, n. 6, p. 609-616, 2010

THOMAS, S, Vanuystel J, Gruden G, Rodriguez V, Burt D, Gnudi L, et al. Vascular endothelial growth factor receptors in human mesangium in vitro and in glomerular disease. **J Am Soc Nephrol**. v.11 p.1236-43, 2000.

TRAVI BL, Montoya J, Gallego J, Jaramillo C, Llano R, Velez ID. Bionomics of *Lutzomyia evansi* (Diptera: Psychodidae) vector of visceral leishmaniasis in northern Columbia. **J Med Entomol**.v.33, n.3, p.278-85, 1996.

VAN GRIENSVEN, J.; DIRO, E. Visceral Leishmaniasis. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 26, n. 2, p. 309–322, 2012.

VAIDYA, Vishal S.; FERGUSON, Michael A.; BONVENTRE, Joseph V. Biomarkers of acute kidney injury. **Annual review of pharmacology and toxicology**, v. 48, p. 463, 2008.

WAIKAR, S. S.; SABBISSETTI, V. S.; BONVENTRE, J. V. Normalization of urinary biomarkers to creatinine during changes in glomerular filtration rate. **Kidney International**, v. 78, n. 5, p. 486–494, 2010.

WASUNG, M. E.; CHAWLA, L. S.; MADERO, M. Biomarkers of renal function , which and when ? **Clinica Chimica Acta**, v. 438, n. 1, p. 350–357, 2015

WERNECK, G. L.; BATISTA, M. S.; GOMES, J. R.; COSTA, C. H. Prognostic factors for death from visceral leishmaniasis in Teresina, Brazil. **Infection**, v. 3, p. 174-177, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Leishmaniasis: epidemiological situation. Disponível em: <<http://www.who.int/leishmaniasis/burden/en/>>.

WHO. *Third WHO report on neglected diseases: Investing to overcome the global impact of neglected tropical diseases*. World Health Organization 191 (2015). doi:ISBN 978 92 4 156486 1

XU, P.-C. et al. Urinary kidney injury molecule-1 in patients with IgA nephropathy is closely associated with disease severity. **Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association**, v. 26, n. 10, p. 3229–36, 2011.

ZHANG, P. L. et al. Kidney injury molecule-1 expression in transplant biopsies is a sensitive measure of cell injury. **Kidney international**, v. 73, n. 5, p. 608– 14, 2008

## APÊNDICE 1

UFC - UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO CEARÁ /



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** AVALIAÇÃO DA PERFORMANCE DE NOVOS BIOMARCADORES RENAIIS COMO PREDITORES DE LESÃO RENAL AGUDA NOS PACIENTES EM USO DE ANFOTERICINA B E ANTIMONIATO DE MEGLUMINA

**Pesquisador:** GABRIELA FREIRE BEZERRA MOREIRA

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 61488016.8.0000.5054

**Instituição Proponente:** Departamento de Fisiologia e Farmacologia - Universidade Federal do

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 1.887.614

**Apresentação do Projeto:**

Trata-se de um projeto de dissertação onde serão acompanhados pacientes internados no Hospital Universitário Walter Cantídio e no Hospital São José que estejam com leishmaniose visceral e em tratamento com anfotericina B ou antimoniato de meglumina. Será realizada a avaliação de novos biomarcadores renais como preditores de lesão renal aguda induzida pelo uso de anfotericina B e antimoniato de meglumina de forma mais mais precoce do que os que atualmente são usados. Será utilizado urina antes do tratamento, no início, meio e fim do tratamento e também soro do paciente quando forem solicitados exames de rotina desses pacientes internados.

**Objetivo da Pesquisa:**

**Geral:** Avaliar o papel de novos biomarcadores renais em prever a lesão renal aguda induzida pelo uso de anfotericina B e antimoniato de meglumina.

**Específicos:**

- Avaliar a função renal de pacientes durante o uso de anfotericina B e antimoniato de meglumina.
- Quantificar os níveis de NGAL sérico e urinário, KIM-1 urinário, TIMP-2 urinário e IGFBP-7 urinário nos

**Endereço:** Rua Cel. Nunes de Melo, 1000

**Bairro:** Rodolfo Teófilo

**UF:** CE

**Telefone:** (85)3366-8344

**CEP:** 60.430-275

**Município:** FORTALEZA

**E-mail:** [compe@ufc.br](mailto:compe@ufc.br)

## APÊNDICE 2

UFC - HOSPITAL  
UNIVERSITÁRIO WALTER  
CANTÍDIO DA UNIVERSIDADE



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** AVALIAÇÃO DA PERFORMANCE DE NOVOS BIOMARCADORES RENAIIS COMO PREDITORES DE LESÃO RENAL AGUDA NOS PACIENTES EM USO DE ANFOTERICINA B E ANTIMONIATO DE MEGLUMINA

**Pesquisador:** GABRIELA FREIRE BEZERRA MOREIRA

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 61488016.8.3002.5045

**Instituição Proponente:** Departamento de Fisiologia e Farmacologia - Universidade Federal do

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.956.798

#### Apresentação do Projeto:

Este é um projeto de dissertação de mestrado onde serão acompanhados pacientes internados no Hospital Universitário Walter Cantídio e no Hospital São José que estejam com leishmaniose visceral e em tratamento com anfotericina B ou antimoniato de meglumina. Será realizada a avaliação de novos biomarcadores renais como preditores de lesão renal aguda induzida pelo uso de anfotericina B e antimoniato de meglumina de forma mais precoce do que os que atualmente são usados. Será utilizado para análise urina antes, no início, meio e no fim do tratamento e também soro do paciente quando forem solicitados exames de rotina desses pacientes internados. O orçamento é de R\$ 6.566,00 e prevê término para julho de 2018.

#### Objetivo da Pesquisa:

**Geral:** Avaliar o papel de novos biomarcadores renais em prever a lesão renal aguda induzida pelo uso de anfotericina B e antimoniato de meglumina.

#### Específicos:

- Avaliar a função renal de pacientes durante o uso de anfotericina B e antimoniato de meglumina.
- Quantificar os níveis de NGAL sérico e urinário, KIM-1 urinário, TIMP-2 urinário e IGFBP-7

**Endereço:** Rua Capitão Francisco Pedro, nº 1290

**Bairro:** Rodolfo Teófilo

**CEP:** 60.430-370

**UF:** CE

**Município:** FORTALEZA

**Telefone:** (85)3366-8813

**Fax:** (85)3261-4981

**E-mail:** cephuwc@huwc.ufc.br

## APÊNDICE 3

HOSPITAL SÃO JOSÉ DE  
DOENÇAS INFECCIOSAS - HSJ  
/ SECRETARIA DE SAÚDE DE



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** AVALIAÇÃO DA PERFORMANCE DE NOVOS BIOMARCADORES RENAIIS COMO PREDITORES DE LESÃO RENAL AGUDA NOS PACIENTES EM USO DE ANFOTERICINA B E ANTIMONIATO DE MEGLUMINA

**Pesquisador:** GABRIELA FREIRE BEZERRA MOREIRA

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 61488016.8.3001.5044

**Instituição Proponente:** Departamento de Fisiologia e Farmacologia - Universidade Federal do

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.986.252

#### Apresentação do Projeto:

Trata-se de uma pesquisa onde serão acompanhados pacientes internados no Hospital universitário walter cantídio e no Hospital são josé que estejam com leishmaniose visceral e estejam em tratamento com anfotericina B ou antimoniato de meglumina. Será coletado a urina dos pacientes que assinarem o Termo de consentimento livre e esclarecido. Urina antes do tratamento, no início, meio e fim do tratamento, para a avaliação de novos biomarcadores mais precoces do que os que atualmente são usados. Será utilizado também soro do paciente quando forem solicitados exames de rotina desses pacientes internados. Os novos biomarcadores renais (NGAL, KIM-1, TIMP-2 e IGFBP-7) serão quantificados nas amostras biológicas dos pacientes através de ensaio imunoenzimático (ELISA).

#### Objetivo da Pesquisa:

**Objetivo Primário:**

Avaliar o papel de novos biomarcadores renais em predirer a lesão renal aguda induzida pelo uso de anfotericina B e antimoniato de meglumina.

**Objetivo Secundário:**

- Avaliar a função renal de pacientes durante o uso de anfotericina B e antimoniato de meglumina.-  
Quantificar os níveis de NGAL sérico e urinário, KIM-1 urinário, TIMP-2 urinário e IGFBP-7

**Endereço:** Rua Nestor Barbosa, 315

**Bairro:** Parquetândia

**CEP:** 66.455-610

**UF:** CE

**Município:** FORTALEZA

**Telefone:** (85)3492-7880

**Fax:** (85)3101-2319

**E-mail:** malmedeiros@hotmail.com

## APÊNDICE 4

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TÍTULO DA PESQUISA: "AVALIAÇÃO DA PERFORMANCE DE NOVOS BIOMARCADORES RENAIIS COMO PREDITORES DE LESÃO RENAL AGUDA NOS PACIENTES EM USO DE ANFOTERICINA B E ANTIMONIATO DE MEGLUMINA"

PESQUISADOR(A) RESPONSÁVEL: Dra Gabriela Freire Bezerra Moreira

Prezado(a) Colaborador(a),

Você está sendo convidado(a) a participar desta pesquisa que irá investigar a ocorrência de problemas nos rins de pessoas com leishmaniose visceral (calazar), causada pelo uso dos medicamentos para tratar essa infecção.

**1.PARTICIPAÇÃO NA PESQUISA:** Ao participar desta pesquisa você irá realizar alguns exames laboratoriais, por meio da coleta de sangue e urina, para a pesquisa de alterações no funcionamento de seus rins. A coleta de sangue e urina será realizada pelos funcionários do laboratório do hospital no qual você é atendido, da mesma maneira em que são realizados seus exames de rotina. Os prontuários serão consultados para a obtenção de maiores informações.

Lembramos que a sua participação é voluntária, você tem a liberdade de não querer participar, e pode desistir, em qualquer momento, mesmo após ter iniciado o(a) os(as) (ENTREVISTA, AVALIAÇÕES, EXAMES ETC.) sem nenhum prejuízo para você.

**2.RISCOS E DESCONFORTOS:** Os procedimentos utilizados (coleta de sangue e urina) para exame poderão trazer algum desconforto como dor no local da entrada da agulha para a coleta de sangue e sangramento na hora da coleta de sangue. O tipo de procedimento apresenta um risco mínimo, que será reduzido pelo funcionário do hospital que irá realizar a coleta, uma vez que o mesmo deverá ser um profissional experiente na área e irá minimizar ao máximo o risco destas complicações.

**3.BENEFÍCIOS:** Os benefícios esperados com o estudo são no sentido de detectar alguma alteração de forma precoce nos rins, o que ajudará na descoberta de novos biomarcadores renais mais sensíveis do que os que atualmente são utilizados.

**4.FORMAS DE ASSISTÊNCIA:** Se você precisar de alguma orientação ou se sentir prejudicado por causa da coleta de sangue ou urina você poderá procurar o pesquisador responsável: Dra. Gabriela Freire Bezerra Moreira. Telefone: (88) 999519298

**5.CONFIDENCIALIDADE:** Todas as informações que o(a) Sr.(a) nos fornecer ou que sejam conseguidas por exames serão utilizadas somente para esta pesquisa. Seus dados ficarão em segredo e o seu nome não aparecerá em lugar nenhum das fichas de avaliação nem quando os resultados forem apresentados.

**6.ESCLARECIMENTOS:** Se tiver alguma dúvida a respeito da pesquisa e/ou dos métodos utilizados na mesma, pode procurar a qualquer momento o pesquisador responsável.

Nome do pesquisador responsável: GABRIELA FREIRE BEZERRA MOREIRA Endereço: Rua Capitão Francisco Pedro 1210 Telefone para contato: (88) 999519298 Horário de atendimento: horário comercial.
---

Se você tiver alguma consideração ou dúvida, sobre a sua participação na pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFC/PROPESQ

Comitê de Ética em Pesquisa da UFC/PROPESQ  
Rua Coronel Nunes de Melo, 1000 - Rodolfo Teófilo  
Telefone para contato: 3366-8344/3366-8346.  
Horário: 08:00-12:00 horas de segunda a sexta-feira).

O CEP/UFC/PROPESQ é a instância da Universidade Federal do Ceará responsável pela avaliação e acompanhamento dos aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos.

**7.RESSARCIMENTO DAS DESPESAS:** Caso o(a) Sr.(a) aceite participar da pesquisa, não receberá nenhuma compensação financeira.

**8.CONCORDÂNCIA NA PARTICIPAÇÃO:** Se o(a) Sr.(a) estiver de acordo em participar deverá preencher e assinar o Termo de Consentimento Pós-esclarecido que se segue, e receberá uma via deste Termo.

O **sujeito de pesquisa** ou seu representante legal, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

O **pesquisador responsável** deverá, da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

**CONSENTIMENTO PÓS-INFORMADO**

O abaixo assinado \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ anos,  
RG: \_\_\_\_\_, declara que é de livre e espontânea vontade que está  
como participante de uma pesquisa. Eu declaro que li cuidadosamente este Termo de  
Consentimento Livre e Esclarecido e que, após sua leitura, tive a oportunidade de  
fazer perguntas sobre o seu conteúdo, como também sobre a pesquisa, e recebi  
explicações que responderam por completo minhas dúvidas. E declaro, ainda, estar  
recebendo uma via assinada deste termo.

Fortaleza-Ce., \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do participante  
Data

\_\_\_\_\_  
Ou Representante legal  
Data



Impressão dactiloscópica

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Pesquisador  
Data

\_\_\_\_\_  
Assinatura da testemunha  
Data

\_\_\_\_\_  
Assinatura de quem aplicou o TCLE  
Data