



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

MICHELLE JACINTHA CAVALCANTE OLIVEIRA

**ESTUDO DA FUNÇÃO TÚBULO-GLOMERULAR E INFLAMAÇÃO RENAL EM
PACIENTES COM LEISHMANIOSE VISCERAL**

FORTALEZA

2014

MICHELLE JACINTHA CAVALCANTE OLIVEIRA

**ESTUDO DA FUNÇÃO TÚBULO-GLOMERULAR E INFLAMAÇÃO RENAL
EM PACIENTES COM LEISHMANIOSE VISCERAL**

Tese apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Ciências Médicas. Área de concentração: Clínica Médica.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Elizabeth De Francesco Daher.

FORTALEZA

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências da Saúde

-
- O48e Oliveira, Michelle Jacintha Cavalcante.
Estudo da função túbulo-glomerular e inflamação renal em pacientes com leishmaniose visceral/ Michelle Jacintha Cavalcante Oliveira. – 2014.
101 f : il.
- Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas, Fortaleza, 2014.
Área de concentração: Clínica Médica.
Orientação: Prof.^a Dr.^a Elizabeth De Francesco Daher
1. Leishmaniose Visceral. 2. Quimiocina CCL2. 3. Malondialdeído. I. Título.

CDD 616.9364

MICHELLE JACINTHA CAVALCANTE OLIVEIRA

**ESTUDO DA FUNÇÃO TÚBULO-GLOMERULAR E INFLAMAÇÃO RENAL
EM PACIENTES COM LEISHMANIOSE VISCERAL**

Tese apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Ciências Médicas. Área de concentração: Clínica Médica.

Aprovada em: ___/___/____.

BANCA EXAMINADORA

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

Prof. Dr. Alexandre Braga Libório
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof.^a Dr.^a Sônia Leite da Silva
Universidade de Fortaleza (UNIFOR)

Prof. Dr. Marcio Dantas
Universidade de São Paulo (USP)

Prof.^a Dr.^a Maria Eliete Pinheiro
Universidade Federal de Alagoas (UFAL)

*Ao meu amado esposo Eduardo pela
dedicação, amor e pelo seu incentivo
constante em nossas vidas.*

*À nossa filha Mariana, um verdadeiro
presente em nossas vidas.*

*À minha querida mãe Mirtes pelo exemplo
em tudo sempre.*

AGRADECIMENTOS

A Deus inteligência suprema causa primária de todas as coisas.

À Professora Doutora Elizabeth De Francesco Daher, pela sua orientação segura, seu entusiasmo contagiante com a pesquisa clínica e sobretudo pela sua amizade e imenso prazer de conviver ao seu lado nessa caminhada.

À Professora Doutora Alice Maria Costa Martins do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, pelo incentivo e colaboração fundamentais para a realização dessa pesquisa.

À Professora Doutora Lúcia da Conceição Andrade, ao Professor Doutor Antônio Carlos Seguro, à Doutora Talita Rocha Sanches e todos aqueles do Laboratório de Investigação Médica 12 (LIM-12) da Universidade de São Paulo (USP) pela oportunidade de parceria e aprendizado através da realização de parte dos dados da pesquisa.

Ao Professor Hermano Alexandre Lima Rocha do Departamento de Saúde Comunitária da Faculdade de Medicina pela atenção e competência dedicada à análise estatística dos dados, em busca da excelência.

Ao Professor Doutor Geraldo Bezerra da Silva Júnior da Universidade de Fortaleza (UNIFOR), pela oportunidade de compartilhar o curso de Doutorado e ver crescer esse projeto de pesquisa e pela sua amizade e apoio.

Ao farmacêutico e Mestre em Farmacologia Gdayllon Cavalcante Meneses da Universidade Federal do Ceará (UFC), pelo apoio e disponibilidade fundamentais na realização dos exames dos pacientes.

Às acadêmicas de Medicina da Universidade Federal do Ceará, Aline Sampaio, Bárbara Montenegro e Marília Alves pela dedicação e apoio irrestritos na coleta de dados.

À Professora Doutora Geanne Matos de Andrade e à Professora Doutora Flávia Almeida Santos, ambas exemplos de atuação à frente da coordenação do

Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, e às secretárias do Doutorado em Ciências Médicas Ivone Mary Fontenele de Sousa e Rita de Cássia de Almeida Antunes, pelo suporte, carinho e amizade, além da atenção que sempre dedicaram em todo período do curso. À Leida por todos os momentos corridos compartilhados e o auxílio indispensável na revisão desse texto.

À direção do Hospital São José de Doenças Infecciosas (HSJ) e ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) envolvendo seres humanos e também à direção e Centro de Estudos do HGWA que autorizaram a realização desse projeto nestes importantes centros de diagnóstico e terapêutica do Estado.

Aos funcionários das instituições hospitalares, especialmente ao Dr. Guilherme Hein do Hospital São José de Doenças Infecciosas, onde foram realizadas as coletas pela cooperação indispensável na realização desse projeto.

À minha família, base sólida de apoio e carinho, em todos os momentos, em especial à Ana (minha querida irmã), Eduardo, Hugo, Eduardo Jorge, Irailda, Francisco, Iukimi, Paulo e Yoshie. À minha amada tia-mãe Dilma (*in memorian*) por todo apoio e carinho que dedicou e a meu pai Nelson (*in memorian*) pelas oportunidades de aprendizado em pequenos e bons momentos.

RESUMO

Introdução. O objetivo desse estudo é investigar as alterações túbulo-glomerulares e avaliar marcadores urinários nos pacientes com LV. **Métodos.** Foi realizado estudo prospectivo com 16 pacientes com LV antes do tratamento com antimonial pentavalente, em acompanhamento na cidade de Fortaleza, Ceará, Brasil. Testes de concentração e acidificação urinárias foram realizados. Foram calculadas taxa de filtração glomerular (TFG), fração de excreção de sódio (FE_{Na}), transporte transtubular de potássio (TTKG) e transporte de água livre de solutos (T_{cH_2O}). Avaliou-se a proteinúria. O grupo LV pré-tratamento foi comparado com 13 voluntários sadios (grupo controle) e cinco pacientes foram reavaliados no pós-tratamento. Os transportadores aquaporina 2 (AQP2), canal de K^+ apical (ROMK) e pendrina foram quantificados pela pesquisa de exossomas na urina. A proteína quimiotática de monócitos (MCP-1) e o malondialdeído (MDA) foram quantificados na urina. **Resultados.** Déficit de concentração urinária foi encontrado em todos os pacientes antes (100%) e em cinco dos quatro casos reavaliados (80%) depois do tratamento. A osmolaridade urinária média foi significativamente menor nos pacientes LV pré-tratamento quando comparado ao controle (516 ± 113 vs. 743 ± 189 mOsm/L, $p < 0,001$) e não houve diferença entre os pacientes reavaliados no pós-tratamento. Déficit de acidificação foi detectado em nove casos (56,2%) antes e 2 (40%) após o tratamento, considerando o pH urinário $> 5,5$ após sobrecarga de $CaCl_2$. A proteinúria mostrou-se significativamente maior no grupo LV pré-tratamento ($250,6 \pm 375,5$ vs. $83,7 \pm 49,2$ mg/24h, $p = 0,022$) regredindo após o tratamento ($268,1 \pm 259,4$ vs. $113,3 \pm 50,1$ mg/24h, $p = 0,043$). FE_{Na} foi mais elevada no grupo LV pré-tratamento. A pesquisa dos exossomas urinários AQP2 não mostrou diferença significativa em relação ao grupo controle (128 ± 88 vs. 100 ± 40 , $p = 0,41$), assim como a do canal ROMK (122 ± 42 vs. 100 ± 27 , $p = 0,34$) e da pendrina ($105 \pm 7,5$ vs. $100 \pm 13\%$ $p = 0,48$). A dosagem de MCP-1 e MDA urinários foram mais elevadas nos pacientes pré-tratamento quando comparado aos controles (374 ± 359 vs. 42 ± 29 pg/mg-Cr, $p = 0,002$ e $5,4 \pm 2,6$ vs. $2,0 \pm 0,8$ μ mol/mL, respectivamente). **Conclusão.** Pacientes com LV apresentam déficit de concentração e acidificação urinárias antes e 90 dias após o tratamento e evidências de inflamação renal incipiente.

Palavras-chave: Leishmaniose Visceral. Quimiocina CCL2. Malondialdeído.

ABSTRACT

Background. The aim of this study is to investigate abnormalities in glomerular and tubular function in VL patients. **Methods.** This is a prospective study with 16 VL patients before treatment with pentavalent antimony, in hospital monitoring, in Fortaleza, Ceará, Brazil. Urinary concentration and acidification tests were performed after a 12h period of water and food deprivation using desmopressin and calcium chloride (CaCl_2). Glomerular filtration rate (GFR) Fractional excretion of sodium (FE_{Na}), transtubular potassium gradient (TTKG) and solute free water reabsorption (TcH_2O) were calculated. Microalbuminuria and proteinuria were measured. The VL group pre-treatment was compared to a group of 13 healthy volunteers (control group) and 5 VL patients were revalued after treatment. Aquaporin 2 (AQP2), renal outer medullary K^+ channels (ROMK) and pendrin were quantified through exosomes search in urine. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and malondialdehyde (MDA) were quantified in urine. **Results.** Urinary concentration deficit was found in all VL patients before (100%) and 4 in 5 cases (80%) after treatment. Urinary osmolality was significantly lower in VL patients pre-treatment compared to control group (516 ± 113 vs. 743 ± 189 mOsm/L, $p < 0,001$, after 12h period water deprivation and desmopressin). There was no difference after treatment reevaluation. Urinary acidification deficit was found in 9 cases before (56,22%) and 2 (40%) after treatment, considering urinary pH > 5.5 after CaCl_2 test. GRF was similar between the groups. Proteinuria was significantly higher in VL patients pré-treatment ($250,6 \pm 375,5$ vs. $83,7 \pm 49,2$ mg/24h, $p = 0,022$) and presented important regression after reevaluation ($268,1 \pm 259,4$ vs. $113,3 \pm 50,1$, $p = 0,043$). FE_{Na} was higher in VL group when compared to control group. The search for AQP2 (128 ± 88 vs. $100 \pm 40\%$, $p = 0,41$), ROMK (122 ± 42 vs. $100 \pm 27\%$, $p = 0,34$) and pendrin ($105 \pm 7,5$ vs. $100 \pm 13\%$ $p = 0,48$) were not significant. Urinary MCP-1 showed significant difference between VL patients before treatment and control group (374 ± 359 vs. 42 ± 29 pg/mg-Cr, $p = 0,002$) well as urinary MDA (5.4 ± 2.6 vs. 2.0 ± 0.8 $\mu\text{mol/mL}$). **Conclusion.** VL patients present persistent urinary concentration and acidification deficit in 90 days period after treatment and present inflammation and incipient renal damage although other classical markers such as creatinine are not changed.

Keywords: Visceral Leishmaniasis. Chemokine CCL2. Malondialdehyde.

LISTA DE FIGURAS

1	Distribuição do número de casos de leishmaniose visceral entre 2005-2009	23
2	Casos de leishmaniose visceral notificados na cidade de Fortaleza e no Estado do Ceará, no período de 2001 a 2010	24
3	Fisiopatologia do acometimento renal na leishmaniose visceral	33
4	Distribuição dos pacientes incluídos no estudo	48
5	Prevalência de déficit de concentração e acidificação urinária, alterações da taxa de filtração glomerular e microalbuminúria entre os pacientes LV pré-tratamento	57
6	Aquaporina 2 (AQP2) na fração de exossomas urinários pelo <i>western blotting</i> em pacientes com LV e controles sadios	62
7	Canal de potássio apical (ROMK) na fração de exossomas urinários pelo <i>western blotting</i> em pacientes com LV e controles sadios	63
8	Pendrina na fração de exossomas urinários pelo <i>western blotting</i> em pacientes com LV e controles sadios	63

LISTA DE TABELAS

1	Características clínicas e epidemiológicas dos pacientes com leishmaniose visceral (LV) pré-tratamento <i>versus</i> grupo controle	50
2	Características laboratoriais (hemograma) dos pacientes com leishmaniose visceral (LV) pré-tratamento <i>versus</i> grupo controle	52
3	Avaliação da função renal do grupo LV pré-tratamento <i>versus</i> grupo controle com relação à creatinina, taxa de filtração glomerular e proteinúria	53
4	Avaliação dos eletrólitos séricos e urinários do grupo LV pré-tratamento <i>versus</i> grupo controle	54
5	Avaliação da capacidade de concentração e acidificação urinárias no grupo LV pré-tratamento <i>versus</i> controle	56
6	Comparação do grupo LV pré-tratamento <i>versus</i> controle com relação aos déficits de concentração e acidificação urinárias	57
7	Comparação da função renal no grupo de pacientes avaliados antes e após o tratamento com relação à creatinina, taxa de filtração glomerular e proteinúria	59
8	Avaliação de eletrólitos urinários no grupo de pacientes avaliados antes e após o tratamento	59
9	Comparação da capacidade de concentração e acidificação urinárias entre os pacientes avaliados antes e após o tratamento	61
10	Resultados dos testes de concentração e acidificação urinárias dos cinco pacientes antes e após o tratamento	61
11	Resultados individuais do MCP-1 e MDA urinários em pacientes com LV antes do tratamento e do grupo controle	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADH	Hormônio antidiurético
ALT	alanina aminotransferase
AQP2	Aquaporina 2
AST	aspartato aminotransferase
CaCl ₂	cloreto de cálcio
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa
CKD-EPI	<i>Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration</i>
DATASUS	Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
ELISA	<i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i>
FE _K	fração de excreção de potássio
FE _{Na}	fração de excreção de sódio
Hb	hemoglobina
HCO ₃	bicarbonato
HGWA	Hospital Geral Dr. Waldemar Alcântara
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HSJ	Hospital São José de Doenças Infecciosas
Htc	hematócrito
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
LRA	lesão renal aguda
LV	Leishmaniose visceral
MCP-1	Proteína quimiotática de monócitos-1
MDA	Malondialdeído

MS	Ministério da Saúde
NH ₄ Cl	cloreto de amônio
NHE3	sódio/hidrogênio isoforma 3
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAD	pressão arterial diastólica
PAS	pressão arterial sistólica
pCO ₂	Pressão parcial de CO ₂
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
P _{cr}	creatinina plasmática
PCR	reação de cadeia de polimerase
P _{Osm}	osmolaridade plasmática
P _{Ur}	ureia plasmática
RBP	proteína ligadora de retinol
RIFI	reação de imunofluorescência indireta
RIFLE	<i>Risk, Injury, Failure, Loss, ESRD</i>
rK-39	recombinante K-39
RMF	região metropolitana de Fortaleza
ROMK	renal outer medullary potassium channel
Sb	antimônio
S _{Cl}	cloro sérico
S _K	potássio sérico
S _{Mg}	magnésio sérico
S _{Na}	sódio sérico
S _P	fósforo sérico
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
T0	tempo zero

T4	tempo quatro
TcH ₂ O	transporte de água livre de solutos
TFG	taxa de filtração glomerular
Th-2	T auxiliares do tipo 2
TTKG	transporte transtubular de potássio
UFC	Universidade Federal do Ceará
U _K	potássio urinário
U _{Na}	sódio urinário
U _{Osm}	osmolaridade urinária
U _{Osm} / P _{Osm}	osmolaridade urinária e osmolaridade plasmática
U _{pH} T0	pH urinário no T0
U _{pH} T4	pH urinário no T4

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1	Histórico	19
2.2	Etiologia	21
2.3	Epidemiologia	22
2.4	Patogenia	24
2.5	Quadro clínico e laboratorial	26
2.6	Diagnóstico	28
2.7	Tratamento	30
2.8	Acometimento renal na leishmaniose visceral	32
2.9	Exossomas urinários	35
2.10	Proteína quimiotática de monócitos (MCP-1) e lesão renal	37
2.11	Malondialdeído	38
3	OBJETIVOS	39
3.1	Geral	39
3.2	Específicos	39
4	METODOLOGIA	40
4.1	Tipo de estudo.	40
4.2	Locais e período do estudo	40
4.3	Aspectos éticos	40
4.4	Critérios de inclusão	40
4.5	Critérios de exclusão	41
4.6	População do estudo	41
4.7	Parâmetros estudados	41
4.8	Teste de acidificação urinária	44

4.9	Teste de concentração urinária	45
4.10	Exossomas urinários	45
4.11	Proteína quimiotática de monócitos e malondialdeído urinários	46
5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	47
6	RESULTADOS	48
6.1	Características epidemiológicas e clínicas da população estudada	48
6.2	Avaliação laboratorial pré-tratamento	51
6.3	Avaliação da função renal pré-tratamento (creatinina, taxa de filtração glomerular e proteinúria)	52
6.4	Avaliação dos eletrólitos séricos e urinários pré-tratamento	53
6.5	Capacidade de concentração urinária pré-tratamento	55
6.6	Capacidade de acidificação urinária pré-tratamento	55
6.7	Reavaliação da função renal (creatinina, taxa de filtração glomerular e proteinúria) e eletrólitos urinários pós-tratamento	58
6.8	Capacidade de concentração e acidificação urinária pós-tratamento	60
6.9	Pesquisa de exossomas urinários	62
6.10	Pesquisa da proteína quimiotática de monócitos e malondialdeído urinários antes do tratamento	64
7	DISCUSSÃO	65
8	CONCLUSÕES	77
	REFERÊNCIAS	79
	ANEXOS	91

1 INTRODUÇÃO

A Leishmaniose visceral (LV) é uma doença de elevada incidência e ampla distribuição no Brasil, com 1,9 casos por 100.000 habitantes. Diversos aspectos biológicos, ambientais e sociais contribuem para a crescente urbanização da moléstia, que tem assumido uma importância cada vez maior como problema de saúde pública (MARZOCHI *et al.*, 1994; GONTIJO; MELO, 2004).

Trata-se de uma zoonose, endêmica em áreas tropicais ao redor do mundo, cujo agente etiológico é a *Leishmania (L.) chagasi* e o principal vetor responsável pela transmissão nas Américas é a *Lutzomyia longipalpis*; entretanto no Mato Grosso, Brasil, há evidências da transmissão através da *Lutzomyia cruzi* (MISSAWA *et al.*, 2011).

A doença na região Nordeste do Brasil é de grande importância e diversas cidades como Maranhão e Teresina já demonstraram exemplos bem documentados do caráter reemergente da LV (ARIAS, 1996). O Estado do Ceará já demonstra preocupação com o tema desde a década de 50, quando trabalhos iniciais já delineavam o perfil da moléstia e sugeriam medidas de controle em todas as esferas clínicas e ambientais (ALENCAR, 1961).

Entre todos os indivíduos infectados, apenas uma pequena parcela desenvolve os sinais e sintomas da doença, que incluem, principalmente, febre de longa duração, perda ponderal, astenia, adinamia e alterações laboratoriais como anemia, podendo evoluir para óbito 90% dos casos mais graves não tratados (BRASIL, 2010).

As faixas etárias mais extremas são as mais acometidas apresentando, em estágios mais avançados da doença, um caráter consuntivo importante (MARZOCHI *et al.*, 1981).

A *Leishmania* é um parasito intracelular obrigatório, que ocasiona uma resposta imunológica com predomínio de linfócitos T auxiliares do tipo 2 (Th-2) e inadequada produção de interleucina-2 e gama-interferon em fases mais avançadas da doença, alterações estas que são reversíveis com o tratamento (CARVALHO; BADARÓ; REED, 1985).

O rim é um órgão com intensa vascularização e, por isso, bastante susceptível a doenças infecciosas tropicais. O acometimento renal nas doenças tropicais, incluindo a leishmaniose visceral, tem sido estudado nos últimos anos e vem sendo atribuído especialmente a alterações inflamatórias decorrentes do parasitismo. A inflamação raramente leva à fibrose e os principais mecanismos descritos que justificam a alteração de função renal são nefrite intersticial, deposição de imunocomplexos, especialmente Imunoglobulina M (IgM) e C3 na parede capilar e mesângio, e complicações decorrentes de hipovolemia. Há expansão do mesângio, presença de depósitos imunes nessa localização, conforme explicado acima, e aumento das células endoteliais (BRITO *et al.*, 1975; MANCIANTI; POLI; BIONDA, 1989; ANDRADE; ANDRADE, 1996; SALGADO-FILHO; FERREIRA; COSTA, 2003). Em decorrência de lesões túbulo-intersticiais inflamatórias os pacientes podem apresentar deficiência em processos de acidificação e concentração urinárias, assim como distúrbios eletrolíticos (LIMA VERDE *et al.*, 2007; LIMA VERDE *et al.*, 2009).

O tratamento da leishmaniose visceral é realizado com antimoniais pentavalentes (antimoniato de N-metil glucamina - Glucantime[®] e o stibogluconato de sódio - Pentostan[®]), que inibem a atividade glicolítica e a via oxidativa dos ácidos graxos das amastigotas. São drogas recomendadas para uso pela Organização Mundial de Saúde (OMS) dada sua eficácia associada ao baixo custo, especialmente os antimoniais pentavalentes, que são drogas de primeira linha no tratamento da doença. Entretanto, são medicamentos que não são isentos de relação com toxicidade renal (RODRIGUES *et al.*, 1999).

A nefrotoxicidade, especialmente naqueles pacientes com LV tratados com anfotericina B, é outro mecanismo importante de lesão renal aguda, tendo sido demonstrado inclusive relação com aumento da mortalidade nesse grupo de pacientes (OLIVEIRA, 2010).

Mais recentemente, estudo com pacientes diagnosticados com leishmaniose tegumentar americana demonstrou deficiência de concentração e acidificação urinárias provavelmente decorrentes de alterações na expressão de proteínas transportadoras de sódio e água dos túbulos renais (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

O estudo dos exossomas urinários em doenças tropicais tem surgido, nos últimos anos, como a possibilidade de uma nova ferramenta auxiliar no entendimento diagnóstico da disfunção renal. Andrade *et al.* (2007) demonstraram redução da expressão de Aquaporina 2 (AQP2) e transportador de sódio/hidrogênio isoforma 3 (NHE3) em tecido renal de hamsters infectados com leptospirose.

Além disso, outros marcadores como a proteína quimiotática de monócitos (MCP-1), têm sido utilizados com a proposta de avaliar o processo inflamatório encontrado em doenças crônicas a exemplo do diabetes mellitus, mas dificilmente em processos infecto-parasitários.

Na literatura médica vigente não há estudos que demonstrem alterações em exossomas urinários ou na proteína quimiotática de monócitos em pacientes com diagnóstico de leishmaniose visceral, sendo esses alguns dos objetivos do presente estudo, além de avaliar o comportamento da função renal túbulo-intersticial após o tratamento com antimonial pentavalente, contribuindo para melhor manejo clínico desses pacientes.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A Leishmaniose visceral (LV) é uma zoonose reemergente de ampla distribuição mundial de grande importância para as regiões tropicais e subtropicais. É considerada pela OMS como uma das doenças negligenciadas e tem nas Américas o Brasil como um país com diversas condições socioambientais perpetuadoras do ciclo complexo de transmissão da doença.

A disseminação para áreas urbanas e peri-urbanas de cidades de médio e grande porte tem sido uma característica marcante da moléstia nos últimos anos, atingindo a população mais exposta de regiões com condições sanitárias pouco favoráveis e muitas vezes com dificuldade de acesso ao tratamento adequado, o que contribui para aumento da letalidade (GONTIJO; MELO, 2004; BRASIL, 2006b).

A doença apresenta ainda outras denominações como calazar, esplenomegalia tropical, doença do cachorro, febre negra ou febre dum-dum (esses dois últimos especialmente na Índia).

2.1 Histórico

O primeiro relato da doença data de 1824 em Jessore, na Índia, quando vários médicos à época acreditavam que se tratava de uma forma virulenta da malária. Tornou-se epidêmica na região e em 1835 na Grécia, a doença foi denominada de denominada de "*ponos*" ou "*hapoplínakon*" e ficou conhecida na Índia em 1869 como "*kala-jwar*", que quer dizer febre negra, ou "*kala-azar*", pela pigmentação mais escurecida da pele das pessoas acometidas (MANSON-BAHR, 1973; MARZOCHI *et al.*, 1981; COX, 2003).

Peter Borovsky foi o primeiro a descrever um provável agente relacionado à doença, em 1898, publicando suas observações em um jornal local na Rússia. Entretanto a descoberta do parasito causador da doença ocorreu oficialmente em 1901, quando William Leishman, um médico do exército Britânico que servia na Índia, identificou um protozoário no baço de um soldado que havia falecido em decorrência de febre local conhecida como febre "Dum Dum" ou "Kala-azar". Suas anotações não foram publicadas até 1903, quando semanas antes da publicação

Charles Donovan também anunciou ter encontrado o mesmo parasito no baço de pacientes com a doença e a identificação do parasito nas duas descobertas simultaneamente foi a seguir confirmada (COX, 2003).

Leonard Rogers, em 1904, iniciou o cultivo do parasito e demonstrou que nas culturas ele era visto sob a forma flagelada. Patton, em 1907, observou as formas *leishmanias* (amastigotas) e formas *leptomonas* (promastigotas) no intestino de insetos que eram alimentados em pacientes com LV (FAUST; RUSSEL; JUNG, 1974). Em 1908, Charles Nicolle demonstrou o papel do cão como hospedeiro intermediário no ciclo da doença.

A busca pelo vetor foi mais longa, sendo apenas em 1921 que estudos experimentais realizados pelos irmãos Edouard e Etienne Sergent resultaram no encontro de provas que evidenciavam a transmissão do parasito através de insetos dípteros do gênero *Phlebotomus*. Entretanto, apenas em 1941, Adler e Ber demonstraram o modelo da infecção através do repasto sanguíneo dos insetos (COX, 2003).

No período entre 1905 a 1950 houve várias descrições da LV em diversas regiões do mundo, inclusive com endemias no norte e leste da África, em quase todo continente Asiático acometendo principalmente Índia e sul da Mongólia. Na Europa houve casos identificados na costa do Mediterrâneo, Romênia, Bulgária e Rússia (DESJEUX, 1992).

O primeiro caso de LV relatado no Brasil ocorreu em 1913 e foi descrito por Luis Migone. O paciente era um imigrante italiano que morava em Santos (SP) e, após viajar para a cidade de Boa Esperança no Mato Grosso, apresentou os sintomas da doença. Entretanto o diagnóstico foi realizado no Paraguai (ALENCAR, 1977).

Em 1953, diversos casos da doença surgiram, principalmente no Estado do Ceará, incluindo a cidade de Sobral, com relato de 174 casos. Foi, então, criada a “Campanha contra a Leishmaniose Visceral” e os estudos concentravam esforços na luta contra a transmissão da doença, sugerindo métodos de controle (ALENCAR, 1961). Na década seguinte, entre os anos de 1953 e 1965, a LV foi plenamente reconhecida como endêmica no Brasil, demonstrando grande expressividade na América Latina. Diversos relatos somaram-se aos da cidade de Sobral no Ceará,

incluindo Jacobina, na Bahia, com 31 casos e o Estado do Piauí com 45 casos (ARAGÃO, 1953; PESSOA; SILVA; FIGEREDO, 1955; ALENCAR, 1959).

Apesar das campanhas de combate à doença, esta seguiu acometendo pessoas durante décadas em nosso país e em diversas regiões do mundo, em sua maioria locais onde ainda encontra condições sociais e econômicas desfavoráveis que contribuem para sua prevalência.

2.2 Etiologia

O agente etiológico da leishmaniose visceral é um protozoário pertencente à família *Trypanosomatidae* e gênero *Leishmania*. Destacam-se as espécies *L. (L) donovani*, *L. (L) infantum* e *L. (L) chagasi* como relacionadas à doença no homem, sendo esta última a mais comumente envolvida na transmissão no Brasil (BRASIL, 2006b).

A *Leishmania* é um parasito intracelular obrigatório que se reproduz nas células do sistema fagocítico mononuclear dos mamíferos susceptíveis sob a forma aflagelada (amastigota) e sob a forma flagelada (promastigota) no tubo digestivo do vetor. No Brasil, a transmissão ocorre através da picada da fêmea de insetos flebotomíneos das espécies *Lutzomyia longipalpis* e *Lutzomyia cruzi* infectados e persiste enquanto houver parasitismo na pele ou no sangue periférico do hospedeiro (homem). Não há transmissão entre pessoas e a forma congênita é rara. Há poucos relatos de transmissão através transfusão de sangue contaminado (ELTOUM; ZIJLSTRA; ALI, 1992; GROGL; DAUGIRDA; MOOVER, 1993; SHULMAN, 1994; MEINECKE; SCHOTTELIUS; OSKAM, 1999; BRASIL, 2010).

A progressão do ciclo da doença depende de inúmeros fatores, incluindo clima, condições de moradia, oportunidade de contato com o agente vetor e com reservatórios da doença, sendo os principais o cão (*canis familiaris*) em áreas urbanas e as raposas (*Dusicyon vetulus* e *Cerdocyon thous*) e marsupiais (*Didelphis albiventris*) nos ambientes silvestres. O avanço do desmatamento tem proporcionado uma maior aproximação entre o homem e os agentes vetores e os reservatórios (DAVIDSON, 2006).

O período de incubação da doença no homem é em média de dois a seis meses, podendo variar de dez dias a vinte e quatro meses. No cão a média é de aproximadamente três a sete meses, com variação ampla entre três meses a vários anos (BRASIL, 2010).

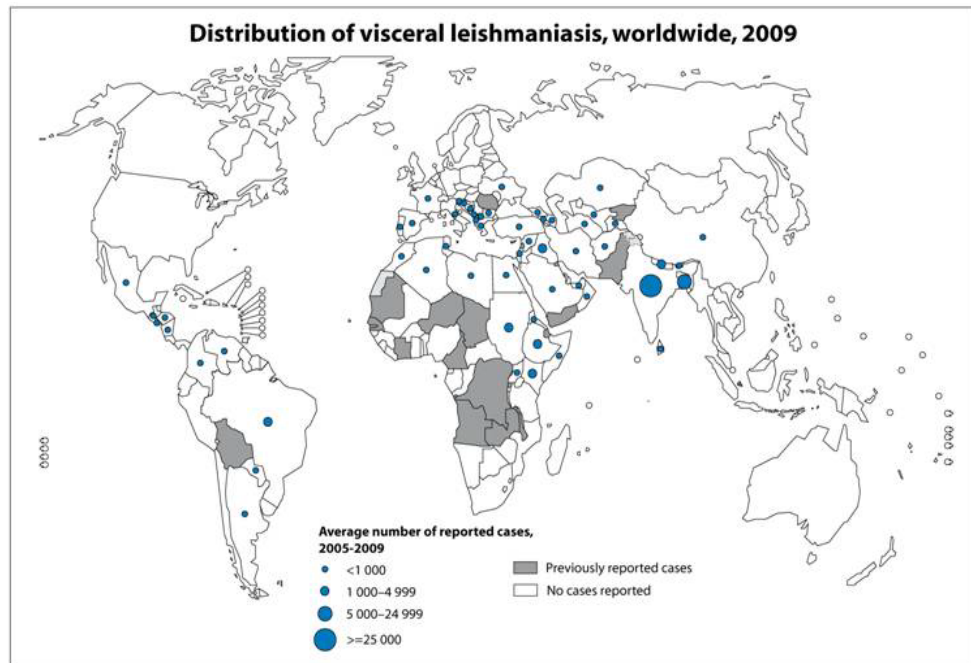
2.3 Epidemiologia

A LV acomete em torno de 200.000 a 400.000 mil pessoas por ano em 98 países, sendo que mais de 90% dos casos ocorrem em apenas seis países: Índia, Bangladesh, Sudão, Sudão Sul, Brasil e Etiópia, baseado em estimativas da OMS. Na Figura 1, observa-se a distribuição mundial da LV e a média de número de casos reportados entre 2005-2009 em alguns países.

Mais da metade dos países africanos encontram-se acometidos pela LV (WEINA *et al.*, 2004; POSTIGO, 2010). No Brasil a doença é endêmica, podendo ocorrer alguns surtos com frequência. Encontra-se distribuída em 21 unidades da federação, atingindo as cinco regiões brasileiras. No Território Nacional é uma doença de notificação compulsória conforme Lei nº 6.259, de 30 de outubro de 1975 e Portaria 1100/96, regulamentada pelo Ministério da Saúde-MS (BRASIL, 2010).

Nos últimos dez anos, a média anual de casos no Brasil foi de 3.379 casos e a incidência de 1,9 casos por 100.000 habitantes. A letalidade teve aumento importante de 61,8% entre os anos de 1994 e 2008 subindo de 3,4% para 5,5% nesse período.

Figura 1 – Distribuição do número de casos de leishmaniose visceral entre 2005-2009



The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement. © WHO 2010. All rights reserved

Data Source: World Health Organization
Map Production: Control of Neglected Tropical Diseases (NTD)
World Health Organization



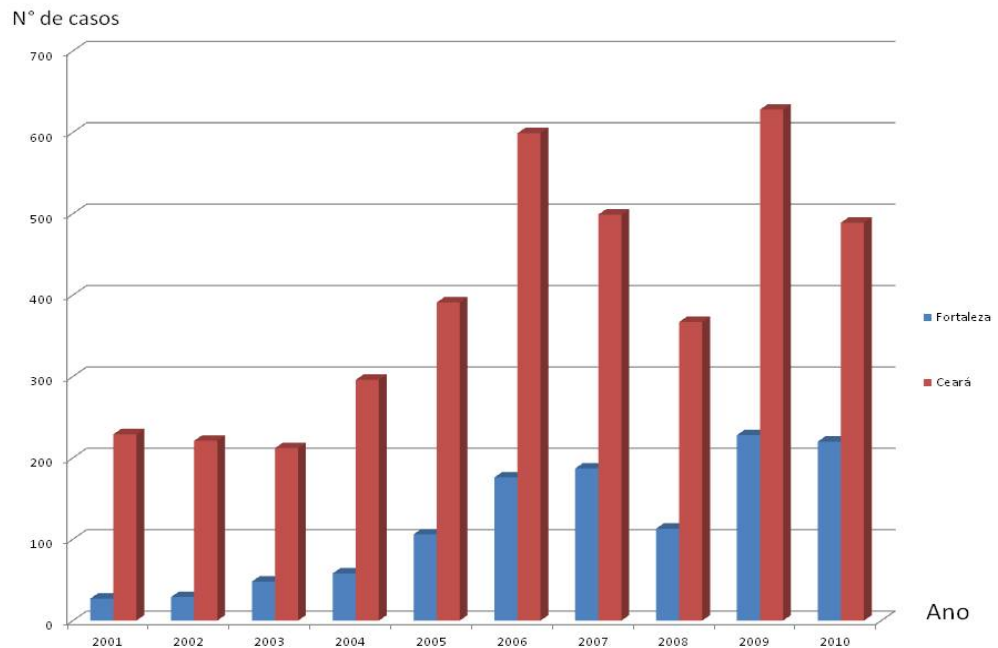
Fonte: Reprodução autorizada pela Organização Mundial da Saúde. Adaptado de: *Working to overcome the global impact of the neglected tropical diseases: first WHO report on neglected tropical diseases, 2010*. Em endereço: http://gamapsserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/Global_leishmaniasis_visceral_2009.png Data acesso: 25/08/2013.

A região Nordeste do Brasil era responsável por 90% dos casos de LV na década de 90 e à medida que a doença progrediu para outras regiões esse quadro vem mudando e atualmente esse número representa cerca de 48% dos casos do país (BRASIL, 2010).

Os Estados do Pará, Tocantins, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais e São Paulo passaram a contribuir significativamente nas estatísticas de leishmaniose visceral no Brasil (BRASIL, 2011).

De acordo com dados do Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS) do MS, o número de casos notificados de LV na cidade de Fortaleza, no ano de 2010, até a última atualização (junho de 2012), foi de 220 dos 489 casos notificados no Estado do Ceará. A Figura 2 mostra a evolução do número de casos notificados no período de 2001 a 2010 em Fortaleza e no Estado do Ceará.

Figura 2 – Casos de leishmaniose visceral notificados na cidade de Fortaleza e no Estado do Ceará, no período de 2001 a 2010



Fonte: Ministério da Saúde – DATASUS – última atualização em 30/10/2012

A doença é mais frequente entre crianças menores de dez anos e idosos. Os homens são comumente mais afetados (BRASIL, 2010). A razão de maior susceptibilidade em crianças e idosos pode ser explicada pelo estado de relativa imaturidade imunológica celular, agravado pela desnutrição, tão presente em áreas endêmicas da LV, além de maior exposição ao vetor no peridomicílio (PASTORINO, 2002; BRASIL, 2006b).

2.4 Patogenia

A leishmaniose visceral é caracterizada pela redução na resposta imune celular aos antígenos do parasito *Leishmania*, com pacientes apresentando caracteristicamente os testes intradérmicos negativos na doença. Considera-se então que a LV é um estado de imunossupressão mediado, principalmente, pela depleção de células T, acompanhada da redução de outras células como eritrócitos, plaquetas e neutrófilos (CARVALHO; BACELAR; BARRAL, 1989; SANTOS-OLIVEIRA; DA-CRUZ, 2012).

Muitos fatores foram sugeridos nas décadas anteriores e implicados nessa alteração imunológica, tais como o comprometimento da resposta de células T específicas contra antígenos do parasito *Leishmania*, ausência de reação de hipersensibilidade tardia contra esses antígenos e redução na capacidade de linfócitos T de produzir interferon γ e interleucina – 2 (CARVALHO; BACELAR; BARRAL, 1989).

O parasito *Leishmania* é intracelular obrigatório, e à medida que infecta macrófagos, essas células tornam-se incapazes de responder aos diversos mecanismos de ativação da imunidade celular, entre eles a apresentação de antígenos, diferenciação dos linfócitos T, produção de interleucinas e ativação dos macrófagos (JERONIMO; PEARSON, 1992).

Estudos anteriores já buscavam o modo pelo qual a *Leishmania* influencia o padrão de resposta da célula T, deprimindo a ativação macrofágica (CARVALHO; TEIXEIRA; JOHNSON JR., 1981; SACKS *et al.*, 1987).

Sabe-se, entretanto, que a *Leishmania* multiplica-se dentro dos macrófagos, podendo ser morta no interior dessas células quando essas são ativadas pelo interferon- γ ou diretamente pelo contato com células T CD4+, específicas. A morte do parasito decorre de mecanismos monoxidativos, intermediados pelo óxido nítrico e seus metabólitos (PERSON; SOUSA, 1992).

Estudos demonstram que esses linfócitos em pacientes com LV são incapazes de produzir interleucinas de padrão Th1 (IFN- γ e IL-2) e aumentam a produção daquelas de padrão Th2 (IL-4 e IL-10), sendo reversível após a cura do paciente (CARVALHO; BADARÓ; REED, 1985; CARVALHO; BACELAR; BARRAL, 1989; CARVALHO; BARRAL; PEDRAL-SAMPAIO, 1992).

O espectro da doença que envolve a leishmaniose (incluindo casos de envolvimento cutâneo, mucoso e visceral), pode ser comparado a outras infecções intracelulares como a hanseníase, na qual existem polos que separam o oligoparasitismo do poliparasitismo, encontrando-se a leishmaniose visceral entre os dois extremos (SILVEIRA; LAISON; CORBETT, 2004).

2.5 Quadro clínico e laboratorial

A LV é uma doença que pode apresentar-se com um grande espectro de sinais e sintomas, o que em muitas ocasiões pode dificultar ou mesmo atrasar a busca pelo diagnóstico e tratamento adequado. O paciente pode evoluir com pouco ou nenhum sintoma ou com quadros clínicos graves que se não diagnosticados e tratados com rapidez podem levá-lo ao óbito. Entre os fatores que determinam a gravidade da doença estão a idade (principalmente os extremos), estado nutricional, presença de icterícia, disfunção renal e características imunogenéticas (GAMA, 2004; OLIVEIRA *et al.*, 2010).

As manifestações clássicas da doença, que levam à suspeita clínica são: febre, hepatoesplenomegalia, palidez cutaneomucosa e emagrecimento progressivo (BRASIL, 2004), muitas vezes sinais e sintomas que podem confundir-se com outras doenças tais como: enterobacteriose de curso prolongado, malária, brucelose, febre tifoide, esquistossomose hepatoesplênica, forma aguda da doença de chagas, linfoma, mieloma múltiplo e anemia falciforme. Considerando a evolução clínica o MS optou por dividir a doença em períodos descritos a seguir (BRASIL, 2010).

Período inicial é também denominado de fase aguda por alguns autores e, na maioria dos pacientes, é caracterizado por febre com duração menor que um mês, palidez cutaneomucosa e hepatoesplenomegalia. Em locais onde a doença é endêmica uma pequena parte dos infectados, geralmente crianças apresenta uma forma oligossintomática de curta duração, cerca de duas semanas, com resolução espontânea.

A evolução da doença leva ao período de estado, que é caracterizado por febre irregular, acompanhada de perda ponderal progressiva e aumento da hepatoesplenomegalia. Em geral já estão decorridos mais de dois meses de evolução e há comprometimento do estado clínico do paciente.

Caso o diagnóstico da doença não se estabeleça nos períodos anteriores, o quadro clínico evolui progressivamente para o período final, que é caracterizado por febre contínua e comprometimento intenso do estado geral, com intensa desnutrição. Nessa ocasião podem surgir complicações como hemorragias e infecções que podem levar o paciente ao óbito.

Alguns fatores em adultos estão mais relacionados à pior prognóstico como febre com período maior que 60 dias, anemia grave, esplenomegalia volumosa, diarreia, icterícia, desnutrição, sangramento e idade superior a 45 anos (SEAMAN *et al.*, 1996; WERNECK *et al.*, 2003; COLLIN *et al.*, 2004). É fundamental identificar esse paciente no primeiro atendimento para adequar seu manejo terapêutico e reduzir os riscos de evolução para óbito (BRASIL, 2006a).

Com relação às alterações laboratoriais encontradas, as mais frequentes são redução da hemoglobina e hematócrito, geralmente acompanhada de queda dos leucócitos e plaquetas. A anemia parece estar relacionada a múltiplos fatores, incluindo a destruição de eritrócitos no sítio esplênico, dificuldade na captação de ferro e hemodiluição consequente à expansão volêmica. Estudo experimental mais recente demonstra ainda a possibilidade de alteração na eritropoese a nível medular, com indução de aptose de eritroblastos através de fatores mediados por citocinas (PIPPARD *et al.*, 1986; LAFUSE *et al.*, 2013).

A hipoalbuminemia é uma característica marcante nos pacientes com LV. O intenso parasitismo hepático e também jejunal são fatores responsáveis pela queda da albumina, levando, respectivamente, à sua redução da produção e sua perda pelo trato gastrointestinal. É importante lembrar ainda que, na maioria dos casos, o tempo de doença é prolongado o que agrava o estado de má nutrição, devendo este fator ser priorizado no contexto do tratamento da LV (MUIGAI, 1983; PASTORINO, 2002; HARHAY *et al.*, 2011). Há um aumento na produção de gamaglobulinas, podendo ser facilmente visualizado através de eletroforese de proteínas séricas (LIMA VERDE *et al.*, 2009).

Algumas outras condições somam-se ao quadro clínico da LV e têm sido recentemente estudadas como as alterações hormonais. A maioria dos pacientes apresenta elevação da renina plasmática, sem elevação proporcional da aldosterona plasmática, valores normais ou discretamente elevados de hormônio antidiurético (ADH), redução dos níveis de paratormônio, elevação da concentração de hormônio adrenocorticotrófico, com cortisol sérico normal, níveis elevados de hormônio tireoestimulante e baixos de tri-iodotironina (T3) e tiroxina (T4), retardo no desenvolvimento puberal, podendo ocorrer queda de pelos axilares e púbicos, amenorreia e intenso estado inflamatório mediado por citocinas provavelmente

interleucina-1, interleucina-2, interleucina-6 e fator de necrose tumoral alfa (LIMA VERDE *et al.*, 2011).

São considerados como sinais de alerta para probabilidade de evolução para situações de gravidade crianças entre seis meses e um ano e adultos entre 50 e 65 anos, ocorrência de recidiva, diarreia, vômito, infecção bacteriana suspeita ou febre superior a 60 dias. Deve ser considerado grave, de acordo com orientações do MS, todo paciente com diagnóstico de LV com idade inferior a seis meses ou superior a 65 anos, com desnutrição grave, comorbidades ou uma das manifestações clínicas: icterícia, fenômenos hemorrágicos (exceto epistaxe), edema generalizado, sinais de toxemia (letargia, má perfusão, cianose, taquicardia ou bradicardia, hipoventilação ou hiperventilação e instabilidade hemodinâmica). Deve ser hospitalizado todo paciente que se enquadre em situação de alerta ou gravidade ou ainda aqueles que apresentarem exames laboratoriais com as seguintes alterações; leucócitos abaixo de $1.000/\text{mm}^3$ ou neutrófilos abaixo de $500/\text{mm}^3$, hemoglobina menor que 7g/dL , creatinina sérica superior a duas vezes o valor de referência, atividade de protrombina menor que 70%, bilirrubina acima dos valores de referência, enzimas hepáticas acima de cinco vezes o valor de referência, albumina sérica inferior a $2,5\text{mg/dL}$ e/ou radiografia de tórax sugestiva de infecção ou edema pulmonar (BRASIL, 2006a).

2.6 Diagnóstico

O conjunto de dados epidemiológicos, clínicos e laboratoriais, deve ser considerado no momento da suspeita diagnóstica da LV, visto tratar-se de uma doença com uma diversidade de sinais e sintomas, comumente encontrados em outras afecções. Dessa maneira, é fundamental que o diagnóstico seja estabelecido através de testes laboratoriais imunológicos e/ou parasitológicos (RIGO; RIGO; HONER, 2009).

O diagnóstico parasitológico compreende a demonstração do parasito em material obtido de biópsia ou punção aspirativa do baço, fígado, medula óssea (local preferível) ou linfonodos, por meio de esfregaço, histologia, isolamento em meios de cultura ou inoculação em animais de laboratório, este último sendo teste experimental

sem valor prático no diagnóstico clínico. A especificidade é de 100%, mas a sensibilidade é variável, pois a distribuição dos parasitos não é homogênea no mesmo tecido. O diagnóstico imunológico refere-se à pesquisa de anticorpos contra o parasito *Leishmania*, através de testes de aglutinação direta, imunofluorescência indireta (reação de imunofluorescência indireta-RIFI) e ensaio imunoenzimático (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay-ELISA*), que utilizam antígenos brutos apresentando limitações em termos de especificidade (SUNDAR; RAI, 2002).

De acordo com o MS, o caso considerado com diagnóstico confirmado (critério clínico laboratorial) será aquele com no mínimo um dos seguintes critérios: encontro do parasito nos exames parasitológicos diretos ou de cultura, RIFI reativa com título de 1:80 ou mais, desde que excluídos outros diagnósticos e/ou teste imunocromatográfico, comumente conhecidos como teste rápido, que utilizam antígenos recombinates. Com relação ao diagnóstico clínico epidemiológico, os pacientes clinicamente suspeitos, sem confirmação laboratorial, provenientes de áreas com transmissão de LV, mas com resposta favorável ao teste terapêutico, serão considerados também como casos confirmados (BRASIL, 2011).

É importante ressaltar que na presença de dados clínicos e laboratoriais, um teste sorológico reagente, reforça o diagnóstico de LV. Contudo, na ausência de manifestações clínicas, o tratamento específico não é autorizado, pois títulos de anticorpos variáveis podem persistir por longos períodos após o tratamento (BRASIL, 2006b).

Os testes menos invasivos como fixação de complemento, imunofluorescência indireta, ensaio imunoenzimático ou aqueles baseados em reação de cadeia de polimerase (*Polymerase Chain Reaction-PCR*) para amplificação de ácido desoxirribonucleico (*Deoxyribonucleic acid-DNA*) de *Leishmania* são opções que apresentam um dos dois inconvenientes: significativo número de reações cruzadas com outras espécies da família *Trypanosomatidae* ou custo elevado. A descoberta do antígeno K-39 da *Leishmania* na última década, levou à produção do antígeno recombinante K-39 (rK-39) com bons resultados no diagnóstico da LV. Quando a pesquisa é utilizada em plataformas baseadas em ELISA resulta em sensibilidade de 93-99% e especificidade de 93-100%. A mesma proteína pode ser utilizada em plataformas imunocromatográficas, que permitem

execução mais simples e interpretação visual das reações, variando a sensibilidade nesse caso entre 67-100% e a especificidade 59-100% respectivamente (BURNS JR. *et al.*, 1993; LEMOS *et al.*, 2003; ASSIS *et al.*, 2008).

Na prática clínica as ferramentas mais utilizadas para diagnóstico no meio local são o exame parasitológico através do aspirado da medula óssea e exame sorológico através de RIFI e/ou teste rápido com antígeno rK-39 em conjunto com os dados clínicos e epidemiológicos.

2.7 Tratamento

Os antimoniais foram utilizados pela primeira vez no Brasil para tratamento da LV sob sua forma antimônio trivalente Sb^{+3} em 1912 por Gaspar Viana. Entretanto, devido aos diversos efeitos colaterais, difícil administração e alta toxicidade foi introduzido em 1937 o estibogluconato de sódio, forma pentavalente do antimônio- Sb^{+5} , e desde então os antimoniais pentavalentes têm sido utilizados para o tratamento da LV como droga de primeira escolha, de acordo com recomendações do MS. No Brasil a formulação utilizada é o antimoniato de N-metilglucamina (nome comercial glucantime[®]) linha (HERWALDT, 1999; OLLIARO *et al.*, 2005; CAMARGO; LANGONI, 2006).

Como o uso do antimoniato de N-metilglucamina, é frequente há cerca de sete décadas como terapia de primeira linha, a OMS recomenda que a dose de antimonial pentavalente seja calculada em $mg/Sb^{+5}/Kg/dia$ (Sb^{+5} significando antimônio pentavalente). Apresenta-se comercialmente em frascos de 5 mL, que contêm 1,5g de antimoniato bruto, correspondendo a 405mg de Sb^{+5} , com cada mL contendo 81 mg de Sb^{+5} . A dose recomendada pelo MS é de 20mg/Kg/dia de Sb^{+5} durante 20 dias, podendo chegar a 30 e no máximo 40 dias, com limite máximo de três ampolas/dia (BRASIL, 2010).

O antimonial pentavalente tem a vantagem de ser administrado ambulatorialmente, o que pode diminuir os riscos relacionados a um período prolongado de internação hospitalar. Entretanto, mesmo a nível ambulatorial deve ser administrado com cautela naqueles pacientes com cardiopatias, nefropatias e

hepatopatias e sua monitorização deve ser rigorosa com realização de eletrocardiograma no início, durante (cerca de duas vezes por semana) e no final do tratamento, além de avaliação semanal das enzimas hepáticas, função renal e amilase e lipase (BRASIL, 2011).

Os eventos adversos são inúmeros e incluem artralgia, mialgia, inapetência, náuseas, vômitos, sensação de plenitude gástrica, epigastralgia, pirose, dor abdominal, prurido, febre, fraqueza, cefaleia, tontura, palpitações, insônia, choque pirogênico, edema e disfunção renal aguda. Em poucos casos é necessário interromper o tratamento. Doses excessivas, além das recomendadas, podem acarretar toxicidade cardíaca e renal. É contraindicado seu uso em gestantes.

Sabe-se que os antimoniais pentavalentes apresentam rápida excreção renal (REES *et al.*, 1980); entretanto, seu uso prolongado em doses convencionais ou elevadas pode acarretar dano à função renal (SAMPAIO *et al.*, 1980; BALSAN; FENECH, 1992). Apesar das descrições na literatura de disfunção renal relacionada ao uso desse medicamento, acredita-se que múltiplos fatores estejam envolvidos na ocorrência da lesão renal como depleção volêmica ou toxicidade tubular direta ocasionada pela substância (VEIGA *et al.*, 1983; JOLLIFFE, 1985; KHER *et al.*, 1991).

As drogas de segunda escolha no Brasil para o tratamento da LV incluem o desoxicolato de anfotericina B e suas formulações lipossomais (anfotericina B lipossomal e anfotericina B de dispersão coloidal). Trata-se da droga leishmanicida mais potente disponível comercialmente, com eficácia de tratamento próxima a 100%; entretanto, seu uso está associado a diversos efeitos colaterais, todos dependentes da dose utilizada. Na Índia, por múltiplos fatores, incluindo resistência do parasito ao antimonial pentavalente, a anfotericina B é a droga de primeira escolha para tratamento da LV. No Brasil, ela está indicada como primeira opção naqueles pacientes considerados portadores de leishmaniose grave, conforme definição do MS anteriormente citada, nos casos em que há contraindicação ou falha terapêutica com o uso de antimonial pentavalente (BRASIL, 2006a; SUNDAR *et al.*, 2008; Aït-OU DHIA *et al.*, 2011).

A anfotericina B apresenta-se comercialmente em frascos com 50mg de desoxicolato sódico de anfotericina B. A dose recomendada pelo MS é de

1mg/Kg/dia, não ultrapassando 50mg/dia, por cerca de 14 a 20 dias. Os eventos adversos mais comuns são febre, cefaleia, náuseas, vômitos, hiporexia, tremores, calafrios, flebite, cianose, hipotensão e recomenda-se avaliação sistemática e rigorosa da função renal e dos eletrólitos séricos, especialmente potássio e magnésio, repondo quando necessário. Nos casos de disfunção renal pode-se utilizar a formulação lipossomal e nesse caso a dose recomendada é de 3mg/Kg/dia por sete dias ou 4mg/Kg/dia por cinco dias (BRASIL, 2011).

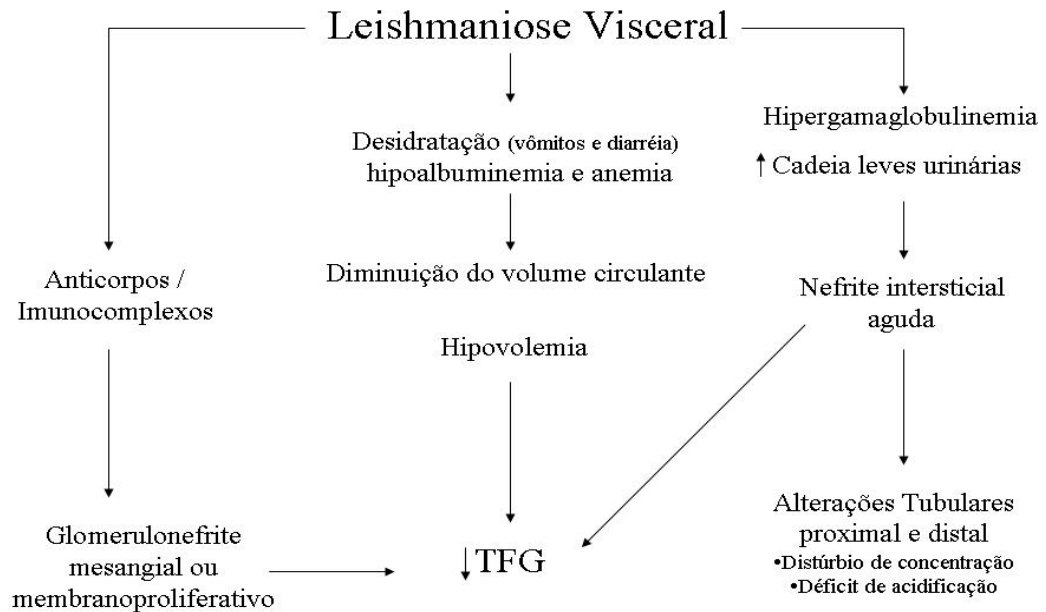
Outra opção terapêutica é o miltefosine, com a vantagem de administração oral. Trata-se de uma substância inicialmente descoberta com a finalidade anti-neoplásica, que atualmente tem seu uso liberado na Índia e Etiópia para tratamento da leishmaniose visceral e na Colômbia e Bolívia para tratamento das formas cutâneas. Nos casos em que ocorrem formas pouco usuais, como a leishmaniose cutânea difusa ou leishmaniose dérmica pós-calazar, e há necessidade de tratamento prolongado, o miltefosine seria uma opção terapêutica. Os eventos adversos relacionados são náuseas, vômitos, diarreia, hepatotoxicidade e nefrotoxicidade (SUNDAR; OLLIARO, 2007; BERMAN, 2008).

2.8 Acometimento renal na leishmaniose visceral

A leishmaniose visceral, assim como outras doenças infecto-parasitárias, pode acometer o rim por diversos mecanismos. Em geral, o envolvimento renal é subclínico e decorrente de infiltrado inflamatório no interstício, induzido pelo parasito, podendo ocorrer também discretas alterações da membrana basal glomerular. Raramente esse processo evolui para fibrose e, na maioria dos casos, os sintomas regredem após tratamento específico adequado (DUARTE; SILVA; GOTO, 1983; DUTRA; MARTINELLIM; CARVALHO, 1985).

O principal mecanismo fisiopatológico responsável pelo acometimento renal provavelmente inclui a presença de imunocomplexos, semelhante ao que ocorre em outras infecções parasitárias que acometem o rim, como malária e esquistossomose, sendo a glomerulonefrite proliferativa e a nefrite intersticial as patologias mais frequentes (SALGADO-FILHO; FERREIRA; COSTA, 2003). A Figura 3 descreve as principais vias de acometimento renal na LV.

Figura 3 – Fisiopatologia do acometimento renal na leishmaniose visceral



TFG: taxa de filtração glomerular

Fonte: Adaptado de RIELLA, 2011.

Sabe-se que alguns pacientes com LV podem apresentar alterações no sedimento urinário, podendo ocorrer proteinúria e hematúria (WEISINGER; PINTO; VELASQUEZ, 1978; DUARTE; SILVA; GOTO, 1983; PRASAD; SEN; GANGULY, 1992). Salgado Filho *et al.* (1987) demonstraram a presença de síndrome nefrítica em dois dos dez pacientes avaliados e redução do complemento sérico em seis casos. O mesmo autor avaliou prospectivamente 11 pacientes com LV e demonstrou que 45,5% deles apresentavam hematúria macroscópica e 63,6% microscópica, além disso, 90% tinham proteinúria e 54,5% leucocitúria. Dos casos avaliados apenas um paciente apresentou elevação nos valores séricos de ureia e creatinina (SALGADO-FILHO; FERREIRA; COSTA, 2003).

Outra análise prospectiva, com um grupo de 50 pacientes com LV, observou que 51% dos pacientes apresentavam hematúria e 57% deles tinham leucocitúria. Naqueles que evoluíram para óbito os resultados de necropsia demonstraram no tecido renal infiltrado intersticial monocitário, edema e focos de degeneração tubular (PRASAD; SEN; GANGULY, 1992).

Alguns estudos demonstram alteração da função glomerular na LV através da medida da creatinina sérica e da taxa de filtração glomerular. A avaliação de 57 pacientes com diagnóstico de LV na cidade de Fortaleza, demonstrou que 15 deles (26,3%) apresentaram lesão renal aguda, caracterizada por creatinina sérica acima de 1,3mg/dL, sendo antes do uso da anfotericina B em oito casos (DAHER *et al.*, 2008). Estudo retrospectivo desenvolvido em Campo Grande, Mato Grosso, com 163 pacientes, demonstrou que o risco de persistência de creatinina sérica > 1,3mg/dL após o tratamento foi 3,8 vezes maior nos pacientes que já apresentavam níveis mais altos à admissão e maior ainda (7,4 vezes) nos casos que tinham proteinúria (RIGO; RIGO; HONER, 2009).

Estudo retrospectivo recente com 227 pacientes com LV observou que 33,9% dos casos desenvolveram lesão renal aguda quando aplicado o critério de *Risk, Injury, Failure, Loss, ESRD* (RIFLE), sendo os principais fatores de risco relacionados ao desenvolvimento da disfunção renal a idade acima de 45 anos, a presença de icterícia e o uso de anfotericina B (OLIVEIRA, 2010).

Outra análise de corte transversal com 55 pacientes demonstrou redução na taxa de filtração glomerular (considerada abaixo de 80 mL/min/1,73m² de superfície corpórea) em 14 pacientes, correspondendo a 28% dos casos (LIMA VERDE *et al.*, 2007).

Com relação às alterações túbulo-intersticiais, os pacientes com LV podem apresentar acidose tubular renal distal e redução da capacidade de concentração urinária (LIMA VERDE *et al.*, 2007; DAHER *et al.*, 2011).

Estudo de corte seccional com 55 pacientes com LV evidenciou disfunção tubular com aumento da excreção urinária de albumina em 44% dos casos. A proteinúria mostrou-se ser mais importante entre as proteínas de baixo peso molecular (α 1, α 2, β , especialmente γ globulinas). Todos os pacientes apresentaram aumento de excreção urinária de β 2-microglobulina e também excreção aumentada de cadeias leves, κ em 27% dos casos e λ em 42% (LIMA VERDE *et al.*, 2009).

Em relação aos distúrbios eletrolíticos, o estudo citado acima também demonstrou alterações tais como hiponatremia (94,6%), hipocalemia (26%), hipocloremia (27,2%), hipocalcemia (32%), hipomagnesemia (41,8%) e hipouricemia

(14,3%). Todos os pacientes apresentavam aumento da FE dos eletrólitos, sendo magnésio em todos eles, sódio (15%), potássio (26%), cloro (33,3%), cálcio (32%) e fósforo (27,2%). Além disso, glicosúria foi encontrada em 1/3 dos pacientes (LIMA VERDE *et al.*, 2009).

Distúrbios acidobásicos também podem ocorrer em pacientes com LV. Estudo de corte transversal com 59 pacientes divididos em dois grupos evidenciou acidose metabólica em 24,5% dos pacientes e alcalose respiratória crônica associada a alcalose metabólica em 75,5%, este último distúrbio relacionado a pneumonite intersticial, anemia, febre e disfunção hepática, segundo os autores. Todos os pacientes apresentavam hipoalbuminemia, hipergaglobulinemia e hiponatremia (LIMA VERDE *et al.*, 2008).

Na atualidade também tem sido importante o acometimento renal na LV naqueles pacientes com comorbidades, especialmente relacionadas a imunodeficiência adquirida ou pelo uso de imunossupressores, por exemplo, transplantados renais (ROLLINO *et al.*, 2003; EFSTRATIADIS; BOURA; GIAMALIS, 2006; OLIVEIRA *et al.*, 2008).

Estudos relacionados à evolução do acometimento renal na LV ainda são escassos na literatura vigente.

2.9 Exossomas urinários

Exossomas são nanovesículas (30-100nm) de origem endocítica que são secretadas no espaço extracelular ou fluidos corporais quando um corpo multivesicular funde-se com a membrana plasmática. A primeira descrição dos exossomas pode ser atribuída a Rose Johnstone, em 1980 (DIMOV; VELICKOVIC; STEFANOVIC, 2009).

Nos últimos anos tem crescido o interesse pelo estudo dos exossomas, pois essas vesículas têm sido implicadas em uma série de eventos fisiológicos, além de se comportarem como ferramentas alternativas de modulação do sistema imunológico, comunicação intracelular e funções parácrinas (DIMOV; VELICKOVIC; STEFANOVIC, 2009).

Os exossomas urinários, assim como os demais, são proteínas de muito baixa densidade que apenas se sedimentam após ultracentrifugação. Em estudo anterior, que investigou amostras de urina de indivíduos adultos saudáveis, observou-se que do total de proteínas excretadas, cerca de 48% eram proteínas incluídas no sedimento, 49% eram proteínas solúveis e apenas 3% estavam em exossomas (ZHOU *et al.*, 2006; DIMOV; VELICKOVIC; STEFANOVIC, 2009). As proteínas solúveis urinárias decorrem da filtração glomerular, por exemplo, β 2-microglobulina, cadeias leves de imunoglobulina, proteína ligadora de retinol e aminoácidos. Elas são reabsorvidas no túbulo contorcido proximal e um aumento na urina final pode denotar uma disfunção tubular. Outro exemplo de proteína solúvel é a proteína de Tamm-Horsfal, entretanto nesse caso origina-se como proteína ligada à membrana celular clivada por proteólise. É muito abundante na urina e sua presença pode interferir na identificação de outras proteínas (PISITKUN; SHEN; KNEPPER, 2004).

Os exossomas urinários podem se originar de diversos tipos celulares como podócitos, células do túbulo contorcido proximal, distal e células epiteliais transitórias e podem ser isolados na amostra de urina através de ultracentrifugação. A mensuração deve ser feita em amostra de urina isolada e randômica, sendo normalizada com a creatinina urinária e comparada com controles saudáveis (PISITKUN; SHEN; KNEPPER, 2004). Os resultados em amostras simples de urina têm se mostrado como um passo inicial na descoberta de novos biomarcadores. A AQP2, eliminada na urina através de exossomas, é uma das proteínas mais estudadas e pode representar um biomarcador diagnóstico de alterações no balanço de água, como por exemplo, nos casos de diabetes insipidus (KANNO *et al.*, 1995; DIMOV; VELICKOVIC; STEFANOVIC, 2009).

Outros transportadores também podem ser identificados através da urina e estudados na prática clínica como o trocador sódio-hidrogênio do tipo 3 (NHE3), o NKCC2 e a pendrina, sendo este último encontrado na membrana apical das células intercaladas não-tipo A e troca o cloro (reabsorvendo) pelo bicarbonato (secretando). O canal apical de potássio (renal outer medullary potassium channel-ROMK) também pode ser avaliado através desse mecanismo.

Em pacientes com LV pode ocorrer disfunção tubular ocasionada pela própria doença (LIMA VERDE *et al.*, 2009) e não há estudos que demonstrem a

disfunção através da avaliação dos exossomas urinários, especialmente o mais estudado a aquaporina-2.

2.10 Proteína quimiotática de monócitos (MCP-1) e lesão renal

As citocinas quimiotáticas são proteínas constituídas de 60 a 100 aminoácidos que são subdivididas em quatro famílias com base no número e espaçamento dos resíduos de cisteína da porção N-terminal (C, CC, CXC e CX3C). As proteínas quimiotáticas de monócitos constituem um importante grupo da subfamília CC, sendo a primeira delas a ser descoberta e melhor caracterizada a proteína quimiotática de monócito 1 (MCP-1) , a seguir também nomeada de CCL2 (CONDUCTIER *et al.*, 2010).

MCP-1 encontra-se presente em locais onde existe processo inflamatório e dano tecidual, acarretando recrutamento de macrófagos e adesão ao receptor CCR2 de quimiocinas. Sabe-se que, com o progresso da doença renal crônica, ocorre lesão túbulo-intersticial, resultando na presença de infiltrado inflamatório, levando ao aumento da expressão tubular de MCP-1 (GRANDALIANO *et al.*, 1996; HODGKINS; SCHNAPER, 2012). Estudo anterior demonstrou uma estreita correlação entre albuminúria, MCP-1 urinário e o número de macrófagos no interstício renal, quando comparados à evolução da doença renal crônica (EARDLEY *et al.*, 2006).

Nos casos de doença renal aguda, como nas glomerulonefrites proliferativas, também já foi evidenciada elevação do MCP-1 urinário (HODGKINS; SCHNAPER, 2012); entretanto poucos dados são encontrados no que diz respeito às doenças renais agudas secundárias aos processos infecto-parasitários.

Recentemente um estudo realizado com pacientes portadores de esquistossomose demonstrou que a dosagem de MCP-1 urinário encontra-se elevada nesses pacientes, sem modificações significativas após o tratamento específico (HANEMANN *et al.*, 2013). Os dados encontrados nesse estudo sugerem que o MCP-1 urinário pode ser um marcador sensível para disfunção renal em

pacientes com esquistossomose mansônica. Não há dados que relacionem esse marcador à leishmaniose visceral.

2.11 Malondialdeído

A peroxidação lipídica é o processo através do qual as espécies reativas do metabolismo do oxigênio ou nitrogênio atacam principalmente os ácidos graxos polinsaturados (AGPI) dos fosfolípidos das membranas celulares, destruindo-as e permitindo sua entrada na célula, sendo portanto um indicador de estresse oxidativo celular. Esse processo em cadeia desenvolve-se em diversas etapas e não há um método ideal que possa avaliá-lo por completo (LIMA, *et al*, 2001).

Uma das espécies mais utilizadas para avaliar a oxidação de lípidos é o teste do malondialdeído (MDA). O MDA é um dialdeído formado como um produto secundário durante a oxidação por cisão *beta* dos AGPI peroxidados, principalmente do ácido araquidônico (LIMA, *et al*, 2001). Estudos anteriores demonstraram associação entre elevação do MDA sérico e disfunção renal (AHMADIASL, *et al*, 2013). Até o presente momento não há dados relacionados ao MDA na leishmaniose visceral.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar a função glomerular e tubular e biomarcadores inflamatórios de pacientes com diagnóstico de leishmaniose visceral forma não grave.

3.2 Específicos

- a) Avaliar a função glomerular antes e após o tratamento com antimonial pentavalente;
- b) Avaliar a função tubular proximal e distal antes e após o tratamento com antimonial pentavalente;
- c) Examinar a expressão de transportadores tubulares renais na urina dos pacientes antes do tratamento e correlacionar com as alterações bioquímicas encontradas;
- d) Quantificar os biomarcadores urinários MCP-1 e MDA.

4 METODOLOGIA

4.1 Tipo de estudo

Trata-se de estudo prospectivo e controlado com pacientes diagnosticados com leishmaniose visceral (LV) atendidos em ambiente hospitalar para tratamento com antimonial pentavalente.

4.2 Locais e período do estudo

O estudo foi realizado com pacientes atendidos em ambiente ambulatorial ou internados por condições sociais (dificuldade de acesso à medicação em local de origem) no Hospital São José de Doenças Infecciosas (HSJ) e Hospital Geral Dr. Waldemar Alcântara (HGWA), em Fortaleza-CE, no período de abril de 2011 a abril de 2012.

4.3 Aspectos éticos

O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) com seres humanos do Hospital São José de Doenças Infecciosas (HSJ) sob o número de protocolo 002/2008, folha de rosto 174304 e CAAE 0001.0.042.040-08.

4.4 Critérios de inclusão

Foram incluídos pacientes de ambos os sexos, com idade entre 18 e 65 anos, com diagnóstico de leishmaniose visceral não grave, internados em enfermaria ou atendidos em hospital-dia para tratamento com antimonial pentavalente e que concordaram com a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido.

Os pacientes com leishmaniose visceral não grave foram aqueles que não se enquadravam nos critérios de gravidade estabelecidos pelas normas e condutas do Ministério da Saúde (BRASIL, 2006a) como desnutrição grave, comorbidades ou algumas das manifestações clínicas: icterícia, fenômenos hemorrágicos (exceto

epistaxe), edema generalizado, sinais de toxemia (letargia, má perfusão, cianose, taquicardia ou bradicardia, hipoventilação ou hiperventilação e instabilidade hemodinâmica).

4.5 Critérios de exclusão

- a) Pacientes com diagnóstico de diabetes mellitus tipo 1 ou 2, hipertensão arterial sistêmica (pressão arterial sistólica \geq 140 mmHg e/ou pressão arterial diastólica \geq 90 mmHg) e/ou insuficiência cardíaca;
- b) Pacientes com história de doença renal prévia (aguda ou crônica), litíase renal e uso de drogas nefrotóxicas (exceto antimonial pentavalente durante tratamento atual) e/ou diuréticos;
- c) Gestantes;
- d) Uso prévio de antimoniais pentavalentes.

4.6 População do estudo

Foram estudados 16 pacientes com diagnóstico de leishmaniose visceral não grave que se encontravam em acompanhamento em hospital-dia ou internados em enfermaria para tratamento com antimonial pentavalente após concordância e esclarecimentos. Foi colhida anamnese e realizado exame físico sendo a seguir realizados testes de concentração e acidificação urinárias no período anterior ao início do tratamento específico da LV. Após cerca de noventa dias de término do tratamento foi realizada nova avaliação clínica e laboratorial com cinco pacientes. Um grupo controle foi formado por 13 voluntários sadios, doadores de sangue.

4.7 Parâmetros estudados

- 1) **Dados epidemiológicos:** idade, gênero, cor (branca, parda, preta, amarela), grau de escolaridade (analfabeto, ensino fundamental incompleto, ensino fundamental completo, ensino médio incompleto,

ensino médio completo, ensino superior), profissão, naturalidade, procedência e presença de animal doente (cão) no peridomicílio.

- 2) **Dados clínicos:** período de tempo entre início dos sintomas e o diagnóstico, queixas clínicas (anorexia, astenia, febre, calafrio, dispneia, icterícia, diarreia, náuseas, vômitos, palidez, sangramentos, dor e perda ponderal). Os pacientes também foram questionados sobre hábitos de vida como etilismo e tabagismo, além de histórico familiar de doenças renais. Para as mulheres foi realizado também histórico ginecológico e obstétrico. No exame físico foi avaliado o estado geral (bom, regular e comprometido), realizada a verificação da pressão arterial deitado após cinco minutos, frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura axilar, peso, altura e palpação do fígado e do baço.
- 3) **Dados laboratoriais:** hemograma e dosagens séricas de creatinina (mg/dL), ureia (mg/dL), sódio (mEq/L), potássio (mEq/L), cálcio iônico (mMoL/L), fósforo (mg/dL), magnésio (mg/dL), cloro (mMoL/L), bicarbonato (mEq/L), aspartato aminotransferase-AST (U/L), alanina aminotransferase-ALT (U/L), bilirrubina total e frações direta e indireta (mg/dL) e albumina (g/dL).
- 4) **Avaliação da função renal:** taxa de filtração glomerular (TFG), fração de excreção de sódio (FE_{Na}), fração de excreção de potássio (FE_K), gradiente transtubular de potássio antes e após testes de concentração urinária (TTKG), osmolaridade urinária, plasmática e a relação entre elas e transporte de água livre de solutos (TcH_2O).
- a) Taxa de filtração glomerular (TFG): estimada pela fórmula CKD-EPI – “*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*” (LEVEY *et al.*, 2005).

Para mulheres com creatinina $\leq 0,7$ mg/dL (62mmol): $TFG = 144 \times (cr/0,7)^{-0.329} \times (0,993)^{idade}$.

Para mulheres com creatinina $> 0,7$ mg/dL (62mmol): $TFG = 144 \times (cr/0,7)^{-1.209} \times (0,993)^{idade}$.

Para homens com creatinina $\leq 0,9$ mg/dL (80mmol): $TFG = 141 \times (cr/0,9)^{-0.411} \times (0,993)^{idade}$.

Para homens com creatinina $> 0,9$ mg/dL (80mmol): $TFG = 141 \times (cr/0,9)^{-1.209} \times (0,993)^{idade}$.

Todos os pacientes foram considerados como não-negros devido à miscigenação da população.

b) Fração de excreção de sódio e de potássio:

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

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

Onde: 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), U_{cr} e
 P_{cr} Concentração urinária e plasmática de creatinina (mg/dL).

c) Gradiente transtubular de potássio:

$$TTKG = (P_{osm} \times U_K) / (P_K \times U_{osm})$$

Onde: U_{K^+} e P_{K^+} Concentração urinária e plasmática de potássio (mEq/L) e U_{osm} e P_{osm} Osmolaridade urinária e plasmática (mOsmol/L).

d) Osmolaridade plasmática:

$$P_{osm} = 2 \times Na^+ + Glic/18 + BUN/2,8$$

Onde: P_{osm} Osmolalidade plasmática; Na^+ sódio plasmático; Glic glicemia; BUN Nitrogênio uréico sanguíneo, obtido pela divisão da ureia plasmática por 2,14.

e) Relação da osmolaridade urinária e plasmática:

$$U_{osm}/P_{osm}$$

Onde: U_{osm} osmolaridade urinária e P_{osm} osmolaridade plasmática

f) Transporte de água livre de soluto:

$$T_{\text{CH}_2\text{O}} = C_{\text{osm}} - V$$

Onde: $C_{\text{osm}} = U_{\text{osm}} \cdot V / P_{\text{osm}}$; V: Volume urinário em L/dia; U_{osm} e P_{osm} Osmolaridade urinária e plasmática respectivamente expressas em mOsm/L.

4.8 Teste de acidificação urinária

O teste de acidificação urinária é uma importante ferramenta utilizada há vários anos para avaliar uma parte da função tubular renal. Inicialmente era preconizado o uso de cloreto de amônio (NH_4Cl) por três a cinco dias (WRONG; DAVIES, 1959); entretanto devido à pouca tolerabilidade dos pacientes este passou a ser substituído pelo cloreto de cálcio (CaCl_2). Alguns estudos demonstraram a eficácia dos dois agentes em pacientes internados, onde foi investigada a capacidade de acidificação urinária, sendo recomendado o uso de cloreto de cálcio (OSTER, 1975; KURTZMAN, 1983). No presente estudo foi utilizado cloreto de cálcio como medicamento para teste da função tubular visando a acidificação urinária.

Os pacientes foram orientados a permanecer em jejum absoluto a partir das 19 horas da noite anterior ao dia em que foi realizado o teste. Na manhã seguinte a equipe pesquisadora comparecia ao centro hospitalar às sete horas e solicitava a coleta da primeira amostra de urina (tempo zero-T0) após esvaziamento da bexiga. Também era colhida amostra de sangue venoso em seringa própria com heparina para mensuração de bicarbonato e pH. A seguir foi administrado o CaCl_2 na dose de 100mg/Kg dissolvidos em 100ml de água por via oral. Os pacientes permaneceram em jejum por um período de quatro horas após a ingestão do sal, sendo o procedimento inicial repetido às 11 horas (tempo quatro-T4) com nova coleta de amostra de urina, para avaliar pH urinário e sangue venoso para mensurar bicarbonato e pH.

Foi considerado como déficit de acidificação urinária a incapacidade de reduzir o pH urinário abaixo de 5,5 após sobrecarga ácida com CaCl_2 .

4.9 Teste de concentração urinária

O teste de concentração urinária é uma outra maneira de avaliar a função tubular renal, especialmente ligada ao túbulo distal. Os valores considerados como referência para a concentração urinária máxima foram $U_{osm} (T_4) > 700\text{mOsm/L}$ (RADO, 1978; ABYHOLM; MONN, 1979; TRYDING *et al.*, 1987).

Os pacientes foram orientados a permanecer em jejum absoluto a partir das 19 horas da noite anterior ao dia em que foi realizado o teste. Na manhã seguinte a equipe pesquisadora comparecia ao centro hospitalar às sete horas e solicitava a coleta da primeira amostra de urina (tempo zero-T0) após esvaziamento da bexiga para avaliar a osmolaridade urinária. A seguir foi administrado o acetato de desmopressina na dose de 20mcg via nasal em forma de *spray*. Os pacientes permaneceram em jejum por um período de quatro horas após a administração do acetato de demopressina e o procedimento inicial foi repetido às 11 horas (tempo quatro-T4) com nova coleta de amostra de urina, para avaliar a osmolaridade urinária. Amostras de sangue venoso foram colhidas no período zero e quatro horas para avaliar a osmolaridade sérica.

Foi considerado como déficit de concentração urinária a valores de $U_{Osm} < 700\text{mOsm/L}$ e/ou relação U_{Osm}/P_{Osm} inferior a 2,8.

4.10 Exossomas urinários

Para a avaliação dos exossomas urinários foi realizada coleta e armazenagem de amostra isolada de urina. O material foi obtido após 12 horas de jejum dos pacientes com diagnóstico de LV e também dos controles.

Em seguida, a urina coletada foi armazenada em tubos plásticos estéreis de 50 ml onde foi adicionado inibidor de protease (*protease inhibitor cocktail*; Sigma, St. Louis, MO, USA) 10 $\mu\text{l/ml}$ de urina e imediatamente congeladas em freezer a -70°C (HOFFERT *et al.*, 2007; GONZALEZ *et al.*, 2009). Posteriormente, as amostras foram enviadas em gelo seco ao Laboratório de Investigação Médica 12 da Universidade de São Paulo, por transportadora especializada e foram recebidas em condições adequadas de congelamento.

O material foi centrifugado a 17.000g por 15 minutos a 4°C para remover todas as células, fragmentos maiores de membrana e outros debris. O sobrenadante foi centrifugado a 200.000g por uma hora a 4°C para obter *pellets* de membrana de baixa densidade. Os *pellets* foram suspensos em uma solução de isolamento (200mM Mannitol, 80mM Hepes, and 41mM KOH, pH 7.5) com inibidores de protease.

Amostras de frações da membrana foram incubadas em minigel de poliacrilamida, para aquaporina 2 (AQP2), canal de potássio apical – *Renal Outer Medullary K⁺ channel* (ROMK) e pendrina. Depois de transferir por eletrodiluição para membranas de nitrocelulose (PolyScreen, PVDF Transfer; Life Science Products, Boston, MA, USA), os *blots* foram tamponados com leite a 5% e *tween* 20 em PBS (cloreto de sódio a 8,7g/L, fosfato dibásico 7,2 mM e fosfato monobásico 2,8 mM) por 1 hora. *Blots* foram incubados com um dos seguintes: anti-AQP2; anticorpo anti-ROMK e pendrina. A reação foi visualizada com anticorpo secundário conjugado com *horseradish* – peroxidase e evidenciado por sistema de detecção por quimioluminescência (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ, USA).

4.11 Proteína quimiotática de monócitos e malondialdeído urinários

A dosagem de MCP-1 urinário foi feita através de ELISA usando R&D systems® kit, Inc (Minneapolis, MN, USA), e os resultados expressos em pg/mg de creatinina. O MDA urinário foi isolado e quantificado através de *thiobarbituric acid test* (TBARS).

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos após coleta foram digitados em planilha no programa Microsoft Excel 2007. Os resultados foram expressos através de tabelas e porcentagens, no caso de variáveis qualitativas, tabelas e médias (média±DP) no caso de variáveis quantitativas normais, e através de mediana, máximo e mínimo nos casos de quantitativas com distribuição não normal. Foi realizada análise dos dados clínicos e laboratoriais através dos programas Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) for Windows versão 10.0 (SPSS Inc. Chicago, IL).

Os testes de Qui-quadrado de Pearson, razão de verossimilhança e o teste exato de Fischer foram usados para testes de associação na distribuição dos dados categorizados. Para verificar a normalidade da distribuição das variáveis contínuas foi utilizado o teste de Kolmogorov-Smirnov.

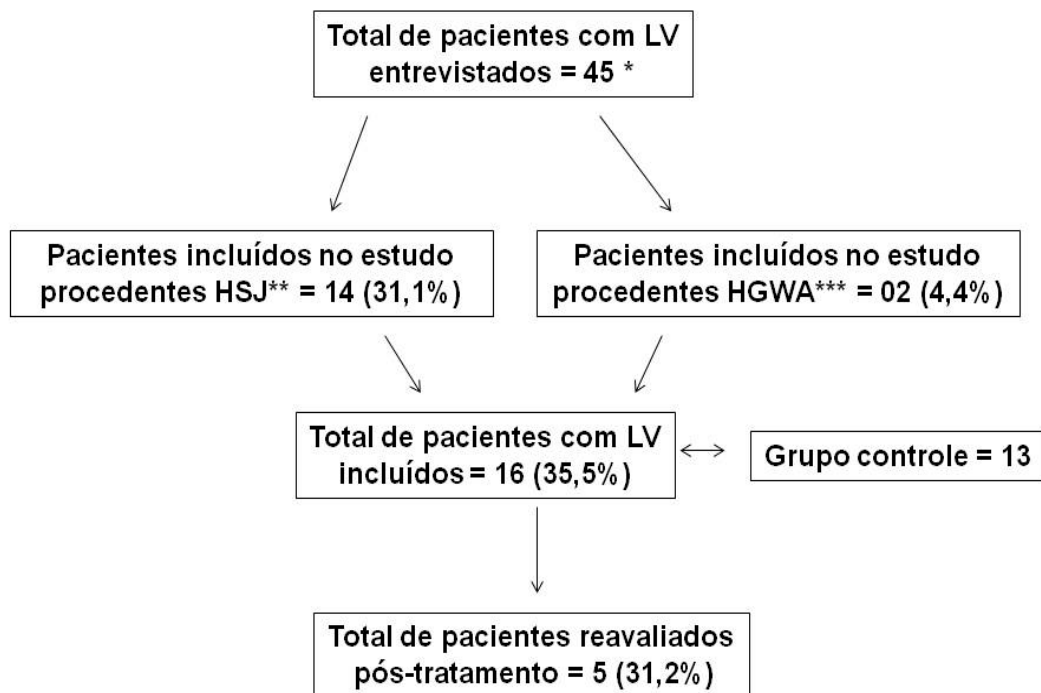
O teste Levene foi utilizado para comparação de variabilidades. Na condição de normalidade dos dados a comparação entre duas médias foi feita pelo teste T-student. No caso de não normalidade dos dados foi usado o teste de Mann-Whitney. Na comparação entre amostras pareadas após o tratamento foi utilizado o teste de Wilcoxon devido à pequena amostra.

6 RESULTADOS

6.1 Características epidemiológicas e clínicas da população estudada

Foram entrevistados 45 pacientes com diagnóstico de leishmaniose visceral (LV) sendo incluídos 16 pacientes no estudo, conforme Figura 4.

Figura 4 – Distribuição dos pacientes incluídos no estudo



* Excluídos por diabetes e/ou hipertensão, sorologias positivas para hepatite B, C e/ou HIV e recusa em participar da pesquisa. ** Hospital São José de Doenças Infecciosas ***Hospital Geral Dr. Waldemar Alcântara.

A população do estudo compreendeu 16 pacientes com diagnóstico de LV acompanhados para tratamento com antimonial pentavalente, no período de abril de 2011 a abril 2012. Foram incluídos 14 pacientes do Hospital São José de Doenças Infecciosas na cidade de Fortaleza-CE, sendo dois internados em enfermaria e 12 em tratamento a nível de hospital-dia. Outros dois pacientes foram incluídos através do HGWA na mesma cidade. O grupo estudado foi comparado a 13 voluntários saudáveis doadores de sangue. Dos 16 pacientes com LV incluídos cinco deles foram reavaliados no período de 90 dias após o tratamento.

A média de idade dos pacientes foi de 42 ± 17 anos (variando entre 18 e 65 anos), sendo o grupo constituído de 15 pacientes (93,7%) do gênero masculino e um paciente (6,3%) do gênero feminino (Tabela 1).

Com relação à região de procedência nove eram procedentes de Fortaleza e região metropolitana de Fortaleza (RMF) e sete eram procedentes das demais regiões do interior Estado do Ceará – Canindé (1), Cariús (1), Caridade (1), General Sampaio (3) e São Luiz do Curu (1). Entre os pacientes, oito deles (50%) relataram a presença de cão doente no peridomicílio, sendo 6 (37,5%) em Fortaleza e RMF (Tabela 1).

O maior percentual de pacientes tinha cor parda (87,5%) e com relação à profissão, sete eram trabalhadores da construção civil, entre pedreiros e auxiliares, dois eram agricultores, dois eram músicos e os demais pacientes cinco distribuíam-se entre estudantes, aposentada, jardineiro e operador de máquinas. O ensino fundamental incompleto foi relatado por 11 pacientes, seguido de três pacientes com ensino fundamental completo e dois com ensino médio incompleto. Dos 16 pacientes avaliados oito relataram ingestão de bebida alcoólica não compatível com valores superiores a 30g de álcool/dia e nove referiram tabagismo. A mulher avaliada no estudo não apresentava histórico ginecológico e obstétrico relevante e todos os pacientes negavam doenças renais na família.

Houve diferença significativa entre os pacientes com LV e o grupo controle com relação à procedência e à medida de pressão arterial diastólica que se foi mais baixa no grupo LV ($p=0,0006$ e $0,04$ respectivamente). Nos demais parâmetros clínicos de idade, gênero, peso corporal e medida de pressão arterial sistólica não houve diferença (Tabela 1).

Tabela 1 – Características clínicas e epidemiológicas dos pacientes com leishmaniose visceral (LV) pré-tratamento *versus* grupo controle

	Grupo LV (pré-tratamento) N=16	Grupo controle N=13	P
Idade média (anos)	42±17	40±15	0,75
Gênero			0,19
Masculino	15 (93,7%)	10 (76,9%)	-
Feminino	1 (6,3%)	3 (23,1%)	-
PAS (mmHg)	112±12	122±9	0,05
PAD (mmhg)	71±10	80±7	0,04
Peso (Kg)	65±10	71±9	0,16
Procedência			
Fortaleza e RMF	9 (56,2%)	13 (100%)	0,006
Interior	7 (43,8%)	0 (0%)	
Animal doente no peridomicílio	8 (50%)	-	-
Sinais e sintomas antes do tratamento			
Febre	12 (75%)	-	-
Astenia	12 (75%)	-	-
Esplenomegalia	11 (68,8%)	-	-
Hepatomegalia	11 (68,8%)	-	-
Perda ponderal	11 (68,8%)	-	-
Esplenomegalia	11 (68,8%)	-	-
Anorexia	10 (62,5%)	-	-
Náuseas e vômitos	5 (31,3%)	-	-
Palidez	4 (25%)	-	-
Dispneia	3 (18,8%)	-	-
Diarreia	1(6,3%)	-	-

PAS-pressão arterial sistólica; PAD-pressão arterial diastólica; RMF-região metropolitana de Fortaleza. Valores expressos como média ± desvio-padrão ou números absolutos e porcentagens. Significativo $P < 0,05$ vs. controle pelo teste t de Student e Mann-Whitney.

Os pacientes com LV apresentaram uma média de 109±101 dias (variando entre um e 365 dias) entre o início dos sintomas até o diagnóstico e início do tratamento. O diagnóstico foi realizado através da positividade do antígeno recombinante K-39 em 11 (68,8%) dos pacientes. A pesquisa direta do parasito (presença da *Leishmania* em sua forma amastigota) em aspirado de medula óssea

foi o método diagnóstico em quatro (25%) dos pacientes e um (6,3%) paciente foi diagnosticado através da combinação de dados clínicos e epidemiológicos e reação de imunofluorescência indireta positiva (1:80).

Todos os pacientes foram tratados por um período que variou entre 20 a 30 dias, conforme preconizado pelo MS, com antimônio pentavalente (N-metil-glucamina) na dose de 20 mg/Kg/dia de Sb⁺⁵. Não houve óbitos durante o tratamento.

6.2 Avaliação laboratorial pré-tratamento

A avaliação do hemograma dos pacientes LV pré-tratamento demonstrou hemoglobina e hematócrito diminuídos quando comparado ao grupo controle (9 ± 2 vs. 15 ± 1 g/dL, $p<0,001$ e $26,7\pm 5,9$ vs. $45,1\pm 2,7\%$, $p<0,001$, respectivamente). Também foi evidenciada redução de leucócitos e plaquetas (3075 ± 1100 vs. 6173 ± 221 mm³, $p=0,001$ e $76400\pm 35,538$ vs. $285000\pm 36,756$ mm³, $p=0,004$, respectivamente). Os pacientes apresentavam ainda média de albumina sérica de $2,8\pm 0,6$ g/dL (variando entre 1,9-3,8 g/dL), valor de referência 3,2-4,8 g/dL, aspartato aminotransferase média 70 ± 74 UI/L (variando entre 13-267 UI/L), valor de referência até 34 UI/L, alanina aminotransferase média 51 ± 4 UI/L (variando entre 90-335 UI/L), valor de referência 10-49 UI/L e bilirrubina total média $0,91\pm 0,67$ g/dL (variando entre 0,16-2,2 g/dL), valor de referência até 1,2 mg/dL. Os dados encontram-se descritos na Tabela 2.

Tabela 2 – Características laboratoriais (hemograma) dos pacientes com leishmaniose visceral (LV) pré-tratamento *versus* grupo controle

Exames laboratoriais (sangue)	Grupo LV (pré-tratamento) N=16	Grupo controle N=13	P
Ht (%)	26,7±5,9	45,1±2,7	<0,001
Hb (g/dL)	9,0±2,0	15±1,0	<0,001
Leucócitos (mm ³)	3075±2688	6173±221	0,001
Plaquetas (mm ³)	76400±35538	285000±36756	0,004

Ht-hematócrito; Hb-hemoglobina; AST-aspartato aminotransferase (valor de referência até 34 U/L); ALT-alanina aminotransferase (valor de referência 10 a 49 U/L); Bilirrubina total, direita e indireta valores de referência até 1,2, 0,2 e 1,0 mg/dL respectivamente ; albumina valor de referência 3,2 a 4,8 g/dL. Valores expressos como média ± desvio-padrão ou números absolutos e porcentagens. Significativo $P < 0,05$ vs. controle pelo teste t de Student e Mann-Whitney.

6.3 Avaliação da função renal pré-tratamento (creatinina, taxa de filtração glomerular e proteinúria)

Com relação à avaliação da função renal, baseado nos critérios descritos anteriormente, não foi observado pacientes no pré-tratamento com creatinina plasmática (Pcr) superior a 1,2 mg/dL. O valor médio da Pcr no grupo LV pré-tratamento foi de 1,0±0,2 mg/dL (variando entre 0,7-1,2mg/dL) e no grupo controle o valor médio também foi de 1,0±0,2 mg/dL (variando entre 0,7-1,2mg/dL), $p=0,80$.

Quando verificada a taxa de filtração glomerular (TFG), através do cálculo estimado pela fórmula CKD-EPI, seis pacientes do grupo LV pré-tratamento apresentaram resultado inferior a 90 mL/ min/1,73m² e dois pacientes apresentaram valor superior a 120 mL/ min/1,73m² (variando de 66,3-134,4 mL/ min/1,73 m²). A média nesse grupo não apresentou diferença estatística quando comparada ao grupo controle (93,5±20,2 vs.94,6±22,4 mL/min/1,73m², $p=0,889$, para grupo LV e controle respectivamente).

Os valores de microalbuminúria foram superiores a 30 mg/gCr em três dos pacientes do grupo LV pré-tratamento. A dosagem de microalbuminúria

apresentou valor médio de $17,3 \pm 23,8$ mg/gCr no grupo LV pré-tratamento e $6,7 \pm 6,3$ mg/gCr no grupo controle, $p=0,135$.

A proteinúria mostrou-se significativamente maior no grupo pré-tratamento, quando este foi comparado ao grupo controle ($250,6 \pm 375,5$ vs. $83,7 \pm 49,2$ mg/24h, $p=0,022$) e ao pós-tratamento ($250,6 \pm 375,5$ vs. $83,7 \pm 49,2$ mg/24h, $p=0,022$). Um resumo dos dados da avaliação da função renal através desses parâmetros encontra-se na Tabela 3.

Tabela 3 – Avaliação da função renal do grupo LV pré-tratamento *versus* grupo controle com relação à creatinina, taxa de filtração glomerular e proteinúria

	Grupo LV (pré-tratamento) N=16	Grupo controle N=13	P
P_{Cr} (mg/dL)	1,0±0,2	1,0±0,2	0,802
P_{Ur} (mg/dL)	32±11	26±8	0,200
TFG através do CKD-EPI (mL/min/1,73m²)	93,5±20,2	94,6±22,4	0,889
Proteinúria (mg/24h)	250,6±375,5	83,7±49,2	0,022
Microalbuminúria (mg/dL)	17,3±23,8	6,7±6,3	0,135
Volume urinário (mL/24h)	2008±1118	1351±487	0,059

P_{Cr}-creatinina plasmática; P_{Ur}-ureia plasmática; CKD-EPI-*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*. Valores expressos como média ± desvio-padrão ou números absolutos e porcentagens. Significativo $P < 0,05$ vs. controle pelo teste t de Student e Mann-Whitney.

6.4 Avaliação dos eletrólitos séricos e urinários pré-tratamento

Quando foram avaliados os eletrólitos séricos observou-se que os pacientes do grupo LV pré-tratamento não apresentaram diferenças estatísticas quando comparados ao grupo controle com relação às dosagens séricas de sódio, potássio, fósforo, cloro e magnésio.

Os pacientes LV pré-tratamento apresentaram fração de excreção de sódio (FE_{Na}) maior quando comparada ao grupo controle ($0,95\pm 0,52\%$ vs. $0,54\pm 0,21\%$, $p=0,01$). A fração de excreção de potássio (FE_K) não demonstrou significância estatística quando comparada ao controle ($5,5\pm 4,3\%$ vs. $4,9\pm 2,8\%$, $p=0,68$). O gradiente transtubular de potássio (TTKG) e o transporte de água livre de solutos (T_{CH_2O}) não demonstraram diferenças quando comparados ao grupo controle. Um resumo dos dados encontra-se na Tabela 4.

Tabela 4 – Avaliação dos eletrólitos séricos e urinários do grupo LV pré-tratamento versus grupo controle

	Grupo LV (pré-tratamento) N=16	Grupo controle N=13	P
S_{Na} (mEq/L)	136±3	138±4	0,136
S_K (mEq/L)	4,0±0,4	4,3±0,5	0,077
S_{Mg} (mEq/L)	2,0±0,3	2,0±0,2	0,947
S_{Cl} (mEq/L)	104±7	108±8	0,441
S_P (mg/dL)	3,9±0,6	3,5±0,6	0,192
U_{Na} (mEq/24h)	123±63	122±26	0,95
U_K (mEq/24h)	28±19	31±9,1	0,62
FE_{Na} (%)	0,95±0,52	0,54±0,21	0,01
FE_K (%)	5,5±4,3	4,9±2,8	0,68
TTKG	2,48±1,75	2,71±1,87	0,753
T_{CH_2O} (L/dia)	0,98±0,82	1,13±0,35	0,56

S_{Na} -sódio sérico; S_K -potássio sérico; S_{Mg} -magnésio sérico; S_{Cl} -cloro sérico; S_P -fósforo sérico; U_{Na} -sódio urinário; U_K -potássio urinário; FE_{Na} -fração de excreção de sódio; FE_K -fração de excreção de potássio; TTKG-transporte transtubular de potássio; T_{CH_2O} -transporte de água livre de solutos. Valores expressos como média ± desvio-padrão ou números absolutos e porcentagens. Significativo $P < 0,05$ vs. controle pelo teste t de Student e Mann-Whitney.

6.5 Capacidade de concentração urinária pré-tratamento

Após um período de jejum absoluto de 12 horas (considerado T0) os pacientes do grupo LV pré-tratamento apresentaram valores menores de osmolaridade urinária quando comparados ao grupo controle (478 ± 107 vs. 744 ± 182 mOsm/L, $p < 0,001$). Os valores mais baixos nesse grupo LV pré-tratamento repetiram-se mesmo após teste de concentração (acetato de desmopressina na dose de 20 mcg - DDAVP®), sendo esse período considerado T4 (516 ± 113 vs. 743 ± 189 mOsm/L, $p < 0,001$).

Quando avaliada a relação entre a osmolaridade urinária e a osmolaridade plasmática (U_{Osm}/P_{Osm}) também foi verificado que os pacientes do grupo LV pré-tratamento apresentavam níveis mais baixos quando comparados ao grupo controle em T0 ($1,63 \pm 0,37$ vs. $2,60 \pm 0,67$, $p < 0,001$) e em T4 ($1,78 \pm 0,40$ vs. $2,54 \pm 0,63$, $p = 0,001$).

Todos os pacientes LV pré-tratamento apresentaram osmolaridade urinária < 700 mOsm/L e relação $U_{Osm}/P_{Osm} < 2,8$ no T4 ($p < 0,001$ e $p = 0,013$ respectivamente).

6.6 Capacidade de acidificação urinária pré-tratamento

A capacidade de acidificação urinária foi avaliada através da medida do pH urinário e bicarbonato sérico no períodos T0 e T4, considerando que foi realizada uma sobrecarga ácida de $CaCl_2$ na dose de 100mg/kg. O pH urinário no T0 (U_{pH} T0) dos pacientes LV pré-tratamento não apresentou diferença estatisticamente significativa quando comparado ao grupo controle ($5,99 \pm 0,94$ vs. $5,55 \pm 0,54$, $p = 0,149$). Entretanto, após a sobrecarga de $CaCl_2$ observou-se que o pH urinário no T4 (U_{pH} T4) dos pacientes LV pré-tratamento foi maior ($5,71 \pm 0,84$ vs. $5,08 \pm 0,43$, $p = 0,018$). Dos pacientes LV pré-tratamento, nove deles (56,2%) apresentaram U_{pH} superior a 5,5 após sobrecarga ácida com $CaCl_2$, conforme Tabela 4.

O bicarbonato sérico foi significativamente menor no grupo LV pré-tratamento, quando comparado ao grupo controle (22 ± 2 vs. 29 ± 4 mEq/L

antes do CaCl_2 , $p < 0,001$ e 21 ± 2 vs. $26 \pm 1 \text{ mEq/L}$ após o CaCl_2 , $p < 0,001$), conforme Tabela 5.

Na Tabela 6, observa-se um resumo da comparação do grupo LV pré-tratamento *versus* controle com relação aos déficits de concentração e acidificação urinárias e a seguir na figura 5 observa-se a prevalência de déficit de concentração e acidificação urinária com microalbuminúria e TFG.

Tabela 5 – Avaliação da capacidade de concentração e acidificação urinárias no grupo LV pré-tratamento *versus* controle

	Grupo LV (pré-tratamento) N=16	Grupo controle N=13	P
U_{Osm} T0 (mOsm/L)	478±107	744±182	<0,001
U_{Osm} T4 (mOsm/L)	516±113	743±189	<0,001
$U_{\text{Osm}}/P_{\text{Osm}}$ T0	1,63±0,37	2,60±0,67	<0,001
$U_{\text{Osm}}/P_{\text{Osm}}$ T4	1,78±0,40	2,54±0,63	0,001
pH venoso T0	7,37±0,05	7,39±0,05	0,508
pH venoso T4	7,36±0,05	7,35±0,05	0,932
HCO_3 T0 (mEq/L)	22,0±2,0	29,0±4,0	<0,001
HCO_3 T4 (mEq/L)	21,0±2,0	26,0±1,0	<0,001
U_{pH} T0	5,99±0,94	5,55±0,54	0,149
U_{pH} T4	5,71±0,84	5,08±0,43	0,018

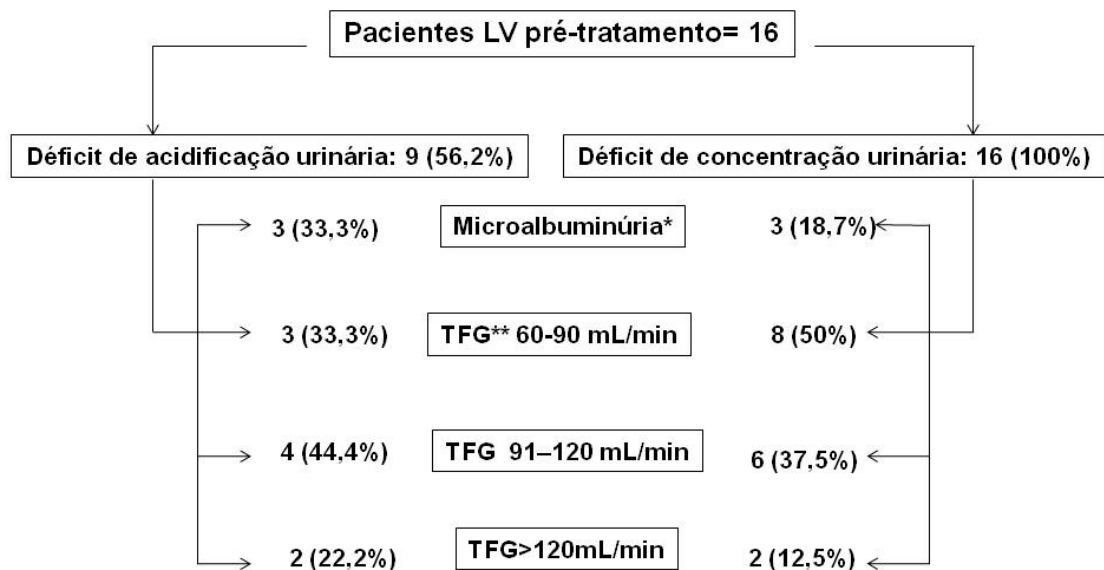
U_{Osm} -Osmolaridade urinária; $U_{\text{Osm}}/P_{\text{Osm}}$ -relação entre osmolaridade urinária e osmolaridade plasmática; HCO_3 -bicarbonato; U_{pH} -pH urinário; T0-tempo zero; T4-tempo 4. Valores expressos como média \pm desvio-padrão ou números absolutos e porcentagens. Significativo $P < 0,05$ vs. controle pelo teste t de Student e Mann-Whitney.

Tabela 6 – Comparação do grupo LV pré-tratamento *versus* controle com relação aos déficits de concentração e acidificação urinárias

	Grupo LV (pré-tratamento) N=16	Grupo controle N=13	P
U_{Osm} < 700 mOsm/L (T4)	16 (100%)	2 (15,4%)	0,0001
U_{Osm}/ P_{Osm} < 2,8 (T4)	16 (100%)	1 (7,7%)	0,0001
U_{pH} > 5,5 (T4)	9 (56,2%)	1 (7,7%)	0,008

U_{Osm}-Osmolaridade urinária; U_{Osm}/ P_{Osm}-relação entre osmolaridade urinária e osmolaridade plasmática; U_{pH}-pH urinário; T0-tempo zero; T4-tempo 4. Valores expressos como números absolutos e porcentagens. Significativo $P < 0,05$.

Figura 5 – Prevalência de déficit de concentração e acidificação urinária, alterações da taxa de filtração glomerular e microalbuminúria entre os pacientes LV pré-tratamento



* Considerados valores positivos entre 30-300 mg/dL. Não houve macroalbuminúria. ** Avaliada através do cálculo estimado pela fórmula CKD-EPI / *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*

6.7 Reavaliação da função renal (creatinina, taxa de filtração glomerular e proteinúria) e eletrólitos urinários pós-tratamento

Dos 16 pacientes com diagnóstico de LV que utilizaram antimônio pentavalente e foram incluídos no estudo cinco deles foram reavaliados no período de 90 dias após o término do tratamento. A média de creatinina plasmática foi de $1,1 \pm 0,1$ vs. $1,1 \pm 0,2$ mg/d, $p=0,414$ quando comparados os grupos pré e pós-tratamento. Não houve diferença também quando avaliada a TFG através da estimativa do cálculo pelo CKD-EPI.

Dados relativos à microalbuminúria demonstraram média no pré-tratamento de $14,5 \pm 14$ vs. $8,1 \pm 8,9$ mg/gCr, $p=0,465$. Dos cinco pacientes avaliados, nenhum deles apresentou microalbuminúria > 30 mg/gCr no pós-tratamento. Apenas um deles apresentava valor acima de 30 mg/gCr antes do tratamento que regrediu na avaliação pós-tratamento. Com relação à proteinúria de 24h observou-se uma redução significativa no pós-tratamento demonstrada na Tabela 7.

A fração de excreção de sódio FE_{Na} e FE_K não apresentou diferença estatística quando comparados os dados do grupo reavaliado pós-tratamento, com $p=0,36$ e $0,82$, respectivamente. Os valores do gradiente transtubular de potássio (TTKG) e do clearance de água livre de solutos (T_{CH_2O}) não demonstraram significância estatística, quando reavaliados pós-tratamento. Um resumo dos dados encontra-se na Tabela 8.

Tabela 7 – Comparação da função renal no grupo de pacientes avaliados antes e após o tratamento com relação à creatinina, taxa de filtração glomerular e proteinúria

	Grupo LV (pré-tratamento) N=5	Grupo LV (pós-tratamento) N=5	P
P_{Cr} (mg/dL)	1,1±0,1	1,1±0,2	0,414
TFG através do CKD-EPI (mL/min/1,73m²)	82,4±12,2	83,1±22,7	0,593
Proteinúria (mg/24h)	268,1±259,4	113,3±50,1	0,043
Microalbuminúria (mg/dL)	14,5±14,0	8,1±8,9	0,465
Volume urinário (mL/24h)	1803±1068	1263±583	0,043

P_{Cr}-creatinina plasmática; P_{Ur}-ureia plasmática; CKD-EPI-*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*. Valores expressos como média ± desvio-padrão ou números absolutos e porcentagens. Significativo $P < 0,05$ vs. pós-tratamento pelo teste de Wilcoxon.

Tabela 8 – Avaliação de eletrólitos urinários no grupo de pacientes avaliados antes e após o tratamento

	Grupo LV (pré-tratamento) N=5	Grupo LV (pós-tratamento) N=5	P
U_{Na} (mEq/24h)	124±81	102±37	0,59
U_K (mEq/24h)	39±24	25±9,3	0,25
FE_{Na} (%)	0,73±0,27	0,92±0,35	0,36
FE_K (%)	8,7±5,1	8,0±4,4	0,82
TTKG	3,48±1,93	2,74±1,03	0,345
T_{CH₂O} (L/dia)	0,93±0,54	0,81±0,39	0,69

FE_{Na}-fração de excreção de sódio; FE_K-fração de excreção de potássio; TTKG-transporte transtubular de potássio; T_{CH₂O}-transporte de água livre de solutos. Valores expressos como média ± desvio-padrão ou números absolutos e porcentagens. Significativo $P < 0,05$ vs. controle pelo teste de Wilcoxon.

6.8 Capacidade de concentração e acidificação urinária pós-tratamento

Os pacientes LV que foram tratados e reavaliados com teste de concentração urinária com acetato de desmopressina - DDAVP® em um período de 90 dias após término do tratamento persistiram com osmolaridade urinária média no T0 e T4 abaixo de 700mOsm/L e relação U_{Osm}/P_{Osm} em média inferior a 2,8. Não houve significância estatística quando comparadas com as médias de suas dosagens antes do tratamento específico. Apenas um paciente apresentou osmolaridade urinária acima de 700mOs/L no T4.

A reavaliação da capacidade de acidificação urinária não evidenciou diferença estatística significativa quando avaliado o pH urinário nos tempos T0 e T4. O bicarbonato sérico não apresentou diferença estatística no período T0. Entretanto, no período T4 observou-se uma tendência a um valor menor no grupo antes do tratamento, quando comparado a esse mesmo grupo após o tratamento (20 ± 2 vs. 27 ± 1 mEq/L antes do $CaCl_2$, $p=0,109$ e 21 ± 3 vs. 25 ± 2 mEq/L após o $CaCl_2$, $p<0,068$), conforme tabela 7. Dos cinco pacientes reavaliados dois deles (40%) persistiram com $U_{pH}>5,5$ no período T4. Os dados relacionados aos testes de concentração e acidificação urinárias dos cinco pacientes antes e após o tratamento estão descritos na Tabela 10.

Tabela 9 – Comparação da capacidade de concentração e acidificação urinárias entre os pacientes avaliados antes e após o tratamento

	Grupo LV (pré-tratamento) N=5	Grupo LV (pós-tratamento) N=5	P
U _{Osm} T0 (mOsm/L)	518±51	557±69	0,500
U _{Osm} T4 (mOsm/L)	581±84	622±89	0,686
U _{Osm} / P _{Osm} T0	1,77±0,24	1,90±0,25	0,500
U _{Osm} / P _{Osm} T4	1,96±0,27	2,14±0,31	0,345
pH venoso T0	7,35±0,05	7,38±0,02	0,593
pH venoso T4	7,33±0,04	7,35±0,02	0,593
HCO ₃ T0 (mEq/L)	20,0±2,0	27,0±1,0	0,109
HCO ₃ T4 (mEq/L)	21,0±3,0	25,0±2,0	0,068
U _{pH} T0	5,54±0,42	5,49±0,32	0,684
U _{pH} T4	5,61±0,55	5,25±0,53	0,715

U_{Osm}-Osmolaridade urinária; U_{Osm}/ P_{Osm}-relação entre osmolaridade urinária e osmolaridade plasmática; HCO₃-bicarbonato; U_{pH}-pH urinário; T0-tempo zero; T4-tempo 4. Valores expressos como média ± desvio-padrão ou números absolutos e porcentagens. Significativo P < 0,05 vs. controle pelo teste de Wilcoxon.

Tabela 10 – Resultados dos testes de concentração e acidificação urinárias dos cinco pacientes antes e após o tratamento

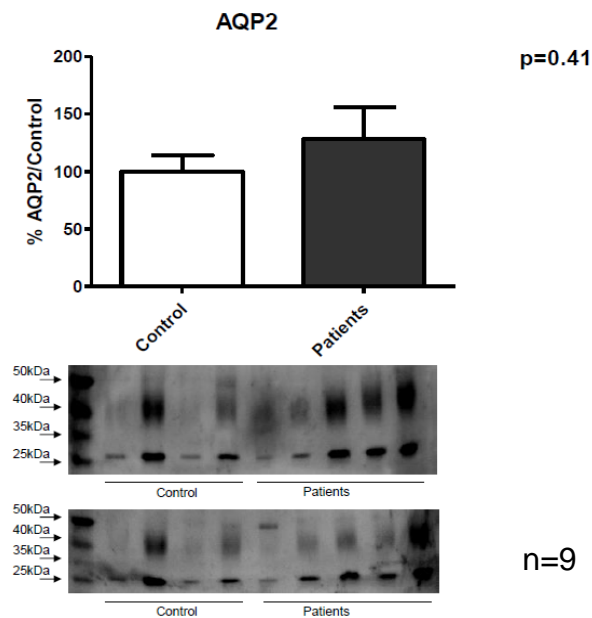
	Paciente 1	Paciente 2	Paciente 3	Paciente 4	Paciente 5
U _{Osm} mOsm/L (T0 e T4)*	596 / 524	485 / 619	467 / 639	542 / 658	502 / 463
U _{Osm} mOsm/L (T0 e T4) [§]	542 / 489	645 / 676	589 / 650	458 / 580	552 / 714
U _{Osm} / P _{Osm} (T0 e T4)*	2,0 / 1,7	1,6 / 2,0	1,4 / 2,0	1,9 / 2,2	1,7 / 1,5
U _{Osm} / P _{Osm} (T0 e T4) [§]	1,8 / 1,6	2,2 / 2,3	1,9 / 2,2	1,5 / 2,0	1,8 / 2,4
U _{pH} (T0 e T4)*	5,4 / 5,9	5,1 / 5,5	5,1 / 4,7	5,8 / 6,1	6,0 / 5,8
U _{pH} (T0 e T4) [§]	5,6 / 6,1	5,1 / 5,0	5,3 / 5,2	5,9 / 6,1	5,3 / 5,2

* Dados antes do tratamento § Dados após o tratamento
U_{Osm}-Osmolaridade urinária; U_{Osm}/ P_{Osm}-relação entre osmolaridade urinária e osmolaridade plasmática; U_{pH}-pH urinário; T0-tempo zero; T4-tempo 4. Valores expressos números absolutos.
Fonte: dados da pesquisa.

6.9 Pesquisa de exossomas urinários

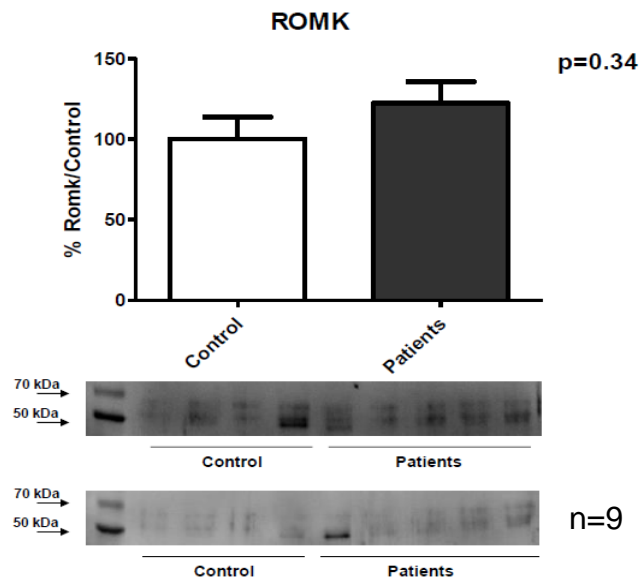
Foi realizada a pesquisa de AQP2 entre os pacientes do grupo LV pré-tratamento comparando com o grupo controle e não foi evidenciada diferença estatística significativa ($128\pm 88\%$ vs. $100\pm 40\%$, $p=0,41$), conforme Figura 6.

Figura 6 – Aquaporina 2 (AQP2) na fração de exossomas urinários pelo *western blotting* em pacientes com LV e controles sadios



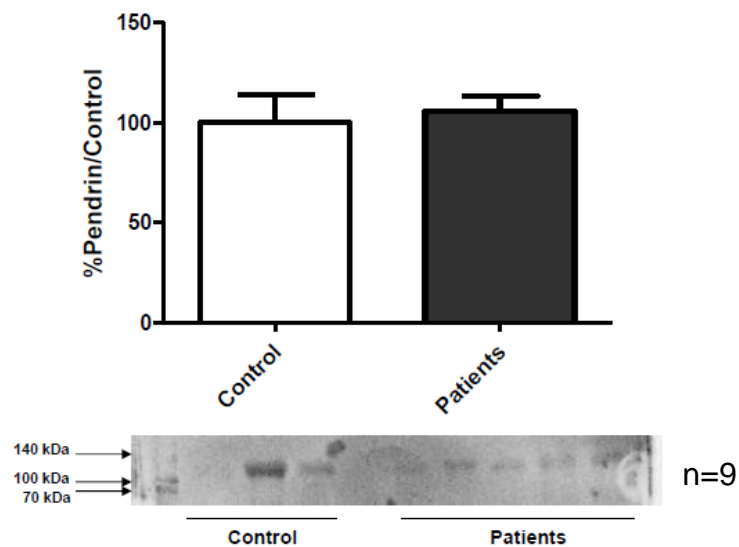
A pesquisa do canal apical de potássio (ROMK) entre os pacientes do grupo LV pré-tratamento comparando com o grupo controle não evidenciou diferença estatística significativa ($122\pm 42\%$ vs. $100\pm 27\%$, $p=0,34$), conforme Figura 7.

Figura 7 – Canal de potássio apical (ROMK) na fração de exossomas urinários pelo *western blotting* em pacientes com LV e controles sadios



A pesquisa da pendrina entre os pacientes do grupo LV pré-tratamento comparando com o grupo controle também não evidenciou diferença estatística significativa ($105 \pm 7,5\%$ vs. $100 \pm 13\%$, $p=0,48$), conforme Figura 8.

Figura 8 – Pendrina na fração de exossomas urinários pelo *western blotting* em pacientes com LV e controles sadios



6.10 Pesquisa da proteína quimiotática de monócitos e malondialdeído urinários antes do tratamento

Os valores de MCP-1 urinário foram mais elevados no grupo LV pré-tratamento comparando com o grupo controle (374 ± 359 vs. 42 ± 29 pg/mg-Cr, $p=0,002$). Com relação aos valores de MDA urinários estes foram mais elevados nos pacientes LV pré-tratamento comparado ao grupo controle ($5,4\pm 2,6$ vs. $2,0\pm 0,8$ $\mu\text{mol/mL}$). Na tabela 11 observam-se os valores individuais de MCP-1 e MDA urinários.

Tabela 11 – Resultados individuais do MCP-1 e MDA urinários em pacientes com LV antes do tratamento e do grupo controle

	MCP-1 urinário LV pacientes	MDA urinário LV pacientes	MCP-1 urinário Controles	MDA urinário Controles
1	281,2	6,2	15,8	3,5
2	127,4	3,5	64,1	1,7
3	48,4	3,5	19,0	1,2
4	315,1	5,7	27,5	2,7
5	96,3	7,1	100,3	2,0
6	94,2	5,0	23,1	2,8
7	546,0	3,5	101,0	1,4
8	412,9	3,6	44,2	1,2
9	235,6	2,5	29,3	2,9
10	93,7	4,3	26,1	2,7
11	525,4	6,5	10,0	1,2
12	553,3	3,8	41,9	2,2
13	468,4	6,3	50,3	0,2
14	1148,7	8,3	43,0	2,4

MCP-1 – protein quimiotática de monócitos-1 (pg/mg-Cr) and MDA – ácido malondialdeído ($\mu\text{mol/mL}$).

7 DISCUSSÃO

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença de grande importância epidemiológica, incluída pela OMS no grupo das doenças tropicais negligenciadas, de larga ocorrência em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento. São estimados pela OMS anualmente cerca de 400.000 novos casos e 60.000 mortes, de acordo com levantamento realizado no período entre 2007 e 2011 com dados de 98 países, considerando ainda a possibilidade de números subestimados dada a fragilidade de alguns países em seus registros epidemiológicos.

No Brasil, como em outros países em desenvolvimento, a situação epidemiológica para a LV também é semelhante, considerando a urbanização e reemergência da doença especialmente em áreas economicamente desfavorecidas como a região Nordeste do país (GONTIJO; MELO, 2004; DANTAS-TORRES; BRANDÃO FILHO, 2006; ALBUQUERQUE *et al.*, 2009).

A LV é uma doença que pode acometer múltiplos órgãos, entre eles o rim por diferentes e complexos mecanismos, podendo levar a alterações túbulo-intersticiais e glomerulares (CLEMENTI *et al.*, 2011; BARSOU, 2013). O envolvimento intersticial em geral é mais pronunciado, podendo ou não haver comprometimento glomerular. A nefrite intersticial manifesta-se principalmente através de alterações tubulares como déficit de acidificação urinária e redução da capacidade de concentração urinária, além de alterações na reabsorção tubular proximal de proteínas de baixo peso molecular, sódio, cloro, potássio, glicose, ácido úrico, cálcio, fósforo e magnésio (LIMA VERDE *et al.*, 2008; LIMA VERDE *et al.*, 2009). Nos casos em que ocorre lesão glomerular os relatos são de glomerulonefrite proliferativa mesangial e membranoproliferativa, sendo possível encontrar depósitos eletro densos no mesângio e membrana basal glomerular de Imunoglobulina M (IgM), Imunoglobulina G (IgG) e C3. Acredita-se que, além do depósito de imunocomplexos outros fatores, como a presença de células T CD4⁺, participação de moléculas de adesão e diminuição da apoptose possam contribuir na patogênese da glomerulonefrite na LV (COSTA *et al.*, 2010).

As alterações renais ocasionadas pela *Leishmania* são bem documentadas em estudos experimentais com animais (SALGADO-FILHO; FERREIRA; COSTA, 2003; TORRES *et al.*, 2013).

Estudo recente realizou a análise microscópica de rins de cães infectados pela *Leishmania* e demonstrou que a principal alteração é a nefrite intersticial mononuclear (59,3% dos casos) e que a carga parasitária não influenciou na característica dessas lesões e nem nas alterações bioquímicas encontradas nesses animais (TORRES *et al.*, 2013).

A avaliação do acometimento renal na LV em seres humanos tem sido tema de grande importância devido às complicações e aumento da morbimortalidade. Estudo retrospectivo realizado por nosso grupo com 224 pacientes na cidade de Fortaleza demonstrou que 1/3 do pacientes desenvolveram lesão renal aguda (LRA) durante a internação e que a mortalidade foi maior nesse grupo de pacientes (OLIVEIRA, 2010).

No presente estudo não foi evidenciado aumento da creatinina sérica acima de 1,2 mg/dL antes ou após o tratamento específico da LV e não houve diferença estatística quando comparado o grupo LV pré-tratamento ao grupo controle ou quando comparados os dados do grupo de pacientes reavaliados após o tratamento. Em estudo desenvolvido por nosso grupo o desenvolvimento de LRA, considerando creatinina sérica >1,3 mg/dL, foi detectado em 26,2% dos 57 pacientes estudados, o que foi atribuído à idade mais avançada e ao longo período de internação e tratamento que necessitaram esses pacientes, comparado àqueles que apresentaram valores de creatinina <1,3 mg/dL (DAHER *et al.*, 2008). Em outro estudo realizado com 37 pacientes com leishmaniose tegumentar americana no Estado do Ceará, onde foi avaliada a função renal através de diversos parâmetros, foi encontrada creatinina sérica média 0,81mg/dL, sem significância estatística quando comparada ao grupo controle de 10 pacientes (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Estudo retrospectivo realizado no Estado do Mato Grosso do Sul com 163 pacientes evidenciou que o risco de persistência de creatinina sérica > 1,3 mg/dL após o tratamento foi maior nos pacientes que já apresentavam níveis mais altos à

admissão, sendo mais elevados ainda naqueles que também apresentavam proteinúria (RIGO; RIGO; HONER, 2009).

Sabe-se que a creatinina sérica não é um bom marcador para avaliação isolada da função renal, pois sua produção não é constante, é secretada pelos túbulos e em ocasiões especiais pode ser reabsorvida. Ademais seu método de análise pode exibir interferências e sua produção é diferente em crianças, mulheres e homens adultos, em função da massa muscular (PERRONE; MADIAS; LEVEY, 1992). Dessa maneira, é importante que outros parâmetros sejam adotados para melhor esclarecer danos à função renal. A TFG pode ser aplicada entre esses parâmetros e no presente estudo foi optado pelo cálculo estimado através da fórmula CKD-EPI (LEVEY *et al.*, 2009; BERMÚDEZ *et al.*, 2010; DELANAYE; POTTEL; BOTEV, 2013; INKER; LEVEY, 2013).

A avaliação da TFG não apresentou diferença significativa quando comparados os pacientes antes do tratamento com o grupo controle e também quando reavaliado um grupo de pacientes após o tratamento e comparado com seus dados pré-tratamento. Foi verificado que seis pacientes antes do tratamento apresentavam TFG abaixo de 90 mL/min/ 1,73 m² e apenas dois pacientes apresentaram valor acima de 120 mL/ min/1,73m². Dados encontrados por Lima Verde *et al.* (2007), avaliando 50 pacientes com diagnóstico de LV e comparando com grupo controle para avaliação da função renal, demonstraram que a TFG (nesse caso avaliada pela medida laboratorial da depuração da creatinina endógena através da obtenção do volume urinário em 24 horas) também não demonstrou diferença estatística, contudo os autores encontraram um maior número de pacientes com hiperfiltração glomerular (28% dos casos com TFG > 140 mL/ min/1,73m²). Entretanto, é importante considerar a diferença na metodologia da avaliação da TFG nos dois estudos e o número de pacientes envolvidos em cada um deles.

Os pacientes do presente estudo foram avaliados quanto à presença de microalbuminúria antes e após o tratamento, não sendo evidenciada diferença estatística nesses dois períodos. Os valores de microalbuminúria foram superiores a 30 mg/gCr em três dos 16 pacientes do grupo LV pré-tratamento e nenhum dos pacientes reavaliados no pós-tratamento apresentava níveis acima desse valor. A microalbuminúria é considerada como um marcador precoce de dano glomerular

em diversos estudos. Dados revisados em meta-análise já demonstraram seu custo-efetividade em populações de maior risco como hipertensos, diabéticos e idosos. Não há, entretanto, consenso de sua utilização na população em geral, sem comorbidades, como marcador precoce de doença renal (WU *et al.*, 2013).

Em estudo recente realizado na Índia com 40 pacientes pediátricos demonstrou que 37,5% deles apresentaram microalbuminúria acima de 30mg/24h. Todos esses casos tinham valores de creatinina e ureia séricas normais à admissão, demonstrando que pode haver dano glomerular precoce já detectado, visto que a creatinina não é um bom marcador isolado da função renal. Dos 40 pacientes avaliados 27,5% deles apresentavam redução na TFG no momento da admissão (VERMA *et al.*, 2013). Outro estudo realizado no Sudão com 88 crianças diagnosticadas com LV demonstrou que 40% delas apresentavam microalbuminúria detectável em testes através da técnica de ELISA e que todas tinham níveis de ureia e creatinina sérica normais, corroborando uma possível utilidade da microalbuminúria como teste precoce de dano glomerular na LV (ELNOJOMI *et al.*, 2010).

Em nosso meio estudo realizado com 50 pacientes com diagnóstico de leishmaniose cutânea americana evidenciou que 35% deles apresentavam microalbuminúria acima de 30 mg/gCr antes do tratamento com antimonial pentavalente e que apenas 8% dos casos persistiram com microalbuminúria acima desse valor após o tratamento, $p=0,004$. O autor conclui que a microalbuminúria pode não ser um marcador bem definido de lesão glomerular nas doenças infecciosas (OLIVEIRA *et al.*, 2012).

Com relação à avaliação da proteinúria, os pacientes no presente estudo apresentaram média de 250mg/24h que foi significativamente maior que a do grupo controle em torno de 83mg/24h ($p=0,022$). Dado importante a ser ressaltado é que, em um grupo de pacientes reavaliados após três meses de tratamento, foi observada que a proteinúria regrediu significativamente. Estudos anteriores demonstraram que os pacientes com LV geralmente apresentam proteinúria abaixo de 1g/24h, constituída predominantemente por frações globulínicas de baixo peso molecular, denotando uma característica de proteinúria de origem tubular (DUTRA; MARTINELLIM; CARVALHO, 1985; LIMA VERDE *et al.*, 2009).

Em estudo com 11 pacientes na fase aguda da LV, Salgado-Filho; Ferreira e Costa (2003) demonstraram a presença de proteinúria em dez deles e apenas um paciente apresentou níveis acima de 3,5g/24h, considerado como nefrótico. Além disso, verificou-se um grau de comprometimento tubular proximal, através do aumento na excreção da proteína ligadora de retinol (RBP), em 45,4% dos pacientes.

É importante ressaltar a proteinúria como fator agravante de piora da função renal. Estudo realizado no Mato Grosso com 163 pacientes, em sua maioria crianças e adultos jovens, ressaltou que aqueles que apresentavam proteinúria à admissão tinham 7,4 vezes mais chances de apresentar alterações na creatinina sérica no pós-tratamento; quando a creatinina já estava alterada, a chance era de 3,8 vezes de permanecer alterada e se houvesse os dois marcadores (proteinúria e creatinina sérica aumentada à admissão) o risco de persistência de creatinina elevada subia para 7,1 vezes (RIGO; RIGO; HONER, 2009).

Outra maneira de avaliar a disfunção tubular proximal é através da dosagem da β -2-microglobulina urinária, que se encontra elevada nos pacientes com LV, como foi demonstrado em estudo anterior. A oferta de proteínas de baixo peso molecular ao túbulo proximal pode ser decorrente da expansão volêmica, lembrando que esses pacientes apresentam β -2-microglobulina sérica tipicamente aumentada, como resposta do sistema linfoplasmocitário ao quadro inflamatório. Contudo, à medida que a doença evolui para a cronicidade, a albuminúria também pode aumentar, denotando maior comprometimento a nível glomerular e sobrepondo uma proteinúria mista de caráter tubular e glomerular (LIMA VERDE *et al.*, 2009).

Em relação aos distúrbios eletrolíticos não foi observada diferença estatística, quando comparado o grupo LV pré-tratamento com o grupo controle quanto às dosagens séricas de sódio, potássio, fósforo, magnésio, e cloro. Os valores de sódio e potássio urinário também não foram estatisticamente diferentes quando comparados ao grupo controle de voluntários sadios. Resultado diferente foi encontrado por Lima Verde *et al.* (2009), quando avaliou 55 pacientes com LV, evidenciando que as dosagens séricas dos eletrólitos apresentavam reduzidas com a seguinte distribuição: sódio (94,5%), magnésio (41,8%), cálcio (32%), cloro (27,2%) e potássio (26%). A diferença possivelmente encontra-se no fato de que no

presente estudo todos os pacientes apresentavam a forma não-grave da LV, sem uso de anfotericina B, apenas em uso de antimonial pentavalente como preconizado para pacientes não graves.

Em outro estudo realizado por nosso grupo com 57 pacientes diagnosticados com LV foi evidenciada redução significativa do potássio sérico entre os pacientes com creatinina sérica superior a 1,3 mg/dL, quando comparado àqueles com creatinina inferior a esse valor ($p=0,008$), ressaltando que esses pacientes fizeram uso, em sua maioria, de anfotericina B para tratamento da doença, o que pode ter contribuído para o achado (DAHER *et al.*, 2008). No presente estudo todos os pacientes fizeram uso de antimonial pentavalente, visto que não havia critérios de gravidade para uso de anfotericina B, como droga de segunda escolha.

A FE_{Na} nos pacientes LV pré-tratamento mostrou-se mais elevada quando comparada ao grupo controle. A FE_K e o TTKG não demonstraram diferença estatística significativa quando comparados ao grupo controle. Naqueles pacientes reavaliados pós-tratamento não houve diferença estatística na FE_{Na} , FE_K e TTKG. Estudo anterior em nosso meio demonstrou aumento da FE_{Na} em 15% dos pacientes e da FE_K em 26% deles. Esse mesmo estudo encontrou valores de TTKG abaixo de quatro em 68% do pacientes, o que sugere baixa atividade de aldosterona no túbulo distal (LIMA VERDE *et al.*, 2009). No presente estudo, a média do TTKG nos pacientes LV pré-tratamento foi de 2,48, podendo sugerir os mesmos achados. Entretanto, é importante ressaltar que todos os pacientes mantiveram níveis de potássio sérico dentro dos padrões da normalidade e que tinham diagnóstico de LV não grave.

O TTKG é um parâmetro que pode ser utilizado para avaliar a secreção de potássio no túbulo distal, local onde há atividade da aldosterona (CHOI; ZIYADEH, 2008), e no caso dos pacientes com LV estudo anterior já havia demonstrado que a renina plasmática encontra-se elevada, sem elevação proporcional da aldosterona plasmática. Além disso, também é visto que a aldosterona urinária tem excreção diminuída, sugerindo produção inapropriadamente baixa nesses pacientes (LIMA VERDE *et al.*, 2011).

A avaliação da capacidade de concentração urinária é um parâmetro importante para investigar a função tubular renal. A integridade desse mecanismo de concentração é mantida pela disposição anatômica dos túbulos renais, capazes de atingir a medula renal e também pelo ajuste de transporte de soluto e água, através da ação reguladora da vasopressina agindo nos túbulos. A perda desse mecanismo pode ser decorrente da inadequada secreção da vasopressina a nível central pela hipófise ou dificuldade de ação do hormônio no órgão-alvo, nesse caso o rim (AGABA; ROHRSCHEIB; TZAMALOUKAS, 2012).

Não há consenso na literatura quanto à capacidade de concentração urinária máxima em adultos. De acordo com estudos anteriores foi considerado como déficit de concentração urinária quando a $U_{Osm}/P_{Osm} < 2,8$ e/ou $U_{Osm} < 700$ mOsm/L (ARONSON; SVENNINGSEN, 1974; TRYDING *et al.*, 1987; DAHER, 1999).

O acetato de desmopressina é utilizado como teste diagnóstico em crianças com infecção do trato urinário (ABYHOLM; MONN, 1979) e também para avaliar a função tubular em adultos (WAHLIN; RAPP; JONSSON, 1980).

Todos os pacientes com LV estudados antes do tratamento apresentaram déficit de concentração urinária e entre aqueles que foram reavaliados após o tratamento a maioria (80%) persistiu com osmolaridade urinária inferior a 700mOsm/L, apesar de deprivação hídrica e do uso de acetato de desmopressina. Estudo anterior realizado com 50 pacientes com diagnóstico de leishmaniose tegumentar americana detectou déficit de concentração urinária, evidenciado por $U/P_{Osm} < 2,8$ e $U_{Osm} < 700$ mOsm/L após teste de deprivação hídrica e jejum de 12h sensibilizado com acetato de desmopressina (semelhante ao utilizado no presente estudo), em 77% e 88% dos pacientes, respectivamente antes e após o tratamento específico da doença. O autor sugere que não houve mudanças no déficit de concentração urinária após o tratamento (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Lima Verde *et al.* (2007) também observaram déficit de concentração urinária entre os 50 pacientes com LV estudados encontrando 68% deles com alterações na concentração urinária.

A capacidade de acidificar a urina também foi avaliada antes do tratamento e observou-se que mais da metade dos pacientes apresentaram déficit de acidificação urinária após sobrecarga com $CaCl_2$.

Inicialmente o teste de acidificação urinária foi idealizado por Wrong e Davies utilizando NH_4Cl por um período de três a cinco dias. Estudos seguintes foram realizados comparando o uso de CaCl_2 , devido a sua melhor tolerabilidade, e resultaram em respostas comparáveis, sugerindo que seu uso poderia ser aplicado na prática clínica para testes de acidificação urinária (WRONG; DAVIES, 1959; OSTER, 1975). Desse modo, o uso do CaCl_2 foi a opção para realizar a sobrecarga ácida no teste do presente estudo.

Em análise anterior realizada com 50 pacientes com diagnóstico de leishmaniose cutânea foi detectado déficit de acidificação urinária após sobrecarga de CaCl_2 em 17 pacientes antes do tratamento com antimonial pentavalente e que 6 casos persistiram com o déficit após o tratamento, considerando a incapacidade de reduzir o pH urinário $< 5,5$, semelhante ao critério utilizado no presente estudo (OLIVEIRA *et al.*, 2011). O defeito na acidificação urinária, embora menos frequente que o déficit de concentração, também foi evidenciado em pacientes com leishmaniose visceral em estudo onde Lima Verde *et al.* (2007) utilizaram a sobrecarga de amônio e descreveram 64% dos casos com incapacidade de reduzir o pH urinário $< 5,5$. No presente estudo, após o tratamento, quase metade dos pacientes persistiu com déficit de acidificação urinária.

Os pacientes mais graves com LV podem apresentar um quadro misto de alcalose respiratória crônica e alcalose metabólica, a primeira sendo justificada pela anemia, doença pulmonar intersticial, disfunção hepática e febre diária e a segunda por quadro de vômitos que podem induzir à hipocalcemia e hipomagnesemia, sendo esses fatores importantes para manutenção da alcalose metabólica. Em estudo anterior foi demonstrado que os pacientes com quadro misto de alcalose respiratória crônica e alcalose metabólica, quando submetidos a teste de acidificação urinária com sobrecarga de cloreto de amônio, podem desenvolver acidose metabólica, pois são incapazes de reduzir o pH urinário $< 5,5$, apresentam deficiente formação de acidez titulável e têm deficiente secreção de amônia, apresentando um quadro de acidose tubular renal distal incompleta. Outros pacientes, entretanto, desenvolvem acidose metabólica simples por redução na capacidade de acidificação urinária a nível do túbulo distal com menor formação de acidez titulável. Nesses casos há acidose tubular renal distal completa e não está indicado o teste com sobrecarga ácida (LIMA VERDE *et al.*, 2007).

Quando avaliados as alterações tubulares e glomerulares em conjunto apenas três pacientes entre todos os avaliados apresentaram déficit de concentração e acidificação somados à presença de microalbuminúria, sugerindo que o principal acometimento na LV realmente é o túbulo-intersticial com pouca disfunção glomerular.

Os transportadores de membrana AQP2, ROMK e pendrina foram avaliados no presente estudo e na amostra avaliada não houve diferença estatística significativa quando comparada a expressão urinária desses marcadores em relação ao grupo controle.

A urina é um excelente sítio de pesquisa dos exossomas por ser uma fonte não invasiva e tem sido associada a um futuro promissor na identificação de biomarcadores capazes de identificar alterações na fisiologia renal. Na literatura há trabalhos que sugerem que a investigação para lesão renal aguda, rejeição de transplantes renais e nefropatia diabética pode ser beneficiada pela pesquisa desses marcadores (ZHOU *et al.*, 2006; JIANG *et al.*, 2009; LING *et al.*, 2010; BALKOM *et al.*, 2011).

A AQP2 é um dos marcadores mais estudados e trabalhos anteriores demonstram que a sua quantidade na urina tem correlação com seus níveis circulantes, podendo ser utilizada para avaliar o balanço corporal de água (KANNO *et al.*, 1995; WEN *et al.*, 1999; MARTIN *et al.*, 1999). Nas porções mais distais dos néfrons observa-se reabsorção de sódio e água, por mecanismos reguladores diferenciados, sendo a de água controlada diretamente pelo ADH, que proporciona a inserção na membrana luminal das células principais do túbulo conector e do duto coletor da AQP2. É importante salientar que a membrana basolateral dessas células já expressa outras aquaporinas, a AQP3 e AQP4 (MAGALDI; SEGURO; ZATS, 2011).

Estudo anterior realizado com pacientes com leishmaniose tegumentar antes do tratamento com antimonial pentavalente demonstrou uma redução na expressão urinária de AQP2, quando comparado ao grupo controle acompanhado de déficit de concentração urinária em mais de 2/3 dos pacientes (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Estes dados diferem dos encontrados no presente estudo onde não houve diferença estatística significativa na expressão de AQP2 urinária quando comparada

ao grupo controle, a despeito de déficit de concentração urinária em todos os pacientes. Não há estudos na literatura para análise comparativa com os resultados encontrados. Entretanto é fundamental salientar que a amostra foi constituída de pacientes com LV não grave que poderiam não apresentar lesão túbulo-intersticial em grau mais grave. Outra possibilidade que pode ser considerada é a de que possa haver defeito na expressão da AQP2 e não em sua quantidade, entretanto para isso seria necessário estudo genético para melhor avaliação e confirmação, visto que apenas há na literatura relatos de AQP2 defeituosa em indivíduos com *diabetes insipidus* nefrogênico, o que torna alteradas a reabsorção de água no ducto coletor alterada e concentração urinária (SASAKI *et al.*, 2013; SHIDA *et al.*, 2013).

Foi avaliado também o canal de potássio apical ROMK, que não demonstrou diferença estatística quando comparado com o grupo controle. Mais uma vez, não há dados na literatura que possam ser comparados com os achados. Nos pacientes estudados pré-tratamento a FE_K e TTKG também não apresentaram diferença estatística significativa quando comparados ao grupo controle, assim como quando os cinco pacientes foram reavaliados no pós-tratamento.

Com relação ao transportador pendrina, este encontra-se envolvido no processo de acidificação urinária, proporcionando a reabsorção de cloro e a secreção de bicarbonato. Sabe-se que a acidose metabólica reduz a atividade da pendrina apical nas células β -intercaladas do ducto coletor cortical por reduzir a expressão desse transportador (PETROVIC *et al.*, 2003; ROYAUX *et al.*, 2001). Estudo prévio com pacientes com diagnóstico de leishmaniose tegumentar antes do tratamento com antimonial pentavalente demonstrou que a expressão de pendrina encontra-se aumentada nos exossomas urinários desses pacientes, o que poderia explicar parcialmente a acidose metabólica apresentada nesses casos. Além disso, os autores consideram a possibilidade de que a secreção aumentada de bicarbonato induzida pela pendrina seja a responsável por um aumento compensatório nas bandas de NHE3 e H^+ -ATPase (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

No presente estudo não foram observadas diferenças em relação à pendrina quando comparada ao grupo controle, assim como não foi observada diferença no pH venoso entre esses grupos. Entretanto o bicarbonato sérico foi significativamente mais baixo com média próxima ao valor de referência normal, no

grupo LV pré-tratamento. A redução do bicarbonato sérico com valor médio de pH normal nesses paciente não explica totalmente o déficit de acidificação urinária encontrado, sendo possível que outros transportadores estejam associados a esse mecanismo.

Mais estudos tornam-se necessários para melhor investigação dos exossomas urinários em pacientes com leishmaniose visceral. Por motivos técnicos não foi possível a realização dos demais marcadores NKCC2, H-ATPase e NHE3, o que poderia definir melhor o papel desses transportadores na LV.

A busca de novos marcadores que evidenciem disfunção renal de maneira precoce tem sido alvo de pesquisas nos últimos anos. A proteína quimiotática de monócitos (MCP-1) é um biomarcador que tem sido associado a lesão renal e inflamação em doenças crônicas e agudas (CONDUCTIER, *et al.*, 2010; HODGKINS; SCHNAPER, 2012; GRANDALIANO, *et al.*, 1996).

Estudo anterior demonstrou a associação entre albuminúria, elevados níveis de MCP-1 urinário e inflamação renal representada pelo infiltrado monocitário (EARDLEY, *et al.*, 2006). O presente estudo demonstrou uma elevação da MCP-1 urinário quando comparado ao grupo controle o que pode significar a presença de inflamação renal. Entretanto, existem poucos dados na literatura que relacionem a dosagem de MCP-1 com doenças infecto-parasitárias.

Recente estudo realizado com pacientes com diagnóstico de esquistossomose mansônica evidenciou que a infecção pode induzir nesses casos um estado inflamatório demonstrado pela elevação da MCP-1, sendo que esta não regride após o tratamento da doença. Os autores sugerem que a avaliação da MCP-1 urinária nesses pacientes pode ser um marcador sensível e precoce de lesão renal (HANEMANN, *et al.*, 2013).

Outro método de investigar evidência de inflamação renal é através da dosagem do MDA urinário, que se encontrava elevado nos pacientes pré-tratamento, evidenciando a presença estresse oxidativo.

Em estudo anterior realizado com cães portadores de leishmaniose visceral observou-se correlação significativa entre MDA sérico, BUN e creatinina,

sendo evidenciado que cães sintomáticos apresentavam estresse oxidativo mais grave que aqueles assintomáticos ou não infectados (HEIDARPOUR, *et al.*, 2012).

O MDA é um indicador típico da peroxidação lipídica e, conseqüentemente, do estresse oxidativo que tem sido relacionado a inúmeras condições clínicas como diabetes, asma, doença cardiovascular e câncer, além das nefropatias. A investigação desse marcador em urina tem sido avaliada em diversos trabalhos e colocada como um método rápido, simples e de baixo custo para evidenciar estresse oxidativo (ZHANG, *et. al.*,2013).

A elevação do MCP-1 e MDA urinários nesse grupo de pacientes com LV estudados antes do tratamento denota a presença de processo inflamatório renal incipiente, visto que não se observam alterações significativas em marcadores tradicionais como a creatinina sérica.

A principal limitação do presente estudo é o pequeno número de pacientes avaliados no pós-tratamento, o que inviabilizou uma melhor avaliação da do processo inflamatório após o uso de antimonial pentavalente. Entretanto essa limitação não invalida os dados apresentados e sugere a necessidade de novos estudos dentro desse contexto.

Em resumo, os dados desse estudo mostram que os pacientes com diagnóstico de leishmaniose visceral não grave apresentam déficit de concentração e acidificação urinária, que persistem pelo menos 90 dias após o tratamento com antimonial pentavalente. Os transportadores urinários AQP-2, pendrina e ROMK não apresentaram diferenças estatísticas quando comparados ao grupo controle não podendo explicar totalmente as alterações de acidificação e concentração urinárias. MCP-1 e MDA urinários elevados, sugerem fortemente a presença de inflamação renal, sendo esta incipiente, por não haver evidências de alteração de marcadores clássicos de disfunção renal como a creatinina sérica.

É necessário maior investimento na busca de novos marcadores que possam diagnosticar a lesão renal túbulo-glomerular de maneira mais precoce, visando melhor manejo clínico dessa condição, especialmente em pacientes com doenças infecto-parasitárias, área comumente negligenciada em diversos aspectos.

8 CONCLUSÕES

- a) A leishmaniose visceral forma não grave apresenta alterações na função renal sem repercussões clínicas, o que dificulta o diagnóstico da lesão renal.
- b) Metade dos pacientes antes do tratamento apresentava taxa de filtração glomerular entre 61-90 mL/min/1,73m² não ocorrendo piora no período da reavaliação pós-tratamento.
- c) A microalbuminúria foi positiva em apenas 1/5 dos pacientes no pré-tratamento, não sendo positiva no pós-tratamento.
- d) Os pacientes avaliados pré-tratamento apresentaram proteinúria média de 250 mg/24h e esta apresentou regressão no período de 90 dias após o tratamento.
- e) Todos os pacientes com LV antes do tratamento apresentaram déficit de concentração urinária e a maioria (80%) persistiu com a alteração após 90 dias do término do tratamento.
- f) Pouco mais da metade dos pacientes com LV antes do tratamento apresentaram déficit de acidificação urinária e a alteração persistiu em 40% dos casos após 90 dias do término do tratamento.
- g) A fração de excreção de sódio foi mais alta nos pacientes com LV antes do tratamento.
- h) A análise dos exossomas urinários não confirmou a disfunção tubular nos pacientes estudados, uma vez que a AQP2 e a pendrina não demonstraram diferenças quando comparadas ao controle.
- i) O canal apical de potássio (ROMK) não apresentou alteração na sua expressão quando comparado ao grupo controle, corroborando com os achados em que não houve aumento na fração de excreção de potássio e alteração do gradiente transtubular de potássio.

- j) O MCP-1 urinário foi mais elevado nos pacientes com LV antes do tratamento quando comparado ao controle sugerindo inflamação e dano renal incipiente.
- k) O MDA urinário apresentou-se mais elevado nos pacientes com LV antes do tratamento indicando a presença de estresse oxidativo.

REFERÊNCIAS

- ABYHOLM, G.; MONN, E. Intranasal DDAVP-test in the study of renal concentrating capacity in children with recurrent urinary tract infections. **Eur. J. Pediatr.**, v. 130, p. 149-154, 1979.
- AHMADIASL, N.; BANAEI, S.; ALIHEMMATI, A. Combination antioxidant effect of erythropoietin and melatonin on renal ischemia reperfusion injury in rats. **Iran. J. Basic Med. Sci.**, v. 16, p. 1209-1216, 2013.
- AiT-OU DHIA, 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.
- AGABA, E. I.; ROHRSCHEIB, M.; TZAMALOUKAS, A. H. The renal concentrating mechanism and the clinical consequences of its loss. **Niger. Med. J.**, v. 53, n. 3, p. 109-115, 2012.
- ALENCAR, J. E. Leishmaniose Visceral no Brasil. **Revista de Medicina da Universidade Federal do Ceará**, v. 17/18, p. 129-148, 1977.
- _____. Profilaxia do calazar no Ceará, Brasil. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 3, n. 4, p. 175-180, jul./ago. 1961.
- _____. **Calazar canino**: contribuição para o estudo da epidemiologia do calazar no Brasil. Fortaleza, 1959. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1959.
- ANDRADE, A. Z.; ANDRADE, S. G. Alguns novos aspectos da patologia do calazar (Estudo morfológico de treze casos necropsiados). **Rev. Inst. Med. Trop.**, v. 8, p. 259-266, 1996.
- ANDRADE, L.; RODRIGUE S JR., A. C.; SANCHES, T. R.; SOUZA, R. B.; SEGURO, A. C. Leptospirosis leads to dysregulation of sodium transporters in the kidney and lung. **Am. J. Physiol. Renal Physiol.**, v. 292, n. 2, p. 586-592, 2007.
- ARAGÃO, T. C. Tratamento da leishmaniose visceral no Ceará, Sobral. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE HIGIENE, 12., 1953, Belém. **Trabalho apresentado...** Belém: [s.n.], 1953.
- ARIAS, J. R. The reemergence of visceral leishmaniasis in Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 2, p.145-146, apr./jun. 1996. Supplement 2.
- ARONSON, A.; SVENNINGSEN, N. DDAVP test for estimation of renal concentrating capacity in infants and children. **Arch. Dis. Child.**, v. 49, p. 654-659, 1974.
- ASSIS, T. S. M.; BRAGA, A. S. C.; PEDRAS, M. J.; BARRAL, A. M.; SIQUEIRA, I. C.; COSTA, C. H. N.; COSTA, D. L.; HOLANDA, T. A.; SOARES, V. Y. R.; BIÁ, M.;

CALDAS, A. J. M.; ROMERO, G. A. S.; RABELLO, A. Validação do teste imunocromatográfico rápido IT-LEISH[®] para o diagnóstico da leishmaniose visceral humana. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, v. 17, n. 2, p. 107-116, 2008.

BALKOM, B. W. M.; PISITKUN, T.; VERHAAR, M. C.; KNEPPER, M. A. Exosomes and the kidney: prospects for diagnosis and therapy of renal diseases. **Kidney Int.**, v. 80, n. 11, p. 1138-1145, 2011.

BALSAN, M.; FENECH, F. Acute renal failure in visceral leishmaniasis treated with sodium stibogluconate. **Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 86, p. 515-516, 1992.

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.

BERMAN, J. J. Treatment of leishmaniasis with miltefosine: 2008 status. **Expert Opin. Drug Metabol. Toxicol.**, v. 4, n. 9, p. 1209-1216, 2008.

BERMÚDEZ, R. M.; SANJUÁN, J. B.; SAMPER, A. O.; CASTÁN, J. A. B.; GARCÍA, S. G. Valoración de La nueva ecuación CKD-EPI para la estimación del filtrado glomerular. **Nefrología**, v. 30, n. 2, p. 185-194, 2010.

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).

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso**. Brasília, 2010. 448 p. (Série B. Textos Básicos de Saúde).

_____. 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).

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília, 2006b. 120 p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

_____. Ministério da Saúde. **Manual de recomendações para diagnóstico, tratamento e acompanhamento da co-infecção leishmania-HIV**. Brasília, 2004.

_____. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Leishmaniose visceral no Brasil: situação atual, principais aspectos epidemiológicos, clínicos e medidas de controle. **Boletim Epidemiológico**, v. 6, p. 1-11, 2001.

BRITO, H. S.; AMATO NETO, V.; DUARTE, I. S.; PENNA, D. O. Glomerular involvement in human kala-azar. A light immuno-fluorescent and electron microscopic study based on kidney biopsies. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 24, p. 9-18, 1975.

BURNS JR., J. M.; SHREFFLER, W. G.; BENSON, D. R.; GHALIB, H. W.; BADARÓ, R.; REED, S. Molecular characterization of a kinesin-related antigen of leishmania chagasi that detects specific antibody in Africa and American visceral leishmaniasis. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 90, p. 775-779, 1993.

CAMARGO, L. B.; LANGONI, H. Impact of leishmaniasis on public health. **J. Venom. Anim. Toxins. Incl. Trop. Dis.**, v. 12, p.527-48, 2006. Supplement 4.

CARVALHO, E. M.; TEIXEIRA, R. S.; JOHNSON JR., W. Cell-mediated immunity in American visceral leishmaniasis: reversible immunisupresion during acute infection. **Infect. Imm.**, v. 33, p. 488-502, 1981.

CARVALHO, E. M.; BADARÓ, R.; REED, S. G. Absence of gamma interferon and interleukin 2 production during active visceral leishmaniasis. **J. Clin. Invest.**, v. 76, p. 2066-2069, 1985.

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.

CARVALHO, E. M.; BARRAL, A.; PEDRAL-SAMPAIO, D. Immunological markers of clinical evolution in children recently infected with L. chagasi. **J. Infect. Dis.**, v. 165, p. 536-544, 1992.

CHOI, M. J.; ZIYADEH, F. N. The utility of the transtubular potassium gradient in the evaluation of hyperkalemia. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 19, p. 424-426, 2008.

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.

COLLIN, S.; DAVIDSON, R.; RITMEIJER, K.; KEUS, K.; MELAKU, Y.; KIPNGETICH, S.; DAVIES, C. Conflicts and Kala-azar: determinats 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, F. A. L.; PRIANTI, M. G.; SILVA, T. C.; SILVA, S. M.; GUERRA, J. L.; GOTO, H. T cells, adhesion molecules and modulation of apoptosis in visceral leishmaniasis glomerulonephritis. **BMC Infect. Disease**, v. 10, p. 112, 2010.

COX, F. E. History of human parasitology. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 15, n. 4, p. 595-612, 2002. Erratum: **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 16, n. 1, p. 174, 2003.

DAHER, E. F. **Avaliação da função renal a longo prazo em pacientes com insuficiência renal aguda associada à leptospirose.** 1999. 113 f. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

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

DAHER, E. F.; ROCHA, N. A.; OLIVEIRA, M. J.; SILVA JR., G. B.; ABREU, K. L.; HENN, G. A.; MARTINS, A. M.; LIBÓRIO, A. B. Renal function improvement with pentavalent antimonial agents in patients with visceral leishmaniasis. **Am. J. Nephrol.**, v. 33, n. 4, p. 332-336, 2011.

DAHER, Elizabeth de Francesco; SILVA JÚNIOR, Geraldo Bezerra da; LIBÓRIO, Alexandre Braga. Nefropatia das doenças tropicais In.: RIELLA, M. C. **Princípios de nefrologia e distúrbios hidroeletrólíticos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. Cap.32, p. 617.

DANTAS-TORRES, F.; BRANDÃO FILHO, S. P. Visceral leishmaniasis in Brazil: revisiting paradigms of epidemiology and control. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, v. 48, n. 3, p. 151-156, 2006.

DAVIDSON, R. N. Leishmaniasis. In: COHEN; POWDERLY (Eds.). **Infectious diseases**. 2nd ed. [S.l.]: s.n., 2006. chap. 172, p. 1621-1626.

DELANAYE, P.; POTTEL, H.; BOTEV, R. Con: should we abandon the use of the MDRD equation in favour of the CKD-EPI equation? **Nephrol. Dial. Transplant.**, v. 28, p. 1396-1403, 2013.

DESJEUX, P. Information on the epidemiology and control of the leishmaniasis by country territory. **WHO/leish/91**, v. 30, p. 4-34, 1992.

DIMOV, I.; VELICKOVIC, L. J.; STEFANOVIC, V. Urinary exosomes. **The Scientific World Journal.**, v. 9, p. 1107-1118, 2009.

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.

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.

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.; MUSA, A. M.; YOUNIS, B. M.; ELFAKI, M. E. E.; EL-HASSAN, A. M.; KHALIL, E. A. G. Surrogate Markers of subtle renal injury in patients with visceral leishmaniasis. **Saudi J. Kidney Dis. Transp.**, v. 21, n. 5, p. 872-875, 2010.

- ELTOUM, I. A.; ZIJLSTRA, E. E.; ALI, M. S. Congenital kala-azar and leishmaniasis in the placenta. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 46, p. 57-62, 1992.
- FAUST, E. C.; RUSSEL, P. F.; JUNG, R. C. In: CRAIG; FAUST (Eds.). **Parasitologia clínica**. México: Salvat, 1974. 888 p.
- 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.
- GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N.; Leishmaniose visceral no Brasil. **Rev. Bras. Epidemiol.**, v. 7, n. 3, p. 338-349, 2004.
- GONZALES, P. A.; PISITKUN, T.; HOFFERTI, J. D.; TCHAPIJNIKOV, D.; STAR, R. A.; KLETA, R.; WANG, N. S.; KNEPPER, M. A. Large-scale proteomics and phosphoproteomics of urinary exosomes. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 20, p. 363-379, 2009.
- 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.
- GROGL, M.; DAURGIDA, J. L.; MOOVER, D. L. Survivability and infectivity of viscerotropic *Leishmania tropica* from Operation Desert Storm participants in human blood products maintained under blood bank conditions. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 49, p. 301-315, 1993.
- HARHAY, M. O.; OLLIARO, P. L.; VAILLANT, M.; CHAPPUIS, F.; LIMA, M. A.; RITMEIJER, K.; COSTA, C. H.; COSTA, D. L.; RIJAL, S.; SUNDAR, S.; BALASEGARAM, M. Who is a typical patient with visceral leishmaniasis? Characterizing the demographical and nutritional profile of patients in Brazil, East Africa and South Asia. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 84, n. 4, p. 543-550, 2011.
- HERWALDT, B. L. Leishmaniasis. **Lancet**, v. 354, p. 1191-1199, 1999.
- HODGKINS, K. S.; SCHNAPER, H. W. Tubulointerstitial injury and progression of chronic kidney disease. **Pediatr. Nephrol.**, v. 27, p. 901-909, 2012.
- HOFFERT, J. D.; NIELSEN, J.; YU, M. J.; PISITKUN, T.; SCHLEICHER, S. M.; NIELSEN, S.; KNEPPER, M. A. Dynamic of aquaporin-2 serine-261 phosphorylation in response to short-term vasopressin treatment in collecting duct. **Am. J. Physiol. Renal Physiol.**, v. 292, n. 2, p. F691-700, 2007.
- INKER, L. A.; LEVEY, A. S. Pro: Estimating GFR using the chronic kidney disease epidemiology collaboration (CKD-EPI) 2009 creatinine equation: the time for change is now. **Nephrol. Dial. Transplant.**, v. 28, p. 1390-1396, 2013.
- JERONIMO, S. M. B.; PEARSON, R. D. The leishmania: Protozoans adapted for intracellular and intracellular survival. **Subcell. Biochem.**, v. 18, p. 1-37, 1992.

JIANG, H.; GUAN, G.; ZHANG, R.; LIU, G.; CHENG, J.; HOU, X.; CUI, Y. Identification of urinary soluble E-cadherin as a novel biomarker for diabetic nephropathy. **Diabetes Metab. Res. Rev.**, v. 25, n. 3, p. 232-241, 2009.

JOLLIFFE, D. S. Nephrotoxicity of pentavalent antimonials. **Lancet**, v. 9, p. 584, 1985.

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

KHER, V.; GHOSH, A. K.; GUPTA, A.; ARORA, P.; DHOLE, T. N. Visceral leishmaniasis: an unusual case of fever in a renal transplant recipient. **Nephrol. Dial. Transplant.**, v. 6, p. 736-738, 1991.

KURTZMAN, N. Acquired distal renal tubular acidosis. **Kidney Int.**, v. 24, p. 807-819, 1983.

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. 8, n. 3, 2013.

LEMOS, E. M.; CARVALHO, S. F. G.; COREY, R.; DIETZE, R. Avaliação do teste rápido utilizando o antígeno recombinante K-39 no diagnóstico da leishmaniose visceral no Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 36, n. 2, p. 36-38, 2003.

LEVEY, A. S.; ECKARDT, K. U.; TSUKAMOTO, Y.; LEVIN, A.; CORESH, J.; ROSSERT, J.; DE ZEEUW, D.; HOSTETTER, T. H.; LAMEIRE, N.; EKNOYAN, G. Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from kidney disease: improving global outcomes (KDIGO). **Kidney Int.**, v. 67, p. 2089-2100, 2005.

LIMA, E. S.; ABDALLA, D. S. P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 37, n. 3, p. 293-303, 2001.

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.; SANTOS, G. M.; LIMA VERDE, F. A. A.; DAHER, E. F.; SABOIA NETO, A.; LIMA VERDE, E. M. Distúrbios ácido-base na leishmaniose visceral. **J. Bras. Nefrol.**, v. 30 (3), p. 172-179, 2008.

LIMA VERDE, F. A.; LIMA VERDE, F. A. A.; SABOIA NETO, A.; ALMEIDA, P. C.; LIMA VERDE, E. M. Hormonal disturbances in visceral leishmaniasis (Kala-azar). **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 84, n. 5, p. 668-673, 2011.

- 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.
- LING, X. B.; SIGDEL, T. K.; LAU, K.; YING, L.; LAU, I.; SCHILLING, J.; SARWAL, M. M. Integrative urinary peptidomics in renal transplantation identifies biomarkers for acute rejection. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 21, n. 4, p. 646-653, 2010.
- MAGALDI, A. J. B.; SEGURO, A. C.; ZATS, R. Mecanismos de concentração e diluição da urina, regulação do balanço de água e distúrbios da tonicidade do meio interno. In: ZATS, R. (Ed.). **Bases fisiológicas da nefrologia**. São Paulo: Atheneu, 2011. p. 85.
- MANCIANTI, F.; POLI, A.; BIONDA, A. Analysis os renal immune deposits in canine leishmaniasis: preliminary results. **Parasitologia**, v. 31, p. 213, 1989.
- MANSON-BAHR, P. E. C. In: HANTER; FRYE; SWARTZW-WELDER (Eds.). **Manual de medicina tropical**. [S.l.]: La prensa Medica Mexicana, 1973, p. 434-442.
- MARTIN, P. Y.; ABRAHAM, W. T.; LEIMING, X.; OLSON, B. R.; OREM, R. M.; OHARA, M.; SCHIER, R. W. Selective V2-receptor vasopressin antagonism decreases urinary aquaporin-2 excretion in patients with chronic heart failure. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 10, p. 2165-2170, 1999.
- MARZOCHI, M. C. A.; COUTINHO, S. G.; SOUZA, W. J.; AMENDOEIRA, M. R. **Leishmaniose Visceral (Calazar)**, v. 41, p. 61-84, 1981. Supplement 5.
- MEINECKE, C. K.; SCHOTTELIUS, J.; OSKAM, L. Congenital transmission of visceral leishmaniasis (kala-azar) from an assymptomatic mother to her child. **Pediatrics**, v. 104, p. 65, 1999.
- MISSAWA, N. A.; VELOSO, M. A. E.; MACIEL, G. B. M. L.; MICHALSKY, E. M.; DIAS, E. S. Evidência de transmissão de leishmaniose visceral por *Lutzomyia cruzi* no município de Jaciara, Estado de Mato Grosso, Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 44, n. 1, 2011.
- MUIGAI, R.; GATEI, D. G.; SHAUNAK, S.; WOZNIAC, A.; BRYCESON, A. D. jejunal function and pathology in visceral leishmaniasis. **Lancet**, v. 2, p. 476-479, 1983.
- OLLIARO, P. L.; GUERIN, P. J.; GERSTL, S.; HAASKJOLD, A. A.; ROTTINGEN, J. A.; SUNDAR, S. Treatment options for visceral leishmaniasis: a systematic review of clinical studies done in India. **Lancet Infect. Dis.**, v. 5, p. 763-774, 2005.
- 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.

103 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.

OLIVEIRA, R. A.; DINIZ, L. F.; TEOTÔNIO, L. O.; LIMA, C. G.; MOTA, R. M.; MARTINS, A.; SANCHES, T. R.; SEGURO, A. C.; ANDRADE, L.; SILVA, G. B. Jr.; LIBÓRIO, A. B.; DAHER, E. F. Renal tubular dysfunction in patients with american cutaneous leishmaniasis. **Kidney Int.**, v. 80, n. 10, p. 1099-1106, 2011.

OLIVEIRA, R. A.; LIMA, C. G.; MOTA, R. M.; MARTINS, A.; SANCHES, T. R.; SEGURO, A. C.; ANDRADE, L.; SILVA JR., G. B.; LIBÓRIO, A. B.; DAHER, E. F. Renal function evaluation in patients with American cutaneous leishmaniasis after specific treatment with pentavalent antimonial. **BMC Nephrol.**, v. 13, p. 44, 2012.

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.

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

PASTORINO, A. C.; JACOB, C. M. A.; OSELKA, G. W.; CARNEIRO-SAMPAIO, M. M. S. Leishmaniose visceral: aspectos clínicos e laboratoriais. **J. Ped**, v.78, p. 120-27, 2002.

PERRONE, R. D.; MADIAS, N. E.; LEVEY, A. S. Serum creatinine as index of renal function: new insights into old concepts. **Clin. Chem.**, v. 38, p. 1933-1953, 1992.

PERSON, D.; SOUSA, A. Q. Clinical spectrum of leishmaniasis. **Clin. Infect. Dis.** v. 22, p. 1-13, 1996.

PETROVIC, S.; WANG, Z.; MA, L. et al. Regulation of the apical Cl/HCO₃ exchanger pendrin in rat cortical collecting duct in metabolic acidosis. **Am J Physiol.** v. 284, p. F103-F112, 2003.

PESSOA, S. B.; SILVA, L. H. P.; FIGUEREDO, J. Calazar endêmico em Jacobina – Estado da Bahia. **Bol. Fund. Gonçalo Muniz**, v. 7, p. 1-13, 1955.

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.

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

POSTIGO, J. A. Leishmaniasis in the World Health Organization Eastern Mediterranean Region. **Int. J. Antimicrob. Agents**, v. 36, n. 1, p. S62-S65, 2010.

PRASAD, L. S. N.; SEN, S.; GANGULY, S. K. Renal involvement in Kala-azar. **Indian Journal Medicine**, v. 95, p. 43-46, 1992.

RADO, J. P. 1-desamino-8-D-arginine vasopressin (DDAVP) concentration test. **Am. J. Med. Sci.**, v. 275, p. 43-52, 1978.

REES, P. H.; KAGER, P. A.; KEATING, M. I.; HOCKMEYER, W. T. Renal clearance of pentavalent antimony (sodium stibogluconate). **The Lancet**, v. 2, p. 226-229, 1980.

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.

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

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.

ROYAUX, I. E.; WALL, S. M.; KARNISKI, L. P. et al. Pendrin, encoded by the Pendred syndrome gene, resides in the apical region of renal intercalated cells and mediates bicarbonate secretion. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 98, p. 4221-4226, 2001.

SACKS, D. L. S.; LATA LAL, S.; SHVIVASTAVA, S. N.; BLACKWELL, J.; NEVA, F. A. et al. An analysis of T cell responsiveness in Indian kala-azar. **J. Immunol.**, v. 138, p. 908-913, 1987.

SALGADO FILHO, N. **Estudo da ocorrência de imunocomplexos circulantes e ativação do sistema complemento em pacientes com a forma aguda de leishmaniose visceral.** Tese (doutorado). -- Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 1987

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.

SAMPAIO, R. N. R.; ROCHA, R. A. A.; MARSDEN, P. D.; CUBA, C. C. Leishmaniose tegumentar americana, casuística do Hospital Escola da UnB. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 55, p. 69-76, 1980.

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**, p.4, 2012.

SASAKI, S.; CHIGA, M.; KIKUCHI, E.; RAI, T.; UCHIDA, S. Hereditary nephrogenic diabetes insipidus in japanesepatients: analysis of 78 families and report of 22 new mutations in AVPR2 and AQP2. **Clin. Exp. Nephrol.**, v. 17, n. 3, p. 338-344, 2013.

SEAMAN, J.; MERCER, A. J.; SONDRORP, 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.

SHIDA, Y.; MATSUOKA, H.; CHIGA, M.; UCHIDA, S.; SASAKI, S.; SUGIHARA, S. Characterization of AQP-2 gene mutation (R254Q) in a family with dominant nephrogenic DI. **Pediatr. Int.**, v. 55, n. 1, p. 105-107, 2013.

SHULMAN, I. A. Parasitic infections and their impacts on blood donor selection and testing. **Arch. Pathol. Lab. Med.**, v. 118, p. 366-370, 1994.

SILVEIRA, F. T.; LAISON, R.; CORBETT, C. E. P. Clinical and immunopathological spectrum of American Cutaneous Leishmaniasis with special reference to the disease in Amazonian Brazil – a review. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 99, n. 3, p. 239-251, 2004.

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

SUNDAR, S.; OLLIARO, P. L. Miltefosine in the treatment of leishmaniasis: clinical evidence for informed clinical risk management. **Ther. Clin. Risk Manag.**, v. 3, n. 5, p. 733-740, 2007.

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.

TORRES, M. M.; ALMEIDA, A. B. P. F.; BOA SORTE, E. C.; PAULA, A. J.; OLIVEIRA, A. C. S.; PESCADOR, C. A.; MENDONÇA, A. J.; NAKAZATO, L.; SOUSA, V. R. F. Associação da carga parasitária renal com achados laboratoriais em cães com leishmaniose visceral. **Cienc. Rural**, v. 43, n. 5, p. 894-896, 2013.

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

VEIGA, J. P. R.; WOLFF, E. R.; SAMPAIO, R. N.; MARSDEN, P. D. Renal tubular dysfunction in patients with mucocutaneous leishmaniasis treated with pentavalent antimonials. **Lancet**, v. 3, p. 569, 1983.

VERMA, N.; LAL, C. S.; RABIDAS, V.; PANDEY, K.; SINGH, D.; KUMAR, S.; VERMA, R. B.; DAS, P. Microalbuminuria em glomerular filtration rate in paediatric visceral leishmaniasis. **Biomed. Res. Int. Epub.**, 23 jun. 2013.

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

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

WEISINGER, J. R.; PINTO, A.; VELASQUEZ, G. A. Clinical and histological kidney involvement in human kala-azar. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 2, p. 357-359, 1978.

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

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.

WRONG, O.; DAVIES, H.E. The excretion of acid in renal disease. **Q. J. Med.**, v. 28, p. 259-313, 1959.

WU, H. Y.; HUANG, J. W.; PENG, Y. S.; HUNG, K. Y.; WU, K. D.; LAI, M. S.; CHIEN, K. L. Microalbuminuria screening for detecting chronic kidney disease in the general population: a systematic review. **Renal failure**, v. 35, n. 5, p. 607-614, 2013.

ZHANG, G.; TANG, Y.; SHI, X.; GAO, R.; SUN, Y.; DU, W.; FU, Q. A chemiluminescence method to detect malondialdehyde in plasma and urine. **Analytical Biochemistry**, v. 443, p. 16-21, 2013.

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

ANEXOS

ANEXO A – Ficha Utilizada na Pesquisa

AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL

Número prontuário _____

1. IDENTIFICAÇÃO:

Nome : _____

Data de nascimento: ____/____/____ Idade: _____

Sexo: () Masculino () Feminino

Cor: () Branco () Preto () Pardo () Amarelo

Estado civil: () solteiro () casado () viúvo () divorciado () outros

Grau de Instrução: _____

Profissão: _____

Pai: _____

Mãe: _____

Naturalidade: _____ Procedência _____

Endereço: _____

Telefone(s): _____

RG: _____ CPF: _____

2. HISTÓRIA CLÍNICA – ANTES DO TRATAMENTO:

Tempo de doença: _____ Data do diagnóstico: ____/____/____

Animal doente: () sim () não

Cirurgias prévias: () sim () não _____

Hemotransfusão: () sim () não data: _____

Tabagismo: () sim () não _____

Etilismo: () sim () não _____

Alergias: () sim () não _____

Familiares com história de leishmaniose e/ou nefropatia

Histórico ginecológico:

Gesta_____ Partos/ tipos_____ Abortos_____

DUM: _____ / _____ / _____

Método anticoncepcional: () sim () não

() ACO () AC_{IM} () DIU () Laqueadura () comportamental

() outro_____

Revisão de sistemas:

Sistema	Normal	Anormal	Detalhes
Geral			
Cabeça/pescoço			
Respiratório			
Cardiovascular			
Gastrointestinal			
Genitourinário			
SNC			
Pele/fâneros			
Endócrino			
Hemato-linfático			
Ósteo-articular			

3. EXAME FÍSICO – ANTES DO TRATAMENTO:

PA _____(mmHg) – deitado após 5 min

Frequência cardíaca_____ batimentos/min

Frequência respiratória_____ incursões/min

Temperatura axilar_____ °C

Altura_____ cm

Peso_____ Kg

Exame físico por sistemas:

Sistema	Normal	Anormal	Detalhes
Geral			
Cabeça/pescoço (incluir tireoide)			
Respiratório			
Cardiovascular			
Abdome			
Fígado			
Baço			
Genitourinário			
Condição neurológica			
Pele/fâneros			
Hemato-linfático (gânglios)			
Ósteo-articular			

4. AVALIAÇÃO LABORATORIAL – ANTES DO TRATAMENTO:

Biopsia de medula óssea data: ___/___/___

Resultado_____

Intradermorreação de Montenegro () IF indireta () data ___/___/___

Resultado:_____Outros:_____

Hemograma: data ____ / ____ / ____

Parâmetro	valor	Correção	Comentários
Hemoglobina (g/dL)			
Hematócrito (%)			
Eritrócitos ($10^6 / \text{mm}^3$)			
Leucócitos ($10^3 / \text{mm}^3$)			
Diferencial (%)			
Bastões			
Segmentados			
Linfócitos			
Monócitos			
Basófilos			
Eosinófilos			
Plaquetas ($10^3 / \text{mm}^3$)			

Observações: _____

Bioquímica Data: ____/____/____

Parâmetro	valor	Correção	Comentários
Creatinina (mg/dL)			
Uréia (mg/dL)			
Sódio (mEq/L)			
Potássio (mEq/L)			
Cálcio			
Fósforo			
Magnésio			
Cloro (mEq/L)			
Bicarbonato (mEq/L)			
FA/ G-GT			
AST /ALT			
BT/BD/BI			
PT/Alb/glob			

Teste de Concentração Urinária Data: ____/____/____

Parâmetro	Antes jejum	T0 (antes DDAVP)	T4(após DDAVP)
Osmolalidade plasmática			
Osmolalidade urinária			

Teste de Acidificação Urinária Data: ____/____/____

Parâmetro	Antes jejum	T0 (antes CaCl ₂)	T4(após CaCl ₂)
pH sérico			
pH urinário			
Bicarbonato sérico			
pCO ₂			

5. EXAME FÍSICO – APÓS TRATAMENTO:

PA _____ (mmHg) – deitado após 5 min

Frequência cardíaca _____ batimentos/min

Frequência respiratória _____ incursões/min

Temperatura axilar _____ °C

Altura _____ cm

Peso _____ Kg

Exame físico por sistemas:

Sistema	Normal	Anormal	Detalhes
Geral			
Cabeça/pescoço (incluir tireoide)			
Respiratório			
Cardiovascular			
Abdome			
Fígado			
Baço			
Genitourinário			
Condição neurológica			
Pele/fâneros			
Hemato-linfático (gânglios)			
Ósteo-articular			

6. AVALIAÇÃO LABORATORIAL – APÓS TRATAMENTO:

Hemograma: data ____ / ____ / ____

Parâmetro	valor	Correção	Comentários
Hemoglobina (g/dL)			
Hematócrito (%)			
Eritrócitos ($10^6 / \text{mm}^3$)			
Leucócitos ($10^3 / \text{mm}^3$)			
Diferencial (%)			
Bastões			
Segmentados			
Linfócitos			
Monócitos			
Basófilos			
Eosinófilos			
Plaquetas ($10^3 / \text{mm}^3$)			

Observações: _____

Bioquímica Data: ____/____/____

Parâmetro	valor	correção	Comentários
Creatinina (mg/dL)			
Ureia (mg/dL)			
Sódio (mEq/L)			
Potássio (mEq/L)			
Cálcio			
Fósforo			
Magnésio			
Cloro (mEq/L)			
Bicarbonato (mEq/L)			
FA/ G-GT			
AST /ALT			
BT/BD/BI			
PT/Alb/glob			

Teste de Concentração Urinária Data: ____/____/____

Parâmetro	Antes jejum	T0 (antes DDAVP)	T4(após DDAVP)
Osmolalidade plasmática			
Osmolalidade urinária			

Teste de Acidificação Urinária Data: ____/____/____

Parâmetro	Antes jejum	T0 (antes CaCl ₂)	T4(após CaCl ₂)
pH sérico			
pH urinário			
Bicarbonato sérico			
pCO ₂			

ANEXO B – Aprovação do Comitê de Ética



ESTADO DO CEARÁ
SECRETARIA DA SAÚDE

HOSPITAL SÃO JOSÉ DE
DOENÇAS INFECCIOSAS

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA (CEP-HSJ)

Referente ao Protocolo nº. 002/2008

Folha de Rosto: 174304

CAAE: 0001.0.042.040-08

Título do Projeto: "Avaliação da função renal em pacientes portadores de leishmaniose visceral antes e após o tratamento com antimonial pentavalente"

Instituições envolvidas: Hospital São José de Doenças Infecciosas da SESA
Universidade Federal do Ceará-UFC

Pesquisadora responsável: Michelle Jacinta Cavalcante Oliveira
(Orientadora: Profa.Dra Elizabeth De Francesco Daher)


PARECER CONSUBSTANCIADO

Analisamos o referido projeto de pesquisa, para retirada de pendências, no dia 24 de março de 2008. Constatamos que as pendências elencadas, no Parecer Consubstanciado exarado para a submissão do CEP/HSJ em 18 de fevereiro de 2008, foram resolvidas: os critérios de exclusão dos sujeitos foram acrescentados; ao cronograma foi atualizado; na metodologia foi esclarecido que os exames complementares serão feitos sob a responsabilidade das pesquisadoras, sentando o HSJ; foi explicado como os voluntários do grupo controle serão recrutados e apresentado o TCLE para o grupo controle.

Diante do exposto, o projeto foi considerado **aprovado ad referendum**.

Entendemos a necessidade de envio de relatório de andamento do projeto (primeiro para 24 de março de 2009) e de relatório final quando de sua conclusão, além de que qualquer mudança na proposta do estudo, deverá passar por uma prévia avaliação deste comitê. Outrossim, comunicamos que mensalmente o CEP/HSJ está monitorando pesquisas em execução no Hospital São José escolhidas aleatoriamente.

Fortaleza, 24 de março de 2008.


Dra. Maria Lúcia Duarte Pereira
Coordenadora do CEP/HSJ

ANEXO C – Artigos Publicados

ORIGINAL STUDIES

Acute Kidney Injury in Children With Visceral Leishmaniasis

Alexandre Braga Libório, MD, PhD,* Natália A. Rocha, MD,† Michelle J. C. Oliveira, MD, MSc,†
Luiz F. L. G. Franco, MD,‡ Graziela B. R. Aguiar, MD,† Rodrigo S. Pimentel, MD,† Krasnalhia Livia S. Abreu, MD,†
Geraldo B. Silva, Jr, MD, MSc,†‡ and Elizabeth F. Daher, MD, PhD†

Background: There is no comprehensive study about renal function in children with visceral leishmaniasis (VL). The aim of this study was to investigate the incidence of acute kidney injury (AKI) in children with VL using pRIFLE classification and to determine the risk factors for AKI.

Methods: A retrospective cohort study was conducted with 146 patients younger than 14 years of age with VL diagnosis in one center located at the northeast of Brazil from December 2003 to 2010. AKI was evaluated by pediatric Risk, Injury, Failure, Loss, End-stage kidney disease (pRIFLE) criteria.

Results: The mean age was 5 ± 4.0 years (range, 5 months to 14 years), and 53.4% were males. AKI was observed in 67 patients (45.9%). The distribution according to the pRIFLE criteria was as follows: risk 45 (67.2%), injury 21 (31.3%), and failure 1 (1.5%). Patients in the AKI group were significantly younger ($P < 0.001$) and had jaundice ($P = 0.028$) and secondary infections ($P = 0.001$) more often than non-AKI patients. The AKI group had a significantly lower serum sodium ($P = 0.03$), potassium ($P = 0.009$), serum albumin ($P = 0.001$), and elevated serum globulins ($P = 0.04$), and a more prolonged prothrombin time ($P = 0.001$) at admission. Independent risk factors for AKI were: secondary infections (OR: 3.65, 95% CI: 1.426–9.358, $P = 0.007$), serum albumin decrement (OR: 1.672, 95% CI: 1.065–2.114, $P = 0.019$ per each 1 mg dL⁻¹ serum albumin decrement), and high serum globulin (OR: 1.35, 95% CI: 1.031–1.779, $P = 0.029$ per each 1 mg dL⁻¹ serum globulin increment).

Conclusions: AKI is a frequent complication in children with VL. The risk factors for AKI were secondary infections, high serum globulin and low serum albumin.

Key Words: visceral leishmaniasis, kala-azar, AKI, pRIFLE

(*Pediatr Infect Dis J* 2012;31: 451–454)

Visceral leishmaniasis (VL), also known as kala-azar, is the most severe form of leishmaniasis. Responsible for an estimated 500,000 new cases each year worldwide, it is an endemic disease in tropical countries, subtropics, and southern Europe. It is estimated that over 200 million people around the world are at risk for contracting the disease, and >90% of the cases occur in 5 countries, including Brazil.^{1–4}

Accepted for publication December 15, 2011.

From the *Post-Graduate Program in Public Health, University of Fortaleza, Fortaleza, Ceará, Brazil; †Division of Nephrology, Department of Internal Medicine, School of Medicine, Federal University of Ceará, Fortaleza, Ceará, Brazil; and ‡School of Medicine, Health Sciences Center, University of Fortaleza, Fortaleza, Ceará, Brazil.

Supported by grants from CNPq—Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Research Council of Brazil). The authors have no other funding or conflicts of interest to disclose.

Address for correspondence: Alexandre Braga Libório, MD, Av. Abolição, 4043 ap. 1203, Fortaleza, CE, Brazil—CEP: 60165–082. E-mail: alexandreliborio@yahoo.com.br.

Supplemental digital content is available for this article. Direct URL citations appear in the printed text and are provided in the HTML and PDF versions of this article on the journal's Web site (www.pidj.com).

Copyright © 2012 by Lippincott Williams & Wilkins

ISSN: 0891-3668/12/3105-0451

DOI: 10.1097/INF.0b013e318247f533

Although the majority of infected patients have asymptomatic infection or present with mild and unspecific symptoms, some of them will develop the classic presentation of prolonged fever and hepatosplenomegaly.¹ As a consequence of the intense parasitism of the reticular endothelial system, VL patients present with accentuated anemia, leukopenia, and thrombocytopenia, as well as with increased plasmatic levels of gamma globulins.¹

The high incidence of leishmaniasis in the pediatric population has been documented in some studies.^{5,6} This fact originates from a higher susceptibility to infections and the immunity system immaturity observed at this age range.⁷ The most severe and lethal presentations of VL usually occur in young malnourished children.

Renal abnormalities caused by leishmaniasis have been studied in experimental animal models and comprises interstitial and glomerular abnormalities.^{8,9} The main pathophysiological mechanism by which VL affects the kidneys includes immune complexes disease, as it occurs in other parasitic infections, such as malaria and schistosomiasis. According to animal models, the majority of patients present proliferative glomerulonephritis and interstitial nephritis.⁹ Studies about acute kidney injury (AKI) in VL are rare and there have been no studies in the pediatric population. Possible causes for AKI in VL patients include drug toxicity, associated infections, hemodynamic abnormalities, and immune complex deposits.^{9–13}

AKI definition is cumbersome, especially in the pediatric population, because creatinine kinetics used to predict glomerular filtration is under the influence of weight, height, and muscle mass. AKI in noncritically ill children has been scarcely studied, but the recent development of a standard pediatric AKI definition^{14–20} has improved the systematic study of AKI in this population.

The aim of this study was to investigate the incidence of AKI in children with VL, to determine the risk factors for AKI and the association between AKI and mortality.

PATIENTS AND METHODS

Setting and Patient Selection

A retrospective cohort study was conducted with 146 consecutive pediatric patients aged ≤ 14 years, with a confirmed diagnosis of VL, admitted to the São José Infectious Diseases Hospital, in the city of Fortaleza, Northeast of Brazil, from December 2003 to December 2010. All patients had the diagnosis of VL based on amastigote identification in smears obtained from the posterior iliac crest or sternal bone marrow aspirate. A standardized case investigation form was used to complete demographic, epidemiologic, clinical, and laboratory data. No patient presented previous chronic kidney disease, arterial hypertension, diabetes mellitus, or other comorbidities that could affect renal function.

Clinical Characteristic and Laboratory Data

The mean time between symptom onset and hospital admission was analyzed, as well as hospital stay duration, laboratory, treatment, clinical complication, and mortality data. Disease

Comparative Analysis of Pediatric and Adult Visceral Leishmaniasis in Brazil

Natália A. Rocha, MD,* Michelle J. C. Oliveira, MD, MSc,*† Luiz F. L. G. Franco, MD,*
Geraldo B. Silva Júnior, MD, MSc,*† Marília P. Alves, MD,* Aline M. Sampaio, MD,*
Bárbara R. L. Montenegro, MD,* Ana Patrícia F. Vieira, MD,* Camilla N. Jacinto, MD,*
Krasnalhia Lívia S. Abreu, MD,* and Elizabeth F. Daher, MD, PhD*

Background: The aim of this study was to compare clinical manifestations, laboratory data, morbidity and mortality between adults and children with visceral leishmaniasis, with a focus on kidney function.

Methods: This was a retrospective cohort study with 432 patients with visceral leishmaniasis diagnosed at 1 center in the northeast of Brazil. Patients were divided into 2 groups according to age (>21 years and ≤21 years old).

Results: The time between onset of symptoms and beginning of treatment was longer in adults (89.5 versus 48.5 days, $P < 0.001$); signs and symptoms were similar in both groups. Failure of treatment with glucantime was more common in adults (17.6% versus 8.8%, $P = 0.008$). Acute kidney injury was observed in 160 patients (37.0%), and it was more severe in adults. Risk factors for acute kidney injury in adults were hypokalemia, leukopenia, chills and amphotericin B use. In children, secondary infections were found to increase the risk for acute kidney injury. Overall mortality was 8.8%, and it was significantly higher in adults (12.6% versus 4.1%, $P = 0.002$).

Conclusions: The adult population had more severe laboratory abnormalities and a worse prognosis, possibly due to delay in diagnosis. Acute kidney injury is prevalent in both groups, and it is usually more severe in adults.

Key Words: visceral leishmaniasis, kala-azar, kidney injury, adults, children, severity

(*Pediatr Infect Dis J* 2013;32: e182–e185)

Visceral leishmaniasis (VL) is caused by obligate intramacrophage protozoa of the *Leishmania* spp. Most cases occur in tropical and subtropical regions where conditions are favorable for sandflies. It is endemic in Bangladesh, Brazil, India, Nepal and Sudan, where mortality rates in untreated cases range from 75% to 95%.^{1–3}

In Brazil, during the past 10 years, an average of 3600 new cases per year of VL were registered, with case fatality rate around 6%. During the same period, children younger than 10 years were more frequently affected, representing 48.9% of the cohort.⁴

Among the known complications of VL, kidney damage occurs in both adults and children. In adults, renal involvement is mainly due to immunocomplex deposits leading to mesangial cell proliferation, hematuria and proteinuria.^{5–7} Recently, tubular dysfunction, associated with incomplete distal tubular acidosis, impaired renal concentration and high urinary magnesium

excretion, has been described with improvement after specific treatment with a pentavalent antimonial.^{8,9} We have recently reported acute kidney injury as a common feature of the disease in children.¹¹

Differences in clinical presentation, mortality and severity of disease have been reported in a previous small study comparing adults and children,¹² but no study has compared the 2 populations regarding kidney function.

The aim of this study was to compare clinical presentation, laboratory data, morbidity and mortality between adults and children with VL, with a focus on kidney disease.

PATIENTS AND METHODS

Setting and Patients Selection

A retrospective cohort study was conducted with 432 consecutive patients with confirmed diagnosis of visceral leishmaniasis, admitted to the São José Infectious Diseases Hospital, in the city of Fortaleza, Northeast of Brazil, from December 2003 to December 2010. All patients had the diagnosis of VL based on amastigote identification in smears obtained from the posterior iliac crest or sternal bone marrow aspirate. Patients were divided in 2 groups according to their age (>21 years and ≤21 years old). A standardized case investigation form was used to complete demographic, epidemiological, clinical and laboratory data.

Clinical Characteristics and Laboratory Data

The mean time between symptom onset and hospital admission was analyzed, as well as duration of hospital stay, clinical manifestations, laboratory data, treatment and mortality. Disease severity was evaluated through clinical and laboratory findings. The clinical investigation included a medical record of all clinical signs and symptoms presented at hospital admission. Laboratory data included an assessment of serum urea, creatinine, potassium, sodium, total bilirubin, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, lactate dehydrogenase, total blood count, alkaline phosphatase, globulin, albumin and prothrombin time, as well as urinalysis. Hemorrhagic phenomena as gastrointestinal hemorrhage, hemoptysis and epistaxis were recorded at admission and during hospitalization.

The study protocol was reviewed and approved by the Ethical Committee of the Institution.

Protocol of Treatment

Patients were treated with intravenous injections of pentavalent antimonial (glucantime, Sanofi-Aventis, Brazil) 20 mg/kg daily for 20–40 consecutive days, unless clinical indications for amphotericin use was present, such as age <6 months or >60 years and evidence of instability. In cases of treatment failure with pentavalent antimonial, patients received amphotericin B 0.7 to 1 mg/kg daily for 14–21 consecutive days. Treatment success

Accepted for publication November 28, 2012.

From the *Department of Internal Medicine, Division of Nephrology, School of Medicine, Federal University of Ceará; and †School of Medicine, Health Sciences Center, University of Fortaleza, Fortaleza, Ceará, Brazil.

The authors have no funding or conflicts of interest to disclose.

Address for correspondence: Elizabeth De Francesco Daher, MD, PhD, Rua Vicente Linhares, 1198, CEP 60270-135, Fortaleza, Ceara, Brazil. E-mail: ef.daher@uol.com.br or geraldobezerrajr@yahoo.com.br.

Copyright © 2013 by Lippincott Williams & Wilkins
ISSN: 0891-3668/13/3205-0e182

DOI: 10.1097/INF.0b013e3182814eae

Renal Function Improvement with Pentavalent Antimonial Agents in Patients with Visceral Leishmaniasis

Elizabeth F. Daher^{a,b} Natália A. Rocha^a Michelle J.C. Oliveira^{a,b}
Luiz F.L.G. Franco^a Jobson L. Oliveira^a Geraldo B. Silva Junior^{a-c}
Krasnalhia Lívia S. Abreu^a Guilherme A.L. Henn^e Alice M.C. Martins^d
Alexandre B. Libório^c

^aDivision of Nephrology, Department of Internal Medicine, and ^bPostgraduate Program in Medical Sciences, School of Medicine, Federal University of Ceará, ^cSchool of Medicine, University of Fortaleza, ^dDepartment of Clinical and Toxicological Analysis, Pharmacy Faculty, Federal University of Ceará, ^eSão José Hospital of Infectious Diseases, State Secretary of Health, Fortaleza, Brazil

© S. Karger AG, Basel

**PROOF Copy
for personal
use only**

ANY DISTRIBUTION OF THIS
ARTICLE WITHOUT WRITTEN
CONSENT FROM S. KARGER
AG, BASEL IS A VIOLATION
OF THE COPYRIGHT.

Key Words

Visceral leishmaniasis · Kala-azar · Acute kidney injury · Urinary concentration · Urinary acidification · DDAVP

shows evidence of reversal of some tubular dysfunction in VL, but other dysfunctions may persist, especially urinary acidification capacity.

Copyright © 2011 S. Karger AG, Basel

Abstract

Background: The aim of this study is to investigate tubular and glomerular function after visceral leishmaniasis (VL) treatment with pentavalent antimonials. **Methods:** This is a prospective study including 14 patients with VL diagnosis treated with pentavalent antimonials. Urine acidification and concentration tests were performed. Estimated glomerular filtration rate (eGFR), fractional excretion of sodium (FE_{Na}) and potassium (FE_K) and free water clearance (C_{H₂O}) were measured to assess glomerular and tubular function. **Results:** The VL group had a significantly lower FE_K, serum sodium and plasma osmolality (P_{osm}). No significant differences were found regarding proteinuria, eGFR, FE_{Na} or C_{H₂O}. Patients in the VL group had lower urinary osmolality (U_{osm}) before DDAVP use when compared to the control group, as well as a lower U/P_{osm}. The urinary pH before and after CaCl₂ load was higher in the VL group. **Conclusion:** This study

Introduction

Visceral leishmaniasis (VL), also known as kala-azar, is an endemic disease in tropical countries, the subtropics and southern Europe, affecting 1–2 million individuals and causing approximately 500,000 new cases and 5,000 deaths each year [1–4]. It is estimated that over 200 million people around the world are at risk of contracting the disease, and over 90% of the cases occur in 5 countries, including Brazil [5, 6].

As a consequence of the intense parasitism of the reticular endothelial system, VL patients present with accentuated anemia, leukopenia and thrombocytopenia, as well as increased plasmatic levels of gamma globulins [7]. Pentavalent antimonial agents are the treatment of choice for VL.

KARGER

Fax +41 61 306 12 34
E-Mail karger@karger.ch
www.karger.com

© 2011 S. Karger AG, Basel
0250-8095/11/0000-0000\$38.00/0

Accessible online at:
www.karger.com/aj

Elizabeth De Francesco Daher
Rua Vicente Linhares, 1198
Fortaleza, CE 60135-270 (Brazil)
Tel. +55 85 3224 9725
E-Mail ef.daher@uol.com.br

Visceral leishmaniasis in children: a cohort of 120 patients in a metropolitan city of Brazil

Natália A. Rocha¹, Geraldo B. Silva Júnior^{1,2}, Michelle J. C. Oliveira^{1,2}, Krasnalhia Lívia S. Abreu¹, Luiz F. L. G. Franco¹, Marcos P. Silva¹, Ana Valeska V. Garcia¹, Elizabeth F. Daher¹

¹Department of Internal Medicine, School of Medicine, Federal University of Ceará, and ²School of Medicine, University of Fortaleza, Fortaleza, Ceará, Brazil

SUMMARY: Rocha NA, Silva Júnior GB, Oliveira MJC, Abreu KLS, Franco LFLG, Silva MP, Garcia AVV, Daher EF. Visceral leishmaniasis in children: a cohort of 120 patients in a metropolitan city of Brazil. *Turk J Pediatr* 2011; 53: 154-160.

There are few studies regarding the clinical presentation of visceral leishmaniasis (VL) in children. The aim of this study was to investigate the clinical manifestations, major complications and causes of death in children with VL.

A retrospective study was performed with pediatric patients (≤ 14 years old) with a diagnosis of VL in Fortaleza, state of Ceara, in Northeast Brazil.

A total of 120 patients were included. The mean age was 5 ± 3.9 years, and 53.4% were male. The main clinical manifestations at admission were: fever (94.2%), splenomegaly (94.2%), hepatomegaly (82.5%), anorexia (55%), malaise (47.5%), cough (41.6%), abdominal pain (27.5%), vomiting (25.5%), and diarrhea (16.6%). Acute kidney injury was found in 25% of the patients. The main complication during hospital stay was pulmonary infection, found in 27.5% (n=33), leading to sepsis in 3 cases. Glucantime® was the drug of choice in 90% (n=108) of the cases, amphotericin B in 7.5% (n=9) and AmBisome® in 2.5% (n=3). Death occurred in 4 cases (3.3%) due to sepsis (3 cases) and hemorrhagic complications (1 case).

Visceral leishmaniasis is a frequent infection among children in our region. The main complications were pulmonary infection and acute kidney injury related to antiparasitic therapy, along with sepsis and hemorrhage.

Key words: visceral leishmaniasis, kala-azar, children, complications, mortality.

Visceral leishmaniasis (VL) or kala-azar is an endemic disease in tropical countries, subtropics, and southern Europe, affecting one to two million individuals and causing approximately 5,000 deaths each year¹⁻⁴. It is estimated that over 200 million people around the world are at risk of acquiring the disease, and over 90% of the cases occur in five countries, including Brazil⁵.

The majority of infected subjects have asymptomatic infection or present mild and unspecific symptoms such as diarrhea, dry cough, lethargy, low-grade fever, and hepatosplenomegaly⁶. As a consequence of the intense parasitism of the reticuloendothelial

system, patients with VL present with accentuated anemia, leukopenia and thrombocytopenia, as well as with increased plasmatic levels of gamma globulins⁶.

The prevalence of VL in the pediatric population has been documented in some studies^{7,8} as due to the higher susceptibility to infections and the immune-depressed state found in this population, since the long-lasting immunity develops during those years⁹. In a recent study in our region, an important increase in the number of VL cases was observed, associated with urbanization of the disease¹⁰. Among 1379 registered cases in the study period, 493 (35.7%) were children¹⁰.