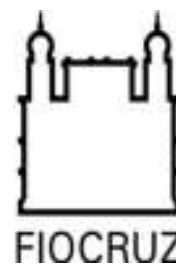




UFBA

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO GONÇALO MONIZ**



Curso de Pós-Graduação em Patologia

TESE DE DOUTORADO

**CARACTERIZAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DE CASOS FATAIS DE
LEISHMANIOSE VISCERAL HUMANA: ESTUDO CASO-CONTROLE DE
NECROPSIAS**

MARCO ANTONIO CARDOSO DE ALMEIDA

**Salvador - Bahia
2019**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO GONÇALO MONIZ**

Curso de Pós-Graduação em Patologia

TESE DE DOUTORADO

**CARACTERIZAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DE CASOS FATAIS DE
LEISHMANIOSE VISCERAL HUMANA: ESTUDO CASO-CONTROLE DE
NECROPSIAS**

MARCO ANTONIO CARDOSO DE ALMEIDA

Orientador: Prof. Dr. Washington Luis Conrado dos Santos

Tese de Doutorado apresentada ao Curso
de Pós-graduação em Patologia Humana,
para obtenção de grau de Doutor.

Salvador – Bahia

2019

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do
Instituto Gonçalo Moniz / FIOCRUZ - Salvador - Bahia.

A447c Almeida, Marco Antonio Cardoso de.
Caracterização histopatologica de casos fatais de Leishmaniose Visceral Humana: Estudo caso-controle de Necropsias. / Marco Antonio Cardoso de Almeida. - 2019.
49 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Dr. Washington Luis Conrado dos Santos, Laboratório de Patologia e Intervenção.

Tese (Doutorado) –Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Bahia. Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2019.

1. Calazar. 2. Leishmaniose visceral. 3. Patologia. 4. Autopsia. I.
Título.

CDU 616.993.161

Título da Tese: "CARACTERIZAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DE CASOS FATAIS DE LEISHMANIOSE VISCERAL HUMANA: ESTUDO CASO-CONTROLE DE NECROPSIAS"

MARCO ANTÔNIO CARDOSO DE ALMEIDA

FOLHA DE APROVAÇÃO

Salvador, 27 de novembro de 2019

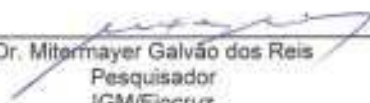
COMISSÃO EXAMINADORA



Dr. Carlos Henrique Nery Costa
Professor
UFPI



Dra. Iguaracyra Barreto de Oliveira Araújo
Professora
UFBA



Dr. Mittermayer Galvão dos Reis
Pesquisador
IGM/Fiocruz



Dr. Edgar Marcelino de Carvalho Filho
Pesquisador
IGM/Fiocruz



Dr. Washington Luís Conrado dos Santos
Pesquisador
IGM/Fiocruz

FONTES DE FINANCIAMENTO

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001”

À Jessy, Marcus e Fernando que acreditaram e confiaram nas minhas possibilidades.

AGRADECIMENTOS

Porque nada é o resultado de uma única vontade pessoal e de um único trabalho:

Ao meu orientador Prof. Dr. Washington Luiz Conrado dos Santos que com sua experiência, paciência e atenção acolheu o projeto, sugeriu e orientou rumos;

A Profa. Maria das Mercês de Santana Nunesmaia, professora-aposentada da Universidade Federal da Paraíba, e o Prof. Dr. Henrique Gil da Silva Nunesmaia, Prof. Titular da mesma Universidade, que acolheram fisicamente em sua casa este decano e tiveram papel fundamental na apresentação do trabalho e na análise estatística dos dados. Serei eterno devedor de ambos;

Ao Dr. Saulo Brandão Aguiar à época meu orientando de TCC no curso de medicina da UFBA. que pegou o trabalho pesado de remexer arquivos empoeirados e documentos de difícil acesso, além de cuidar dos procedimentos técnicos e da computação de dados. Sem ele seria impossível ter chegado até aqui;

A Lavínia Lemos à época estudante da Escola Bahiana de Medicina e bolsista estudantil que como o Dr. Saulo remexeu arquivos empoeirados de slides para recuperação dos originais e contribuiu com a documentação fotográfica dos casos;

A farmacêutica Sayuri Rocha Yamashita, à época acadêmica do curso de Farmácia da UFBA que contribuiu decisivamente na catalogação de dados do trabalho;

A Profa. Ana Maria de Carvalho Luz docente aposentada da Faculdade de Letras de UFBA pelo primoroso trabalho de revisão linguística do texto;

A Gerson Ferreira Rosa e José Carlos Santos da Silva, auxiliares de necropsia do Serviço de Anatomia Patológica do HUPES-UFBA que despretensiosamente penetraram nos arquivos empoeirados do serviço à cata dos blocos com tecidos parafinados e das lâminas das autopsias, esmaecidas pelo tempo, para que eu as pudesse examinar;

A Ana Carolina M. Sodré pela eficiente formata o do texto e orienta es.

  Biblioteca de Ciências Biomédicas Eurydice Pires de Sant'Anna, pelo suporte, em especial   Ana Maria Fiscina.

Ao Instituto Gonçalo Moniz - FIOCRUZ, pela estrutura e apoio dos colaboradores e servidores.

Aos que certamente esquecerei de citar, como sempre ocorre, que abriram as salas, ligaram o ar condicionado, ligaram as luzes e outras coisas mais, que foram atos eventualmente simples mas que têm também fazem parte do conjunto.

*“ ...no hay cuestiones agotadas, sino
hombres agotados en las cuestiones”*

*“..não há questões esgotadas mas homens
esgotados nas questões”.*

(Tradução livre)

(Santiago Ramón y Cajal) – Prêmio Nobel

*1906. (“Reglas y consejos sobre
investigación científica”)*

ALMEIDA, Marco Antonio Cardoso de. Caracterização histopatológica de casos fatais de Leishmaniose Visceral Humana: Estudo caso-controle de Necropsias. 2019. 49 f. Tese (Doutorado em Patologia)-Universidade Federal da Bahia, Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2019.

RESUMO

INTRODUÇÃO – A Leishmaniose Visceral Humana (Calazar) é uma das doenças negligenciadas no presente, atingindo populações pobres, incluindo no Brasil, e ainda agora com aparecimento de casos urbanos. A mortalidade atinge uma parcela destas populações não estando ainda totalmente definidas as alterações tissulares que estão envolvidas nestes casos fatais. Estudo de séries de casos de pacientes portadores da LVH que foram à óbito e necropsiados, podem ainda fornecer dados histopatológicos que tenham relevância no conhecimento de marcadores tissulares envolvidos com a morte destes pacientes e com mecanismos patogênicos, estando mais próximos das lesões humanas do que aquelas observadas em animais de experimentação. Não existem estudos comparativos com outras doenças crônicas. **MATERIAL E MÉTODOS:** Foram estudados dezoito (18) casos de paciente com Calazar submetidos a autopsias completas realizadas no Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Prof. Edgard Santos-UFBA, no período de 1975 a 2000, com revisão macroscópica e microscópica de todas as lâminas com tecidos de todos os órgãos e comparando com trinta e um (31) casos controles de pacientes sem Calazar e também autopsiados no mesmo período, pareados por idade, sexo e ano da autopsia. As lâminas de ambos os grupos foram examinadas ao microscópico óptico às cegas, sendo anotados todos os achados, em protocolo próprio e documentados aqueles achados mais significantes. Os dados foram submetidos a tratamento estatístico e avaliada a sua significância. **RESULTADOS:** Os achados macroscópicos mais importantes foram o aumento do fígado e do baço dos casos do grupo estudo, conforme a literatura, sendo significativamente importante ($X_2 = p < 0,01$). Dos achados microscópicos chama a atenção a desorganização, redução do número de folículos linfoides, redução dos centros germinativos e hialinose dos folículos linfoides da polpa branca ($X_2 = p < 0,05$); fenômenos estes observados em todos os casos do grupo estudo, na ausência de parasitismo; este foi somente observado em nove (09/18) casos do grupo estudo, no fígado, baço, intestinos, pulmão, linfonodos e estômago não sendo observado em outros órgãos. Todos os pacientes receberam tratamento específico durante a evolução da doença e internamento hospitalar. Os casos fatais foram majoritariamente de crianças e adultos acima dos 50 anos de idade. As causas mortis de ambos os grupos incluíram sangramentos e processos inflamatórios associados a coinfeções, havendo diferença significativa entre os grupos somente com relação aos sangramentos, este mais importante no grupo com LVH ($p < 0,05$). **CONCLUSÕES:** O material de autopsias mostrou-se viável para um estudo de série de casos fatais de LVH comparado com um grupo controle. A desorganização e demais alterações observadas e descritas na polpa branca do baço do grupo de estudo, foram interpretadas como um possível substrato ou marcador de curso fatal da doença, principalmente em crianças e pacientes idosos. Co-infecções como mecanismos determinantes do óbito dos pacientes dos dois grupos não mostraram diferença significativa ($p > 0,05$), e podem estar envolvidas com fatores não diretamente relacionados com o parasitismo dos pacientes com LVH de curso fatal. A significância dos sangramentos dos pacientes com LVH precisa ser melhor elucidada. Novos estudos imuno-patológicos na LVH precisam ser realizados.

Palavras-chave: Calazar, Leishmaniose visceral, Patologia, Autopsias.

ALMEIDA, Marco Antonio Cardoso de. Histological characterization of fatal cases of human visceral leishmaniasis. A case and control study in autopsy. 2019. 49 f. Tese (Doutorado em Patologia) - Universidade Federal da Bahia, Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2019.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Human Visceral leishmaniasis (VL) is a neglected diseases affecting poor countries including parts of Brazil. Recently with the emergence of urban cases. A proportion of the patients with VL dyes of the disease and the tissue alterations that are involved in these fatal cases are not yet fully defined. A study of case series of patients with LVH who died and necropsied, may provide relevant knowledge on the tissue markers of death associated with the disease. **MATERIAL AND METHODS:** Complete autopsies of 18 patients with Calazar performed at the pathological anatomy service of Hospital Prof. Edgard Santos-UFBA, in the period 1975 to 2000, were reviewed. Macroscopic and microscopic review of all the slides containing tissues from all organs were studied. As a control autopsies of 31 patients without Calazar and also autopsied in the same period, paired by age, sex and year of autopsy also were revised. The slides of both groups were examined without knowledge of patient group. All histological findings were recorded according an previously defined protocol. The results were subjected to statistical analysis and its significance was assessed. **RESULTS:** The most important macroscopic findings were the increase of the liver and spleen in patients with VL ($p = 0.01$). In patients with VL the spleen presented disorganization, reduction of the number of lymphoid follicles, reduction of germinal centers and hyalinosis of germinal centers area ($p = 0.05$); Parasitism was observed in only nine cases of the Study group, in the liver and spleen, and in other organs. All patients received specific treatment during disease progression and hospitalization. The fatal cases were mostly children and adults above 50 years of age. The causes of death in the study and control cases included bleeding and confections in both group. However, hemorrhagic events were most frequent among patients with VL. **CONCLUSIONS:** The autopsy specimens allowed a comparative study between patients with and without VL. The spleen disorganization was the most relevant histological difference between the groups. It was interpreted as a possible substrate or marker of fatal course of VL, especially in children and elderly patients. Although coinfections contributed to death in both groups, beeding was more frequent in patients with VL.

Keywords: Calazar, Visceral Leishmaniasis, Pathology, Autopsies.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Distribuição dos pacientes com e sem Leishmaniose Visceral Humana (LVH) necropsiados e pareados por sexo e idade por diagnóstico e causa de óbito - Serviço de Anatomia Patológica do HUPES-UFBA, Salvador-Bahia (1975-2000).	31
Tabela 2	Características gerais dos pacientes com Leishmaniose visceral (LV) submetidos a necropsias e pareados com os controles.	33
Tabela 3	Peso mediano de órgãos dos pacientes com e sem Leishmaniose Visceral Humana pareado por sexo e idade e necropsiado no Serviço de Anatomia Patológica do HUPES – UFBA, Salvador-Bahia, (1975 – 2000)	34
Tabela 4	Alterações histológicas observadas em pacientes portadores de Leishmaniose visceral e pareados por idade, submetidos a necropsia – Serviço de Anatomia Patológica – HUPES – UFBA, Salvador – Bahia (1975 – 2000).	35

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Leishmaniose Visceral Humana. Hepatoesplenomegalia	36
Figura 2	LVH. Baço: Desorganização, hialinose e redução da polpa branca (setas).	36
Figura 3	LVH. Baço: atrofia folicular e hialinose (setas).	37
Figura 4	LVH – Fígado com necrose multilobular (setas) e Hepatite Portal (estrela).	37
Figura 5	LVH – Fígado com hepatite portal e necrose hepatocelular.	38
Figura 6	LVH – Fígado com necrose hepatocelular, esteatose, infiltrado linfoplasmocitário sinusoidal e parasitismo de células de Kupffer(seta).	38
Figura 7	LVH. Pulmão com fibrose irregular e hemorragia intra-alveolar maciça	39
Figura 8	LVH. Medula óssea hiper celular com plasmocitogenese	39
Figura 9	LVH – Rim. Nefrite Intersticial e Glomerulopatia mesangial	40
Figura 10	LVH – Rim. Glomerulopatia mensangial.	40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Albumina
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
CIVD	Coagulação intravascular disseminada
CNS	Conselho Nacional de Saúde
CONEP	Conselho Nacional de Ética em Pesquisa
G	Globulinas
HUPES	Hospital Universitário Professor Edgar Santos
IMFI	Imunofluorescência indireta.
LVH	Leishmaniose Visceral Humana
MS	Ministério da Saúde
PT	Proteica Total
SAP	Serviço de Anatomia Patológica
SNC	Sistema Nervoso Central
UFBA	Universidade Federal da Bahia
OMS	Organização Mundial de Saúde - WHO

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	JUSTIFICATIVA	20
3	OBJETIVOS	21
3.1	GERAL	21
3.2	ESPECÍFICOS	21
4	MATERIAL E METODOS	22
4.1	COMPROMISSOS ÉTICOS.....	22
4.2	FORMAÇÃO DO GRUPO-ESTUDO E DO GRUPO-CONTROLE.....	23
4.3	CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS DAS AUTOPSIAS.....	23
4.4	MATERIAIS COMPLEMENTARES.....	25
4.5	ANÁLISE DOS DADOS.....	25
5	RESULTADOS	27
5.1	AMOSTRA.....	27
5.2	ACHADOS LABORATORIAIS.....	28
5.3	ACHADOS MACROSCÓPICOS.....	28
5.4	ACHADOS MICROSCÓPICOS.....	29
6	DISCUSSÃO	41
7	CONCLUSÕES	46
8	PERSPECTIVAS	47
9	FLUXOGRAMA	48
	REFERÊNCIAS	49

1. INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Visceral Humana – LVH (Calazar, Kala-Azar) é uma doença não contagiosa, transmitida ao homem pelo mosquito flebotomina fêmea, que introduz o parasito *leishmania* em seu organismo durante a sua alimentação com sangue (Herwaldt, 1999).

No Brasil, essa enfermidade é causada pelo protozoário *Leishmania infantum*, transmitido por flebotomíneos do gênero *Lutzomyia*. O flebotomíneo (tatuquira, mosquito-palha, asa dura, asa branca, cangalhinha, birigui e anjinho) é o inseto-vetor. A fêmea do flebotomíneo infectada alimenta-se do sangue dos animais silvestres (preguiça, gambá, roedores, canídeos) e de animais domésticos, como o cão, o mais importante vetor no meio urbano, e o cavalo, os quais, infectados pelo parasito, transformam-se em reservatórios, permitindo a circulação do parasito na natureza. Nos ambientes com animais infectados, o inseto se contamina e pica o homem transmitindo-lhe a doença e se transformando em hospede do sistema fagocítico macrofágico humano (BACELAR, O. e CARVALHO, E. M., 2005). A transmissão entre seres humanos é rara (CABRERA, 1999).

A Leishmaniose Visceral (LV) zoonótica é uma doença crônica, debilitante, caracterizada pela infecção do sistema fagocítico mononuclear pelo protozoário *L. infantum*, com episódios febris associados a hepatoesplenomegalia grave, emagrecimento, anemia e linfopoliadenia, podendo ocorrer manifestações intestinais e fenômenos hemorrágicos e, em determinados casos, a morte (CABRERA, 1999).

A LVH é a segunda doença tropical negligenciada que mais mata no mundo, somente sendo ultrapassada pela malária. Animais como cães e roedores são potenciais reservatórios sintomáticos do parasita, principalmente no meio rural (QUINNEL e COURTNEY, 2009), sendo os cães portadores de alterações clínicas e anatomopatológicas semelhantes às do homem. A doença é endêmica em mais de 40 países, dentre eles o Brasil, principalmente nos estados do Ceará, do Piauí e da Bahia. Sua gravidade e letalidade têm aumentado a mortalidade, principalmente devido ao diagnóstico tardio e a fatores outros que precisam ser esclarecidos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016). Nas últimas décadas, temos assistido ao desmatamento e à ocupação de áreas de mata antes não habitadas pelo homem, ou de zonas rurais, onde animais e pacientes infectados começam a tornar a doença um problema de saúde pública em áreas urbanizadas (CABRERA, 1999). Há entre 200 a 400 mil novos casos por ano em todo o mundo, a maioria na Índia, em Bangladesh, no Nepal, no Sudão e no Brasil, segundo dados da OMS citados em relatórios como os da Organização não

Governmental Médicos Sem Fronteiras¹. No Brasil, o Ministério da Saúde, 2017 apontou uma letalidade da doença de 3.1% em 2000, passando para 7.1% em 2012 e 8.8% em 2017 e havendo dados que evidenciam em torno de 4000 novos casos por ano. Um fato agravante é que as mortes ocorreram entre 2001 e 2017, na maioria das vezes entre crianças com menos de um ano de idade e pacientes adultos com mais de cinquenta anos.²

As investigações que visam a elucidar fatores ou condições de risco que condicionam a evolução fatal da LVH são inúmeras. Nesse sentido, as infecções bacterianas observadas nos casos fatais são consideradas fatores de risco, como a marca de uma síndrome inflamatória crônica sistêmica (COSTA, C.H.N., 2010) ou condições clínicas como desnutrição, imunodeficiências, ou outras comorbidades (WERNECK, G. BBL.,2003). O MS do Brasil considera que existe uma série de condições clínicas e laboratoriais que devem ser consideradas diante da possibilidade de evolução da doença, desde dados como a icterícia na evolução do quadro clínico até a neutropenia (BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica, 2011). A estimativa da probabilidade de morte, segundo a Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, variaria na dependência desses fatores clínico-laboratoriais. Considera-se por exemplo, que pacientes com menos de 12 meses de idade, que apresentem sangramentos em um ou dois locais no curso da LVH, associados com edema, dispneia e alterações das enzimas hepáticas, têm uma probabilidade de morte de 62,6%. Já pacientes com mais de 40 anos de idade, com sangramentos em um ou dois locais, associados a icterícia, infecção bacteriana, dispneia e leucócitos < 1500 mm³, teriam uma probabilidade de 24% de óbito³.

Experimentalmente, em animais, como em determinadas linhagens de camundongos, os parasitos do fígado são eliminados, envolvendo respostas regulatórias e efetoras linfocíticas que culminam com a formação de granulomas. A persistência do parasito no baço seria acompanhada por uma falha na formação desses mecanismos celulares de defesa, esplenomegalia e alterações da microestrutura dos tecidos esplênicos, com atrofia da polpa branca, perda do manguito periarteriolar de células T, com importante plasmocitogênese da polpa vermelha e penetração de macrófagos parasitados. Nesses fenômenos, estaria envolvida a superexpressão de TNF, com modulação de células T (KAYE, P. M., 2004). Dessa forma, em um mesmo animal infectado, poderiam ocorrer diferenças em relação à resposta ao parasito, com resolução

¹ <http://www.msf.org.br/o-que-fazemos/atividadesmedicas/leishmaniose>

² scielo.iec.pa.gov.br/pdf/ess/v20n1/v20n1a12.pdf

³ <http://sbmt.org.br/kalacal/>

do processo em alguns órgãos e persistência em outros, o que repercute na resposta crônica ao parasitismo e a na resistência ou não a reinfecções, tornando relevante o estudo da resposta imune de diferentes órgãos ao agente parasitário (ENGWERDA, C. R., 2000). Assim, o entendimento dos complexos mecanismos envolvidos na resistência ao parasito e naqueles envolvidos na progressão da doença é primordial para o estabelecimento de estratégias clínicas para o tratamento e para o eventual desenvolvimento de vacinas, por exemplo.

Nos casos humanos da doença, os órgãos preferencialmente afetados são o fígado, o baço, a medula óssea e os rins. O baço é um órgão linfoide secundário interposto na circulação sanguínea sistêmica e, portanto, responsável pelo reconhecimento de diversos agentes patogênicos e pela resposta de defesa do organismo como um todo. Quanto a esse aspecto, o baço, segundo trabalho recente, seria o órgão central no desenvolvimento do curso fatal da doença (HERMIDA, M. d'El-Rei *et al.*, 2018). Nesse trabalho, os autores reveem os dados publicados na literatura em relação às alterações do órgão na LVH, representadas por atrofia dos folículos linfoides secundários da polpa branca, desaparecimento da zona marginal com alterações dos limites da polpa branca e infiltração plasmocitária em lugar da população linfoide, propondo uma classificação dessas alterações que possa permitir uma comparação de informações entre os estudiosos.

A doença cursa com uma progressiva deterioração do funcionamento do sistema imunológico, inicialmente com grande parasitismo do sistema macrofágico mononuclear do baço, do fígado, da medula hematopoiética, etc., além de revelar sintomas de fraqueza generalizada e febre prolongada. Fatores relacionados com a nutrição e a carga parasitária têm sido relatados como agravantes do quadro clínico e letalidade, tendo em vista que a maioria da população infectada nas áreas endêmicas é portadora do parasito sem sintomatologia que possa ser comparada com aquela dos pacientes adoecidos. Estado de imunodepressão concomitante, como os que são observados em pacientes HIV+, tem agravado o curso da doença, pelo aumento da letalidade associada às lesões e pelas infecções oportunistas. Está documentado que paciente portadores de LV, mas negativos para o HIV, têm uma taxa de recidiva e cronificação da doença em torno de 10%, enquanto, nos pacientes HIV+, essa taxa atinge 44% (CABRERA, 1999).

Foi demonstrado (ANDRADE *et al.*, 1990; COSTA *et al.*, 2010) que coinfeções e fenômenos hemorrágicos são as principais causas de morte imediata de

determinados pacientes, e há trabalhos que demonstram as alterações observadas nos diversos tecidos humanos, incluindo aqueles associados ao parasitismo ou aqueles sem sua presença (ANDRADE *et al.*, 1990; COSTA *et al.*, 2010). A doença é considerada como um processo inflamatório crônico sistêmico envolvendo vários órgãos e tecidos, com repercussões morfofuncionais importantes e polimorfas, incluindo lesões diretas e indiretas em resposta ao parasitismo.

VERESS *et al.* (1974) demonstraram que as lesões se estabelecem com a presença dos parasitos no SFM, o que repercute em vários órgãos, ocasionando disproteinemia importante, aumento do baço e do fígado, com lesões crônicas-inflamatórias sistêmicas principalmente aquelas observadas nos espaços-porta hepáticos e (ou) parenquimatosas, ou ainda no envolvimento dos septos alveolares pulmonares.

Os rins são atingidos por alterações que envolvem mecanismos imunes em resposta a antígenos do parasita, na forma de glomerulopatias (COSTA, 2003; BRITO, 1975; ANDRADE, Z. A., 1972; DUARTE, 1978; WEISINGER, 1978; SARTORI, 1987; e DUTRA, 1985) e de nefrite intersticial. DUARTE (1983) e ALMEIDA *et al.* (1989) enfatizaram o possível envolvimento de depósitos de produtos antigênicos e anticorpos na gênese das lesões renais na LVH no curso de processos nefríticos envolvendo os espaços túbulo-intersticiais e glomerulares.

Os trabalhos anteriores (MELLENEY, 1925; BOGLIOLO, 1956; SILVA, 1957; e ANDRADE *et al.*, 1966) já chamavam a atenção sobre as lesões nos tecidos humanos associadas ao parasitismo. ANDRADE *et al.* (1966) mencionam estudos de série de material de autópsias, realizados nas décadas de 60 e 70, que, por vezes, apresentam um número significativo de casos, havendo, após esse período, uma ausência, na literatura, de trabalhos com séries de casos. As últimas quatro décadas têm sido marcadas por importantes desenvolvimentos na Imunologia, com reflexos na capacidade de identificação e de estudo de mecanismos imunopatológicos de doenças. Os avanços na Imunologia e nos diagnósticos de linfomas e leucemias permitiram o desenvolvimento de anticorpos para a fenotipagem de leucócitos, o que permite a identificação e o estudo de sua distribuição nos tecidos.

A mudança do perfil demográfico do país, com o declínio de mortes por um conjunto de enfermidades bacterianas e virais, foi acompanhada pela emergência de enfermidades, como a AIDS, e a reemergência e urbanização de doenças como a leishmaniose visceral humana. Esse cenário tem induzido uma série de estudos experimentais em diversas espécies animais, bem como estudos clínicos e laboratoriais (usualmente examinando células do sangue periférico) em seres humanos. Contudo as

alterações morfológicas associadas a LVH, nesse novo cenário, têm sido reportadas de maneira muito limitada (CABRERA, 1999). Por outro lado, há evidências de que os estudos das lesões teciduais podem oferecer importantes informações sobre a patogênese da leishmaniose, o que é impossível de obter em estudos de células isoladas nos seus microambientes teciduais e que complementariam e validariam os conhecimentos obtidos até o momento em modelos experimentais. Por exemplo, estudos recentes de necropsias de cães naturalmente infectados com *L. infantum* têm demonstrado que a desestruturação do tecido linfoide esplênico está associada a formas graves da enfermidade (LIMA *et al.*, 2014; LIMA *et al.*, 2004). Essas alterações estão associadas à diminuição do número de células dendríticas foliculares, bem como à diminuição da expressão da quimiocina CXCL13, importante para a migração de linfócitos B para o interior do folículo linfoide e manutenção da organização folicular (SILVA *et al.*, 2012). Há evidências de que infecções pela *leishmania* e por outros patógenos, especialmente por vírus (HIV, por exemplo), podem contribuir para a desestruturação linfoide, agravando a doença (BENEDICT *et al.*, 2006; ENGWERDA *et al.*, 2002; JANOSSY *et al.*, 1985).

Não se encontram trabalhos, nas últimas quatro décadas, com séries de material de necropsias completas que possam reavaliar as alterações morfofuncionais e oferecer uma visão mais abrangente das alterações teciduais associadas à morte nos pacientes com leishmaniose visceral humana. A proposta do presente estudo é realizar uma revisão de série de casos de LVH necropsiados no Hospital Professor Edgard Santos (UFBA). Este estudo tem relevância para a identificação de alterações que possam indicar os atuais mecanismos de óbito de pacientes com leishmaniose visceral grave, o que constitui, no momento, o principal problema associado à enfermidade no Brasil. Em termos gerais, no novo cenário de desenvolvimento econômico e de urbanização do País, a infecção por *leishmania* evolui de forma assintomática, ou como uma enfermidade branda, na maioria das pessoas infectadas. Os casos de enfermidade aberta são, em sua maioria, tratáveis.

Há, contudo, uma taxa significativa de 5 a 12% de indivíduos que evoluem para óbito, mesmo na vigência do tratamento em uma instituição hospitalar com o perfil de atendimento a doenças infectocontagiosas. Este estudo poderá contribuir com informações que permitam uma melhor compreensão da imunopatologia da doença e a definição de novas abordagens terapêuticas desses casos. Para isso tem importância fundamental a busca de marcadores teciduais que possam indicar o eventual curso da doença em direção a um maior risco de evolução para gravidade e letalidade dos

pacientes. Estudos em necropsias completas podem definir a presença ou não do parasito nos tecidos e avaliar a desestruturação linfoide, levando a um potencial “ponto de não retorno” na evolução da doença, o que poderia ser previsto antes de sua ocorrência, estabelecendo-se correlações seguras entre o quadro clínico-laboratorial e as lesões teciduais. Tal abordagem pode ainda contribuir para a definição de novos testes (biomarcadores periféricos) de evolução grave da LVH. O presente estudo apresenta a particularidade de talvez ser o único com comparativo de caso e controle, podendo-se separar o que é específico da LVH. Trabalhos sistemáticos de serie de casos sob o ponto de vista da histopatologia, portanto, ainda podem trazer mais conhecimentos da doença, principalmente para o estabelecimento de mecanismos etiopatogênicos mais seguros. No futuro, a associação com técnicas de biologia molecular poderá melhorar o entendimento da doença, com seu quadro clínico polimorfo.

2. JUSTIFICATIVA

No tempo presente, vivencia-se a emergência ou reemergência de doenças infectocontagiosas e parasitárias que, aparentemente sob controle epidemiológico, foram negligenciadas num cenário de dificuldades sociais e econômicas. Assim, vemos, diante da morbidade em relação a LVH e com surgimento inclusive de casos em zonas urbanas, a necessidade de evoluir no conhecimento da patogênese dessa doença, que se mostra fatal em alguns casos. Nesse cenário, verifica-se a ausência de levantamentos recentes de trabalhos de série de casos humanos, com o estudo sistemático das lesões tissulares, que possam informar e tentar elucidar pontos da patogênese da doença. Acredita-se que há ainda o que explorar em relação a material de necropsias completas e sistematizadas nessa condição, trazendo subsídios para estudos imunopatológicos no presente e no futuro. O estudo de material humano encontra-se muito mais próximo da realidade da doença-clínica, podendo subsidiar avanços do conhecimento nas áreas do diagnóstico e terapêutica dos pacientes parasitados. A problemática da evolução fatal LVH de alguns casos coloca em relevo a necessidade de se identificarem marcadores tissulares que possam prever uma eventual evolução desfavorável, mesmo com o tratamento específico. Por outro lado, tais estudos poderão contribuir para a identificação de alvos, para o uso de drogas mais efetivas e com menos efeitos colaterais das que ainda persistem com o uso do antimonial pentavalente. Nesse contexto, é de fundamental importância o desenvolvimento de estudos de material de tecidos humanos de pacientes parasitados, visando à aquisição de subsídios para um melhor controle de uma doença parasitária que tem avançado no contexto mundial.

No presente trabalho salienta-se a relevância do estudo sistemático com um grupo de controle constituído de pacientes sem LVH, portadores de doenças crônicas, podendo-se procurar, assim, definir os eventos terminais que podem ser próprios da LVH e aqueles outros observados comumente em pacientes terminais sem a doença. Estudos prévios não foram capazes de definir essa questão.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Realizar estudo comparativo de necropsias realizadas no período de 1975 a 2000 no SAP do HUPES-UFBA, em um grupo de pacientes com lesões da Leishmaniose Visceral Humana e grupo de controle sem a doença e com patologias diversas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a. Realizar a revisão de todas as alterações macroscópicas e microscópicas de necropsias completas em todos os órgãos examinados.
- b. Descrever as lesões determinantes do óbito nos pacientes do grupo de estudo, portador da LVH.
- c. Descrever os marcadores teciduais associados com o óbito na Leishmaniose Visceral Humana.

4. MATERIAL E METODOS

4.1 COMPROMISSOS ÉTICOS

Os proponentes deste projeto assumiram o compromisso de observar as recomendações contidas na Resolução 196/96 do MS, CNS, CONEP sobre ética em pesquisa com seres humanos. Não houve requerimentos de intervenções ou abordagem ao paciente em decorrência da execução do projeto. Contudo os formulários de necropsias e as lâminas histológicas com tecidos dos pacientes foram criteriosamente revistos, e as informações concernentes ao projeto levantadas e registradas, mantendo-se sempre a garantia do sigilo. Os resultados do trabalho serão comunicados à comunidade médica e científica em encontros científicos e através da publicação de pelo menos um artigo em revista indexada de circulação internacional. O projeto de pesquisa foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz, Fundação Osvaldo Cruz – Bahia (Protocolo 360/2011, Parecer Final 249/2012.)

4.2 FORMAÇÃO DO GRUPO DE ESTUDO COM LVH E DO GRUPO DE CONTROLE SEM LVH

O grupo de estudo corresponde a todos os pacientes com LVH necropsiados no Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Prof. Edgar Santos da Universidade Federal da Bahia, no período de 1975 a 2000. Nenhum paciente com LVH e (ou) sem LVH tinha diagnóstico clínico ou laboratorial de infecção pelo HIV ou pelo HTLV1 e 2.

Foram estabelecidos dois critérios de inclusão:

- a) Diagnóstico de LVH comprovado clínica e laboratorialmente (sorologia ou identificação do parasito nos tecidos dos pacientes)
- b) Disponibilidade de informações clínicas e das lâminas histológicas apropriadas para análise

O critério de exclusão foi a ausência de diagnóstico clínico ou laboratorial de LVH.

O grupo de controle foi constituído com pacientes necropsiados no SAP, HUPES (UFBA), sem diagnóstico clínico-laboratorial de LVH e com diagnóstico de diversas patologias.

O pareamento do grupo de controle foi realizado por: a) idade; b) sexo; c) necropsia realizada no máximo no intervalo de dois anos para mais ou para menos em relação aos casos de LVH. Todos os pacientes do grupo com LVH e do grupo controle eram naturais do Estado da Bahia e oriundos dos mesmos locais dos pacientes normalmente internados no HUPES-UFBA e sob as mesmas condições.

Os elementos do grupo de controle sem LVH foram selecionados sem conhecimento do examinador qualificado, sendo a análise do material de necropsia desse grupo realizada com os mesmos procedimentos adotados para o grupo de estudo.

4.3 CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS DAS NECROPSIAS

O SAP começou suas atividades em 1949, com a inauguração do HUPES (UFBA), tendo uma tradição de realização de necropsias completas, usando-se a técnica de Maurice Letulle (1853-1929). Por essa técnica, há evisceração em bloco dos órgãos torácicos, abdominais e pélvicos, com exceção dos intestinos delgado e grosso, retirados à parte em duplo cego; a calota craniana, o encéfalo e as meninges são examinados em todos os casos; eventualmente, a coluna vertebral é aberta, dependendo dos dados clínicos e laboratoriais, e examinada toda a medula espinhal. Todos os órgãos foram dissecados, seccionados e examinados macroscopicamente; foram mensurados quanto

aos pesos e às medidas dos maiores diâmetros. Foram colhidas amostras de medula dos ossos e, eventualmente, de outras partes corporais, dependendo da doença básica e (ou) de suas complicações. De todos os órgãos foram retirados fragmentos para exame histológico posterior, independentemente de haver ou não lesões macroscópicas ou relacionadas com a patologia básica.

Todos os dados macroscópicos e microscópicos foram anotados em protocolo próprio, arquivado no referido serviço; e, nos prontuários dos pacientes, concluindo-se os laudos necroscópicos, foi feito o registro da provável causa de morte imediata, a doença básica e concomitantes, além de resumo do caso, com eventual bibliografia. Foram feitas documentações fotográficas das lesões macroscópicas e microscópicas mais relevantes, e os slides recuperados, após tratamento químico específico com substâncias detergentes e lavagens, foram revistos em laboratórios fotográficos.

Todos os tecidos foram fixados em solução de formalina a 10%, durante um período de, no mínimo, uma semana; posteriormente, foram clivados, sendo colhidas amostras representativas, incluindo duas ou mais secções dos tecidos. Todas secções dos tecidos foram desidratadas em álcoois de concentrações crescentes, diafanizadas em xileno, parafinizadas, emblocadas em parafina histológica e seccionadas em micrótomo rotativo de parafina com 4 a 5 micrometros de espessura. Posteriormente, os cortes histológicos, montados em lâminas histológicas, foram corados pela técnica de hematoxilina-eosina, e eventualmente outras colorações histoquímicas, e recobertas com lamínulas com o uso do balsamo de Canadá.

Todas as lâminas e blocos com tecidos parafinados foram retirados dos arquivos do SAP-HUPES-UFBA e reexaminados às cegas, incluindo os casos de controle, sem LVH, por um único examinador. Os achados foram anotados eletronicamente em formulário próprio, incluindo os dados macroscópicos e microscópicos. As lâminas que estavam descoradas foram desmontadas e coradas outra vez. No caso dos tecidos que não tinham representação, por falta de lâmina correspondente, foram realizadas novas secções dos blocos com tecidos parafinados, também obtidos a partir dos arquivos do SAP.

O examinador não teve qualquer conhecimento dos casos, se do grupo de estudo com LVH ou se do grupo de controle sem LVH. Os casos foram pareados por idade, sexo e ano da necropsia, com aceitação de intervalo de dois anos da necropsia e de dois anos a mais ou a menos da idade dos pacientes.

Todas as lâminas foram reexaminadas em um microscópio óptico Nykon com aumentos progressivos de até 1000x e realizadas microfotografias digitais dos achados

mais importantes, sem indicação do grupo a que pertenciam, mas com numeração para posterior identificação.

Dois casos de controle sem LVH para cada caso de estudo com LVH, (exceto em cinco casos) foram selecionados sem conhecimento do examinador, sendo novamente afastado o próprio diagnóstico de Leishmaniose Visceral, já documentado clínica e laboratorialmente. Todas as lâminas e blocos de tecidos desses casos de controle foram submetidos ao mesmo tratamento do grupo de estudo com LVH.

O Resumo dos procedimentos de seleção, coleta e análise dos dados estão ilustrados na Tabela 1.

4.4 MATERIAIS COMPLEMENTARES

Formulários de necropsias – Dados clínicos foram coletados e todos os dados macroscópicos foram recuperados dos laudos ou prontuários necroscópicos de cada caso, incluindo peso, medidas dos órgãos, características dos tecidos, alterações anatomopatológicas relevantes de cada órgão, etc. Eventualmente, foram feitas pesquisas nos prontuários clínicos em arquivo inativo do HUPES para o estabelecimento de correlações.

Documentação fotográfica – Foram recuperados, dos arquivos de documentação fotográfica, os slides ou diapositivos dos achados macroscópicos das necropsias, sendo eles submetidos a tratamento químico com substâncias usadas em laboratório fotográfico para recuperação de sua qualidade documental.

Blocos e lâminas de tecidos – Todos os blocos com tecidos parafinados e todas as lâminas com tecidos corados pela hematoxilina-eosina e outras colorações foram retirados dos arquivos do SAP, HUPES-UFBA e foram revistos, inicialmente, quanto às suas qualidades técnicas, para permitir imediata reavaliação. As lâminas com artefatos, descoradas ou com outras imperfeições, foram desmontadas e recoradas, ou os respectivos blocos com tecidos parafinados foram recortados para a feitura de novas lâminas. A coloração básica da hematoxilina-eosina foi utilizada em todos os casos como primeira avaliação dos tecidos que eventualmente poderiam ser submetidos ainda a técnicas de colorações histoquímicas convencionais para pesquisa de outros agentes etiológicos ou de especificidades.

4.5 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados estão apresentados em percentagens e números absolutos e resumidos em média +- desvio padrão ou como medianas; 1º quartil (percentil de 25%) e 3º quartil

(percentil de 75%). Os dados foram resumidos usando-se o PRISM 5.01 (GRAFPAD, San Diego, USA) e STATA IC11. Para variáveis contínuas, no estabelecimento do grau de significância de diferença entre os grupos estudados, foram usados o teste t pareado ou o teste do Sinal de Wilcoxon. Para comparações envolvendo proporções, foi usado o Teste do Qui-Quadrado de Pearson ou o Teste Exato de Fisher, quando recomendado. O nível crítico de significância foi estabelecido com $\alpha = 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1 AMOSTRA

A amostra estudada foi constituída de um grupo de pacientes portadores de LVH e um grupo de controle sem LVH, incluindo dezoito (18) casos de necropsias completas de portadores de LVH, pareados com 31 casos controles duplos (26) e simples (05), por sexo e idade, portadores de doenças diversas sem LVH. A Tabela 1 apresenta a relação dos casos do grupo de estudo e os do grupo de controle, com os diagnósticos clínico-laboratoriais, causas de óbito, idade e sexo.

A quase totalidade dos pacientes do grupo de estudo teve diagnóstico de LVH em vida (16/18), pelo encontro do parasita no mielograma, um (01/18) em que o diagnóstico foi firmado no próprio exame necroscópico, com a identificação dos parasitos nos tecidos examinados, e outro (01/18) por Imunofluorescência Indireta com título 1:4016, no curso de uma Aspergilose Pulmonar Invasiva. Um pouco mais da metade dos casos de LVH ocorreu em crianças com idade de 10 anos ou menos (10/18), e somente dois casos em pacientes com mais de 50 anos de idade (02/18). Pacientes do sexo masculino predominaram na presente amostra (11/18).

Processo infeccioso concomitante (sepsies, broncopneumonia) foi atribuído como a causa imediata do óbito em 10/18 casos do LVH e em 26/31 dos casos sem LVH. Sangramento foi atribuído como *causa mortis* em 08/18 casos com LVH e em 05/31 casos sem LVH ($p < 0.05$).

As características gerais da amostra de pacientes com e sem LVH estão apresentadas na Tabela 2. Diarreia foi relatada em 11/18 casos com LVH e em 08/26 dos casos sem LVH ($p = 0,04$), com a presença do parasito observado somente em dois (02/11) casos com diarreia.

O tempo de evolução da doença dos pacientes com LVH variou de menos de 30 dias, em dois (02) casos, a mais de um ano, em quatro (04) casos, sendo que a maioria evoluiu de 30 dias a 12 meses de doença até o óbito. O óbito ocorreu, em média, 40 dias após o internamento. Quinze (15/18) pacientes foram tratados: com glucantime (12 pacientes); um paciente (01) foi tratado com a associação glucantime anfotericina B, outro somente com anfotericina B (01 paciente), e um (01) terceiro com a associação glucantime e RO.7.1054 (imidazolacetamida). Em três (03) pacientes, não se obteve informação sobre tratamento. Um (01) paciente desenvolveu uma forma clinicamente classificada como de resistência ao tratamento com glucantime após 5 dias de tratamento. A média de tratamento foi de 12 dias, variando de 2 dias até 60 dias.

Quinze (15/18) pacientes eram procedentes do interior do estado da Bahia e, em três casos (03/18), não se obteve informação sobre a procedência.

5.2 ACHADOS LABORATORIAIS

Os resultados relativos à concentração sérica proteica total (PT), de albumina (A) e de globulinas (G), em dez (10) casos de portadores de LVH, mostraram variação, respectivamente, de 7.4 mg% [6.1-9.6]; 1.9 mg% [1.5-2.8] e 2.5 mg% [1.7-5.0], quando comparada com a do grupo de controle, respectivamente: 5.7 mg% [5.4-5.9]; 3.2 mg% [2.2-3.4] e 0,9mg% [0,7-1.2] ($p = 0,02$; $p = 0,02$ e $p = 0,01$). A relação de globulinas e albumina, no grupo de estudo, mostrou-se em níveis de 2.5 mg% [1.7-5.0] e, no grupo de controle, em níveis de 0,9 mg% [0.7-1.2] ($p < 0,01$).

As taxas de hematócrito e de hemoglobina, em 16 e 15 (dezesesseis e quinze) casos do grupo de estudo, foram, respectivamente, 18.0 % [14.2-23.0] e 6.0 g/dL [4.3-8.0]; e, no grupo de controle, 29.5 % [19.9-32.9] e 8.4 g/dL [5.4-10.6], respectivamente ($p = 0.03$ para os níveis de hematócrito). Com relação aos dados dos leucogramas, no grupo de estudo com LVH (n-11), a contagem global de leucócitos, de neutrófilos e de linfócitos no sangue periférico, comparados com a contagem do grupo de controle (n 11), mostraram, respectivamente, diferenças significantes ($p = 0,01$, $p = 0,01$ e $p = 0,03$).

Dosagem das enzimas hepáticas (AST / ALT) em oito casos (08) do grupo de estudo com LVH mostrou que a AST apresentou níveis de 82.0 U/L [27.8 – 125.8], enquanto os níveis do grupo de controle correspondiam a 136.0 [80.2 – 227.5] $p = 0,02$. Os resultados da avaliação das dosagens de AST e ALT estão apresentados na Tabela 2.

Dosagem de ureia sérica em 10 (dez) casos do grupo de com LVH e do grupo de controle foram, respectivamente, de 41.0 [33.2-79.5] e 99.0 [63.5 – 117.3] – $p = 0,08$.

5.3 ACHADOS MACROSCÓPICOS

Os achados macroscópicos, relativos ao peso mediano dos órgãos estão apresentados na Tabela 3, podendo-se observar os respectivos pesos dos rins, fígado e, principalmente, do baço: 750 [575-1.425] gramas no grupo de estudo com LVH e 190 [92-354] gramas no grupo de controle ($p = 0,01$), o que é ilustrado na Figura 1.

5.4 ACHADOS MICROSCÓPICOS

Nos achados histológicos, pôde-se fazer a semiquantificação do número e das características dos folículos da polpa branca esplênica em 11 (onze) casos dos onze (11) em que foram obtidas as amostras de baço dos pacientes com LVH. A frequência dos folículos linfóides também pôde ser avaliado em quatro (04) casos dentre os 16 (dezesesseis) dos pacientes sem LVH, nos quais se pôde ter acesso às amostras esplênicas, sendo a avaliação estatística significativa ($p=0,02$), conforme está apresentado na Tabela 4, com predominância de frequência baixa e média de folículos linfóides nos casos dos pacientes com LVH. Verificamos, ainda, a redução do tamanho desses folículos nos casos de LVH, considerados como pequenos (09/11) ou folículos linfóides médios (02/11), com acentuada redução ou desaparecimento dos centros germinais, desorganização e hialinose dos folículos linfóides em todos os casos desse grupo (11/11), conforme é ilustrado nas Figuras 2 e 3. Quanto à redução do tamanho dos folículos linfóides da polpa branca, foram considerados de tamanhos pequenos (7/16) ou médios (9/16) nos casos do grupo dos pacientes sem LVH ($p = 0,05$). Não se observaram alterações significantes em relação à plasmocitose nos baços tanto do grupo de pacientes com LVH como nos do grupo sem LVH ($p = 0,65$).

O exame histológico dos rins mostrou sete (07/18) casos de glomerulopatias representadas por formas proliferativas focais três (03) casos; membrano-proliferativa um (01) caso; e proliferativas mesangiais três (03) casos; além de seis (06/11) casos de necrose tubular aguda e cinco (05/11) casos de nefrite túbulo-intersticial, conforme é ilustrado nas Figuras 9 e 10. O estudo da medula óssea mostrou plasmocitogênese, conforme registra a literatura, em cinco (05/10) casos com LVH e, em seis (6/8) desses casos, mostrou-se também hiper celular (Figura 8); parasitismo foi observado em nove (09/18) casos nos tecidos dos casos do grupo de estudo. O fígado mostrou granulomas em dois casos (02/10) do grupo de estudo com LVH e em um caso (01/16) do grupo de controle sem LVH, mas sem evidências de agentes específicos. Leucocitose hepática sinusoidal foi observada em cinco casos do grupo de estudo (05/10) e em nove casos do grupo de controle (09/17); somente em dois (02) casos foram observados parasitos nos citoplasmas de células de Kupffer dos casos de LVH, conforme é demonstrado na Figura 6. Também foram observados casos com hepatite portal, focos de necrose hepatocelular multilobular e esteatose conforme ilustram as Figuras 4, 5 e 6. Linfócitos dos seios venosos esplênicos foram observados em todos os casos do grupo de estudo, com plasmocitose, conforme é apresentado na Tabela 4 e ilustrado na Figura 3. Outros órgãos que apresentaram parasitismo foram: o pulmão, 01 caso; linfonodos, 01 caso;

intestinos, 02 casos; estômago, 01 caso; e baço, 02 casos. Os pulmões mostraram achados de pneumonia em cinco casos do grupo de estudo com LVH (05/09), e em dez casos do grupo de controle sem LVH (10/17); vendo-se parasitismo na mucosa brônquica em um (01) caso com LVH. Hemorragias pulmonares alveolares foram observadas em seis casos do grupo de estudo com LVH (06/09), conforme é ilustrado na Figura 7, e em seis casos do grupo de controle sem LVH (06/18). Abscessos foram observados em um (01) caso do grupo de estudo com LVH (01/08) e em seis (06) casos do grupo de controle (06/18), conforme está apresentado na Tabela 4. Não foi observado parasitismo em nenhum outro órgão examinado dos casos com LVH, tendo se examinado duas ou mais, e eventualmente várias, secções histológicas desses órgãos durante a revisão das lâminas, incluindo-se a medula óssea do corpo vertebral e do externo. O estudo histológico do coração e da bexiga urinária não mostrou alterações de relevância. Outros órgãos examinados, como esôfago, estômago e intestinos delgado e grosso mostraram alterações inflamatórias inespecíficas, além de congestão vascular, focos de hemorragia recente e edema, não se observando parasitismo, exceto em um caso observado no estômago.

Tabela 1: Distribuição dos pacientes com e sem leishmaniose visceral humana (LVH), necropsiados e pareados por sexo e idade por diagnóstico e causa de óbito – Serviço de Anatomia Patológica do HUPES (UFBA), Salvador – Bahia (1975-2000).

Com leishmaniose visceral					Sem leishmaniose visceral				
Caso	Sexo	Idade	Diagnóstico LV	Causa de morte	Controle	Sexo	Idade	Doença principal	Causa de Morte
1	M	1.7	Mielograma	Sepsis	1a	F	1	Hiperplasia congênita adrenal	Distúrbio Hidroeletrolítico
					1b	M	1.2	Aspergilose cerebral	Hipertensão intracraniana
2	F	2	Mielograma	Indefinida	2a	F	2	Ascariíase com perfuração intestinal	Peritonite e sepsis
					2b	F	2	Desnutrição	Estrongiloidíase severa
3	M	2.6	Mielograma	Bronco-pneumonia	3	F	2.5	Histiocitose de células de Langerhans	Broncopneumonia
4	M	3	Mielograma	Intersticial pneumonia	4	F	3	Isquemia renal cortical	Broncopneumonia
5	F	4	Mielograma	C.I.V.D.	5	F	4	Cirrose hepática	Insuficiência hepática
6	F	5	IMFI 1/4036	Aspergillos e pulmonar invasiva	6	F	5	Estomatite gangrenosa	Sepsis
7	M	5	Mielograma	Diátese Hemorrágica	7a	M	4	Hepatite fulminante de Lábrea	Insuficiência hepática
					7b	M	5	Síndrome Budd-Chiari	Choque hipovolêmico
8	F	6	Mielograma	C. I. V. D.	8a	M	5	Meningite viral	Indefinida
					8b	F	7	Vasculite	Anemia aguda
9	M	6	Mielograma	Indefinida	9a	M	7	Anemia Fanconi	Sepsis
					9b	M	8	Cardiopatia reumática	Infarto pulmonar
10	F	10	Mielograma	Choque séptico	10a	M	8	Desnutrição	Infecção bacteriana
					10b	F	9	Neutropenia autoimune	C.I.V.D.

Continuação

11	M	10	Mielograma	Diátese hemorrágica	11	M	10	Glomerulonefrite focal segmentar	Falência renal
12	F	14	Mielograma	Anemia aguda (hemoptises)	12a	M	13	Anemia mieloide aguda	Hemorragia cerebral e peritoneal
					12b	M	13	Miocardiopatia crônica chagásica	Falência cardíaca
13	M	19	Mielograma	Sangramento gastrointestinal superior	13a	M	20	Doença de Rosai-Dorffman	Broncopneumonia /embolismo pulmonar
					13b	M	19	Estágio final de doença renal	Insuficiência renal
14	M	24	Mielograma	Broncopneumonia	14a	M	24	Esquistossomose mansônica	Cor pulmonar e esquistossomótico
					14b	F	24	Broncopneumonia	Sepsis
15	F	27	Necrópsia	Hemorragia pulmonar e Broncopneumonia	15a	F	26	Lúpus eritematoso sistêmico	Sepsis
					15b	M	26	Leucemia aguda mieloide	Cryptococcosis disseminada
16	M	30	Mielograma	Sangramento gastrointestinal	16a	F	29	Peritonite, abscesso tubo-ovariano	Sepsis
					16b	F	29	Doença de Hodgkin	Disseminação neoplásica
17	M	51	Mielograma	Falência pulmonar	17a	M	44	Carcinoide hepático primário	Choque hipovolêmico
					17b	M	44	Cardiomiopatia dilatada	Morte súbita
18	M	55	Mielograma	Broncopneumonia	18a	M	54	Miocardiopatia crônica chagásica	Broncopneumonia, Embolismo pulmonar
					18b	M	54	Câncer gástrico	Broncopneumonia

Nota: C. I. V. D. – Coagulação intravascular disseminada, IMFI – Imunofluorescência indireta.

Fonte: UFBA – HUPES – Serviço de Anatomia Patológica (1975-2000)

Tabela 2: Características gerais clínico-laboratoriais dos pacientes com leishmaniose visceral submetidos a necropsias e pareados com os controles.

Parâmetro	Com VL	%/sd/[Q]	Sem VL	%/sd/[Q]	P
N	18	(100)	31	(100)	
Gênero:					
Feminino	7	(39)	13	(42)	0,04
Masculino	11	(61)	18	(58)	
Age:					
Média ± dp	15.3 ±	16.3	16.2 ±	15.7	
Mediana; [Q ₁ , Q ₃]	8.0	[4.0-24.0]	9.0	[4.0-26.0]	
Amplitude	1.7 -	55.0	1.0 -	54.0	
Duração da doença (em mês):					
Média	10.6 ±	10.1	22.8 ±	33.6	0.30
Mediana	9.5	[2.0-14.2]	7.6	[3.8-23.2]	
Anemia	17	(89)	23	(74)	0.29
Edema	12	(67)	17	(55)	0.42
Ascitis	5	(28)	13	(42)	0.32
Hemorragia	11	(67)	14	(45)	0.15
Diarreia	11	(56)	8	(26)	0.04
Coinfecção	14	(78)	25	(81)	1.00

Dados laboratoriais

Proteínas Séricas (N=10):

Total	7.4	[6.1-9.6]	5.7	[5.4-5.9]	0.02
Albumina	1.9	[1.5-2.8]	3.2	[2.2-3.4]	0.02
Globulina	5.2	[3.5-8.0]	2.6	[2.0-3.6]	<0.01
Glob/Alb	2.5	[1.7-5.0]	0.9	[0.7-1.2]	<0.01
Hematócrito (N=16)	18.0	[14.2-23.0]	29.5	[19.9-32.9]	0.03
Hemoglobina (N=15)	6.0	[4.3-8.0]	8.4	[5.4-10.6]	0.08
Leucócitos (16):					
Contagem	2,600	[1,825-3,800]	11,175	[6,050-13,675]	<0.01
Neutrófilos (N=11)	23.0	[15.0-46.0]	60.0	[49.0-78.5]	<0.01
Linfócitos (N=11)	61.0	[33.0-74.0]	32.0	[12.5-37.0]	0.02
Monócitos (N=7)	5.0	[3.0-8.0]	2.0	[1.0-4.0]	0.38
AST (N=8)	82.0	[27.8-125.8]	136.0	[80.2-227.5]	0.02
ALT (N=8)	97.5	[45.2-229.0]	133.0	[31.5-185.0]	0.94
Ureia (N=10)	41.0	[33.2-79.5]	99.0	[63.5-117.3]	0.08

Fonte: UFBA – HUPES – Serviço de Anatomia Patológica (1975-2000)

Tabela 3: Peso mediano de órgãos dos pacientes à autopsia com e sem leishmaniose visceral humana, pareados por sexo e idade. Pacientes necropsiados no Serviço de Anatomia Patológica do HUPES (UFBA), Salvador – Bahia, (1975 – 2000)

Órgão	Leishmaniose visceral humana				<i>P</i>
	Sim	[Q ₁ - Q ₃]	Não	[Q ₁ - Q ₃]	
Cérebro (17)	1.100	[900-1.250]	1.175	[912-1.300]	0.36
Coração (18)	120	[86-255]	161	[67-299]	0.76
Rim (18)	238	[184-312]	143	[101-282]	0.02
Fígado (17)	1.300	[1.100-2.500]	1.025	[596-1.656]	0.01
Pulmão (18)	438	[241-975]	500	[338-1.363]	0.06
Pâncreas	70	[38-100]	48	[29-81]	0.04
Baço (17)	750	[575-1.425]	190	[92-354]	<0.01
Tireoide (9)	5	[1.5-10]	4	[3.5-13.2]	0.37

Fonte: UFBA – HUPES – Serviço de Anatomia Patológica (1975-2000)

Tabela 4: Alterações histológicas observadas em paciente portadores de leishmaniose visceral, pareados por idade, submetidos a necropsia – Serviço de Anatomia Patológica – HUPES (UFBA), Salvador – Bahia (1975 – 2000).

Órgão	Leishmaniose visceral humana				
	Sim	(%)	Não	(%)	P
Esôfago	7/9	77,8	3/11	27,3	0.07
Estômago	8/10	80,0	7/16	43,7	0.10
Intestino delgado	2/11	18,2	4/18	50,0	1.00
Intestino grosso	4/12	33,3	3/17	17,6	0.40
Fígado:					
Granuloma	2/10	20,0	1/16	6,2	0.54
Leucocitosis	5/10	50,0	9/17	52,9	1.00
Pulmão					
Pneumonia	5/9	55,5	10/17	58,8	
Hemorragia	6/9	66,7	6/18	33,3	
Abscesso	1/8	12,5	6/18	33,3	
Baço:					
Polpa branca %					
Folículo linfoide:					
Frequência					
Baixa	8/11	72,7	4/16	25,0	0.02
Média	3/11	27,2	10/16	62,5	
Alta	0/11	00,0	2/16	12,5	
Tamanho:					
Pequeno	9/11	81,82	7/16	43,7	
Médio	2/11	18,2	9/16	56,2	0.05
Plasmocitose	8/10	80,0	8/17	47,0	0.09
Bexiga	4/8	50,0	4/13	30,8	0.65
Coração:					
Pericardite	2/10	20,0	2/17	11,7	
Miocardite	4/10	40,0	3/17	17,6	
Endocardite	1/9	11,1	1/17	5,9	
Rim:					
Necrose tubular aguda	6/11	54,5	9/17	52,9	
Nefrite túbulo-intersticial	5/6	83,3	4/17	23,5	
Glomerulonefrite	5/11	45,4	5/17	29,4	
Medula óssea:					
Hipocelular	1/8	75,0	5/13	38,5	0.20
Hiper celular	6/8	12,5	6/13	46,1	
Plasmocitose	5/10	50,0	6/13	46,1	

Fonte: UFBA – HUPES – Serviço de Anatomia Patológica (1975-2000)

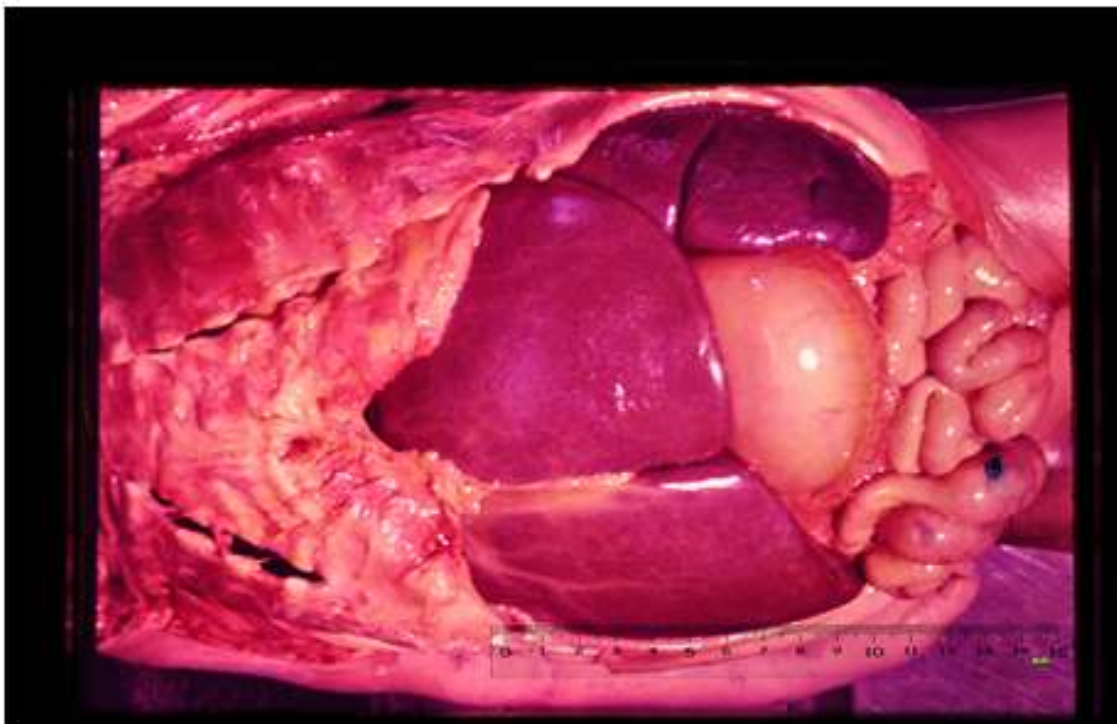


Figura 1 – LVH. Hepatoesplenomegalia

Fonte: Serviço de Anatomia Patológica, HUPES (UFBA), 1975-2000

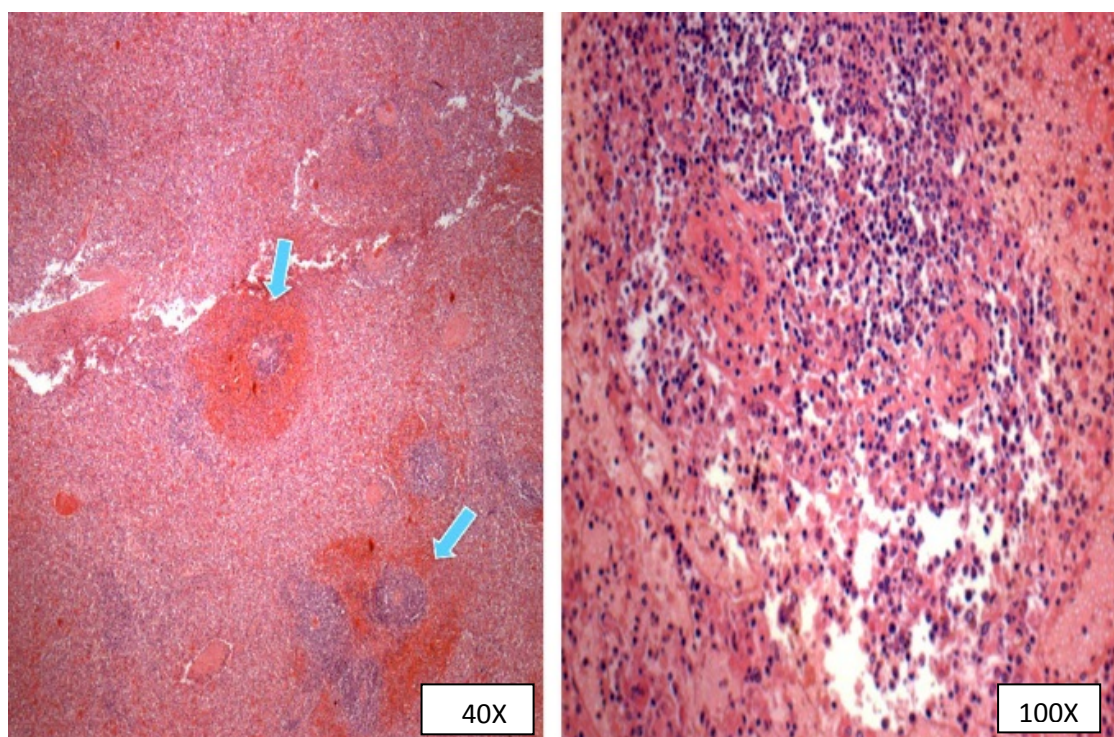


Figura 2 – LVH. Baço: Desorganização, hialinose e redução da polpa branca (setas).

Fonte: Serviço de Anatomia Patológica, HUPES (UFBA), 1975-2000

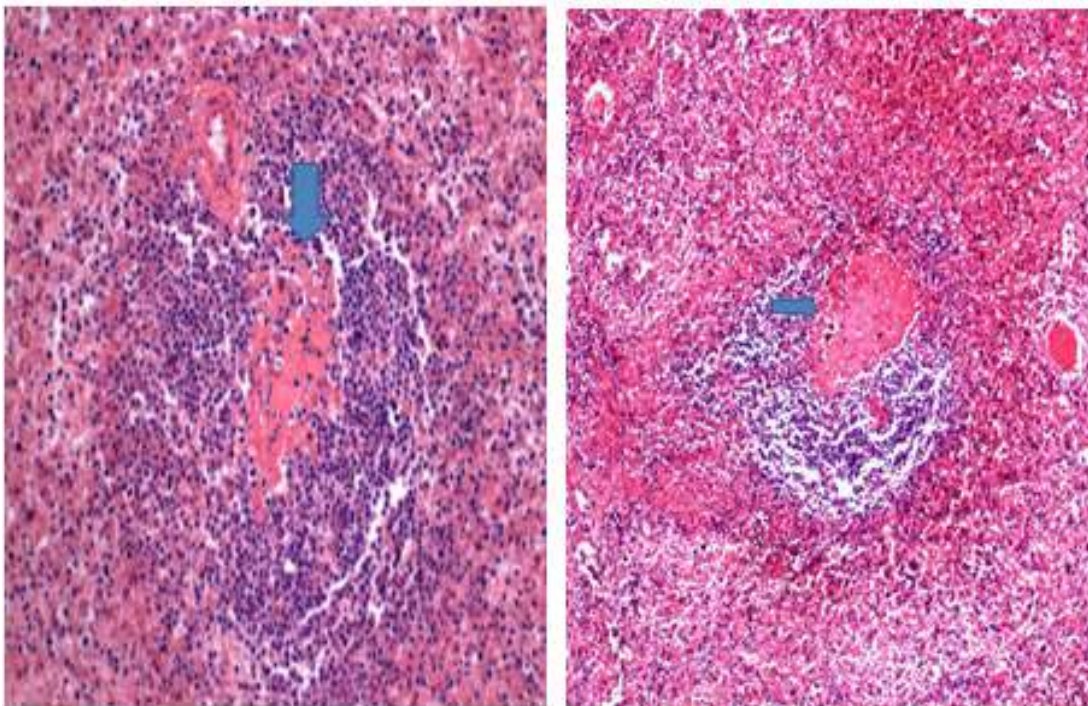


Figura 3 – LVH. Baço: atrofia folicular e hialinose (setas) – 100X

Fonte: Serviço de Anatomia Patológica, HUPES (UFBA), 1975-2000

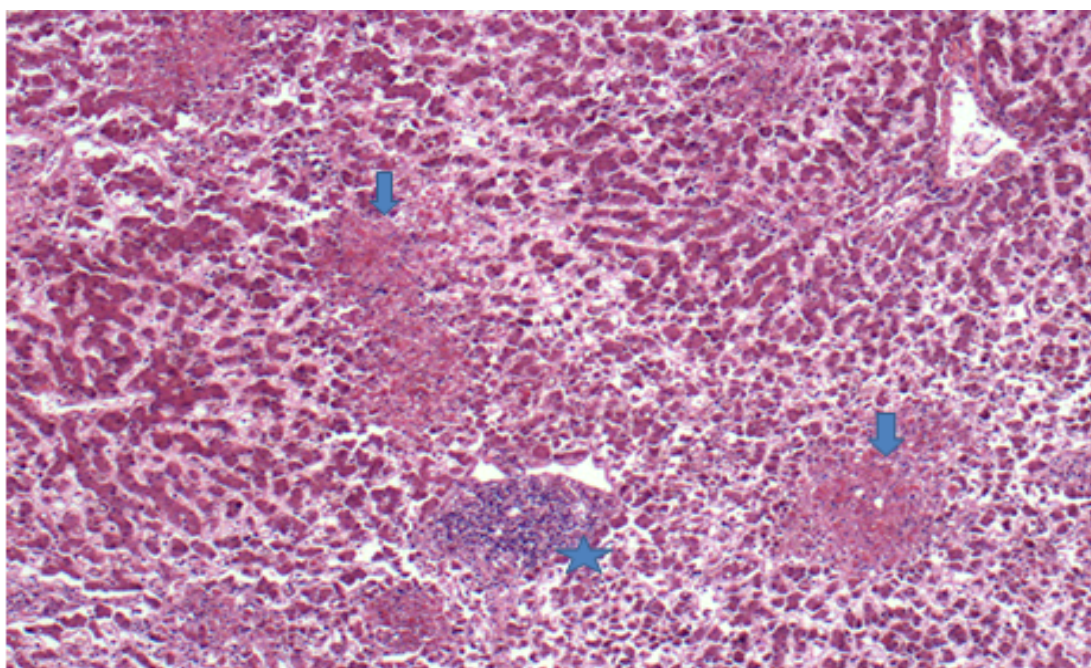


Figura 4- LVH-Fígado com Necrose Multilobular (setas) e Hepatite Portal (estrela) -100X

Fonte: Serviço de Anatomia Patológica, HUPES (UFBA), 1975-2000

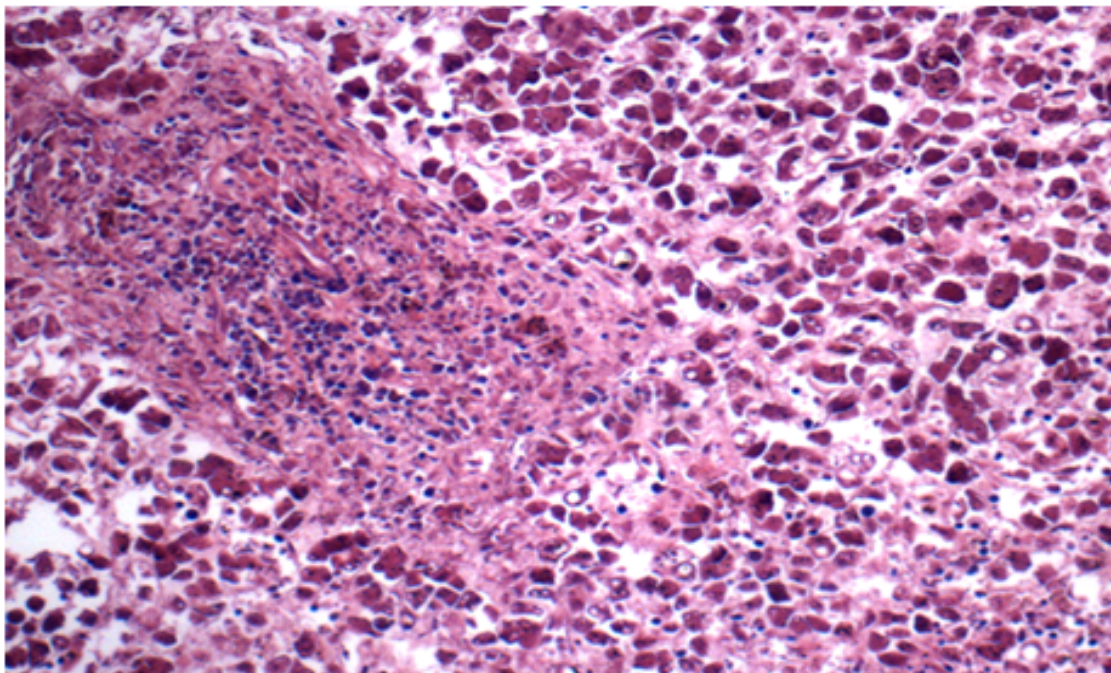


Figura 5 – LVH – Fígado com Hepatite Portal e necrose hepatocelular – **100X**

Fonte: Serviço de Anatomia Patológica, HUPES (UFBA), 1975-2000

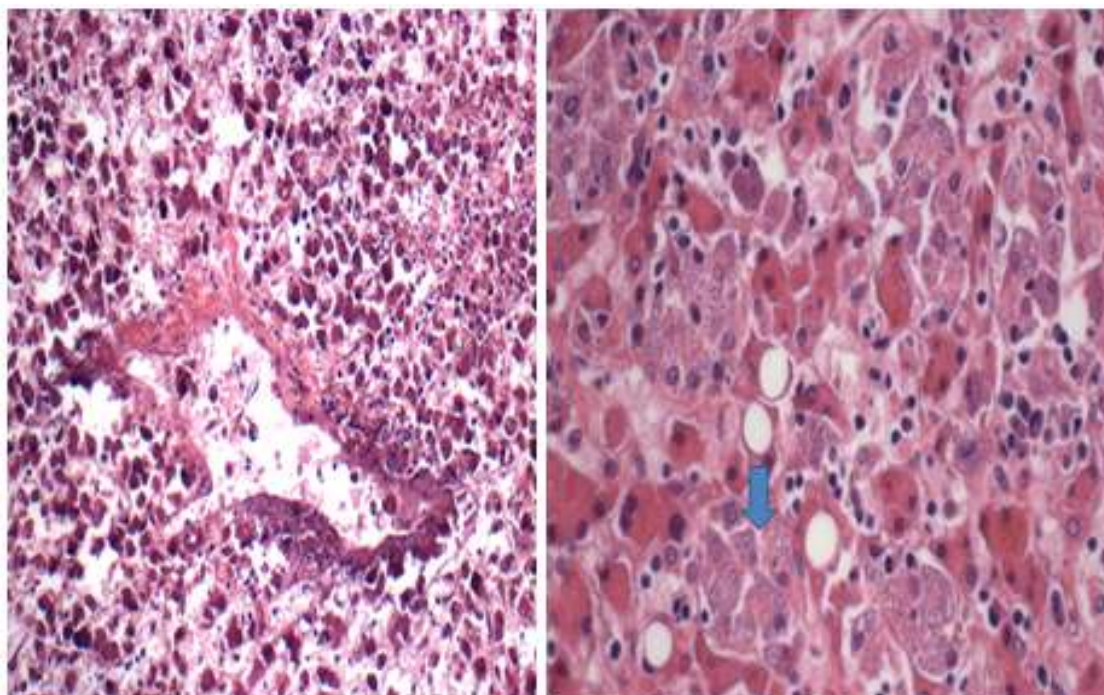


Figura 6 – LVH – Fígado com necrose hepatocelular, esteatose, infiltrado linfoplasmocitário sinusoidal e parasitismo de células de Kupffer(seta).-100X

Fonte: Serviço de Anatomia Patológica, HUPES (UFBA), 1975-2000

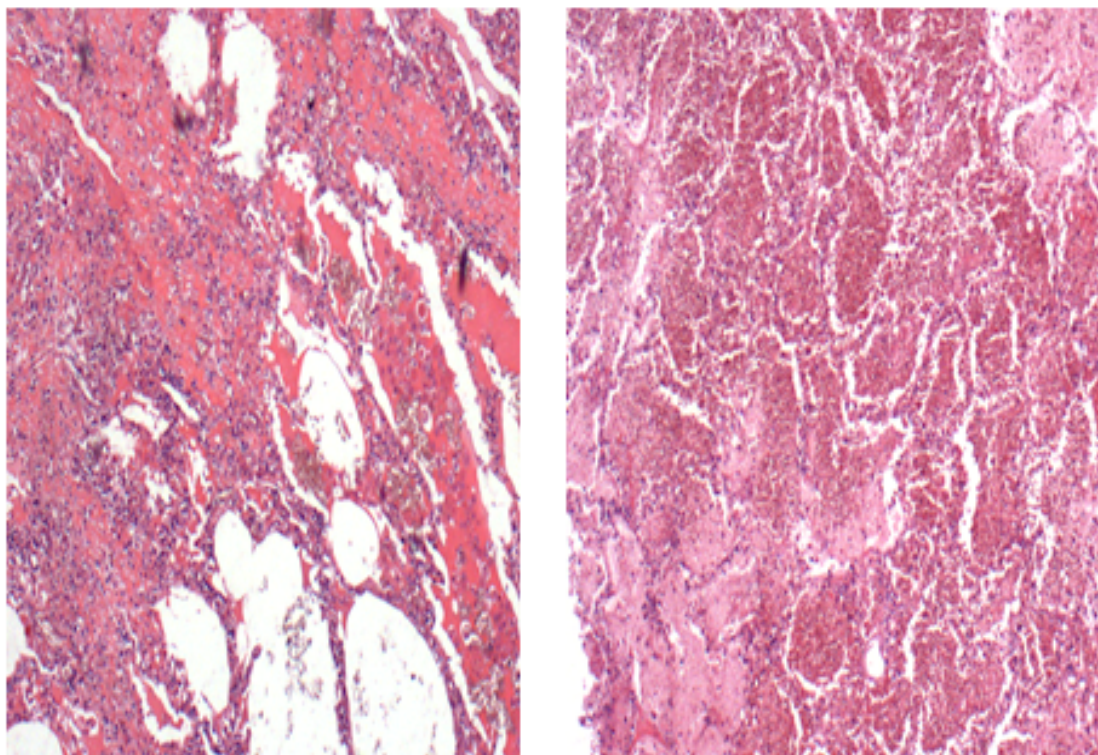


Figura 7 – LVH-Pulmão com fibrose irregular e hemorragia intra-alveolar maciça - **100X**

Fonte: Serviço de Anatomia Patológica, HUPES (UFBA), 1975-2000

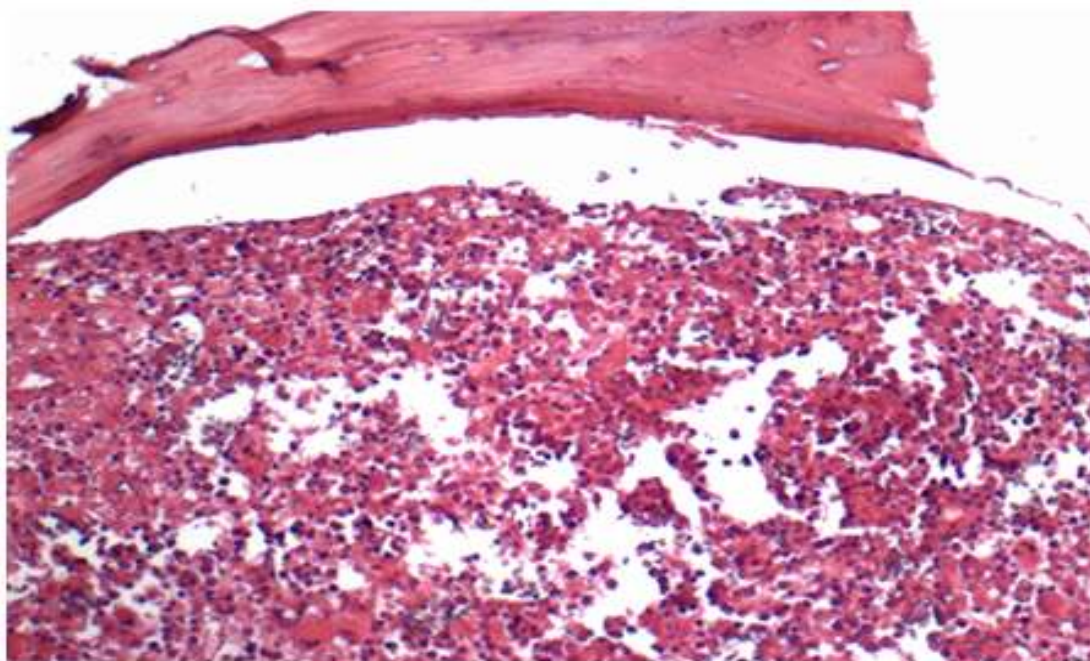


Figura 8 –LVH. Medula óssea hipercelular com plasmocitogenese – **200X**

Fonte: Serviço de Anatomia Patológica, HUPES (UFBA), 1975-2000

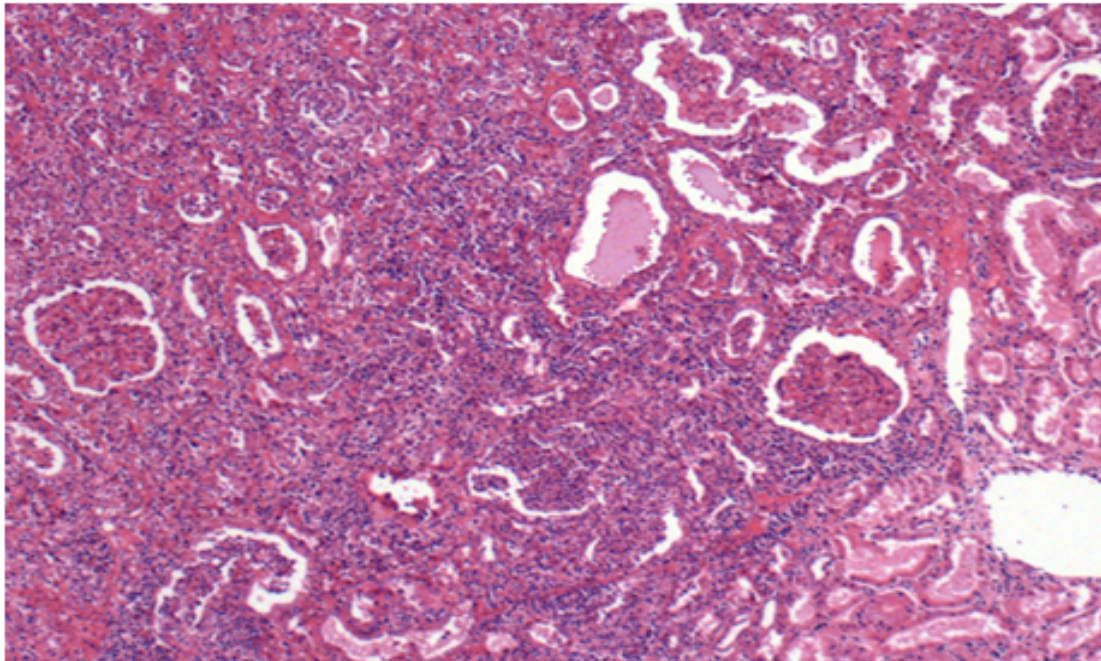


Figura 9 – LVH – Rim. Nefrite Intersticial e Glomerulopatia mesangial – 100X

Fonte: Serviço de Anatomia Patológica, HUPES (UFBA), 1975-2000

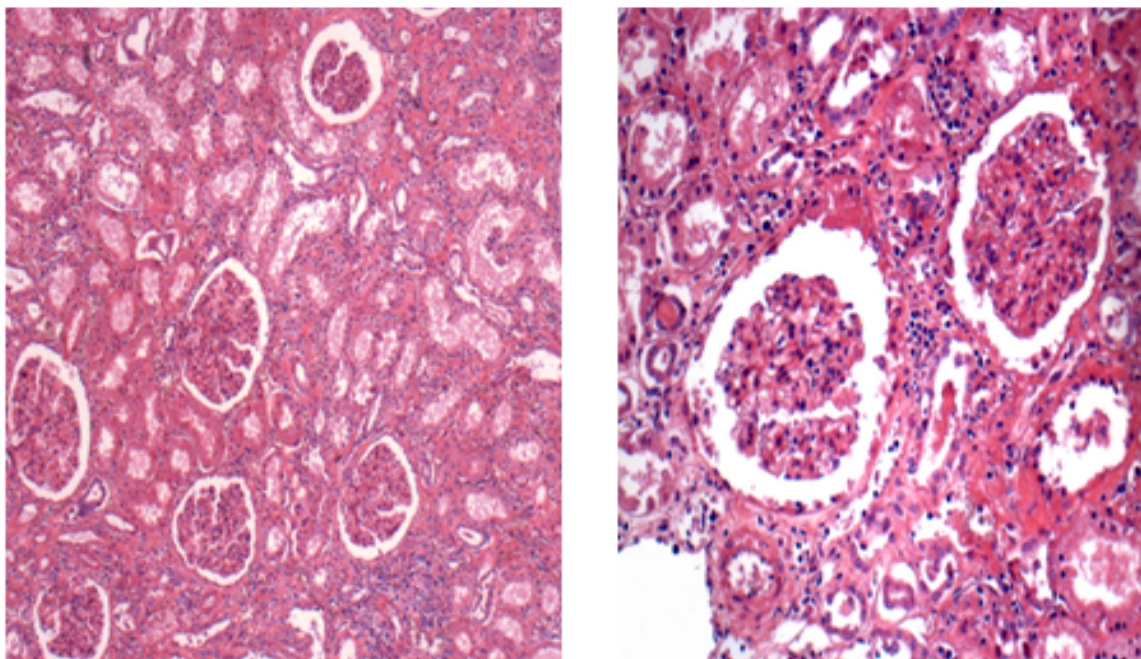


Figura 10 – LVH – Rim. Glomerulopatia mensangial. – 100X

Fonte: Serviço de Anatomia Patológica, HUPES (UFBA), 1975-2000

6. DISCUSSÃO

O presente trabalho confirma o que já está registrado na literatura a respeito dos dados epidemiológicos referentes ao fato de que a LVH tem ocorrido, na sua manifestação fatal, predominantemente em crianças e pacientes acima dos 50 anos de idade, o que corresponde, na amostra estudada, a dez casos de crianças com idade de 10 anos ou menos (10/18) e dois casos de adultos acima de 50 anos de idade (02/18). A grande maioria dos pacientes foi tratada para a infecção leishmaniótica, somente se identificando parasitos intracelulares em nove (09/18) casos. Esses achados já foram referidos anteriormente (ANDRADE, Z. A. e ANDRADE, S. G., 1966), em estudo de série de treze outros casos de necropsias na década de 60, oriundos do mesmo Hospital da presente série. Entretanto independentemente do tratamento com o antimonial, esses pacientes progrediram para óbito num período de doença que correspondeu à média de 10,6 meses e à mediana de 9,5 meses [2,0 – 14,2]. A ausência de parasitismo nos tecidos avaliados (09/18) reforça a possibilidade de uma evolução fatal causada por outros mecanismos diferentes daqueles que eventualmente poderiam estar associados à presença do agente etiológico. Em oito casos (08/18), a morte esteve relacionada com alterações hematológicas, desde hemorragias maciças parenquimatosas, associadas com diáteses hemorrágicas, até um caso de coagulação intravascular disseminada, clinicamente documentada. A segunda causa de morte mais importante observada foram as coinfeções em sete casos (07/18), incluindo um caso de aspergilose pulmonar invasiva, sepsis ou choque séptico em dois (02) casos, broncopneumonia ou pneumonia intersticial em cinco (05) casos. Em dois (02) casos, a causa de morte não foi definida, e, em um (01) caso, atribuiu-se o óbito a uma insuficiência respiratória de causa não caracterizada clinicamente e na necropsia. Considerando-se os resultados obtidos com o pareamento por sexo e idade do grupo sem LVH, verificamos que coinfeção, nos pacientes com LVH (10 casos) e nos casos do grupo sem LVH (26 casos), não mostrou significância entre os dois grupos. Entretanto, as hemorragias ou diáteses hemorrágicas observadas no grupo com LVH (8 casos) mostraram resultado estatisticamente significativo, quando comparado com o do grupo sem LVH ($p < 0.05$). Esse achado sugere que coinfeção seja, um evento terminal comum aos pacientes internados nesse tipo de nosocômio, independentemente do tipo de patologia básica apresentada por eles. Entretanto os fenômenos hemorrágicos mostraram-se como comorbidades mais relacionadas à LVH nesta série. É sabido que esses pacientes com LVH são portadores de alterações de todas as séries hematopoiéticas: mielomonocítica, linfoide, eritroide e

megacariocítica (QUEIROZ, M. *et al.*, 2004; DILBER E. *et al.*, 2002) no curso de um parasitismo maciço da medula hemoformadora, manifestando-se com pancitopenia, anemia trombocitopênica, leucopenia com neutropenia, marcada eosinopenia, associadas à relativa linfocitose e monocitose; tais situações hematológicas cursam, portanto, com hemólise, hemorragias e fibrinólise, entre outras.

Provavelmente outros mecanismos isoladamente ou concomitantes estão relacionados com a evolução letal observada nesses pacientes, estando a desestruturação da polpa branca do baço, com redução do número e do tamanho dos folículos linfoides e redução ou ausência de centros germinais, achados que mostraram diferenças estatisticamente significantes com o grupo de controle ($p = 0,02$). Tais achados correlacionam-se com a progressão da doença observada em pacientes nessa série, os quais, tratados da parasitose, progrediram para o êxito letal, num quadro de exaustão imunológica.

Trabalhos anteriores mostraram a disproteinemia como um achado laboratorial importante nos pacientes com LVH (ANDRADE, Z. A., 1959), caracterizada pelas alterações nos níveis sérico das globulinas, com inversão da relação com a albumina, e associada à deposição de material “para-proteico” no interstício de órgãos como fígado, baço e nos rins, simulando material amiloide-símile. Esse achado disproteinêmico pode estar correlacionado com achados da desorganização, alterações na diferenciação e no número dos folículos linfoides do baço, conforme já foi mencionado. Já é sabido que a hiperglobulinemia, comum nos casos de LVH, não corresponde a melhores níveis de defesa anticorpóricas, podendo ser cofator que desemboca em infecções oportunistas, nesses casos, embora não seja relacionada diretamente com o parasitismo, conforme está demonstrado no presente trabalho. Não se progrediu na avaliação da hialinose no presente trabalho. Os mecanismos eventualmente envolvidos nessas alterações sorológicas e histopatológicas, na polpa branca do baço, necessitam ser melhor elucidados, com o uso de metodologia imunológica ou imunopatológica, pois podem estar envolvidos com o curso fatal da doença, devendo-se levar em conta que, conforme a casuística mostrou, e já foi descrito na literatura, a maioria desses indivíduos era constituída de crianças, possivelmente com mecanismos de defesa ainda em formação, e idosos, com mecanismos de defesa em declínio (EWERS, I., 2008). Fatores relacionados com a imunidade celular devem ainda ser confrontados com esses achados histopatológicos. Fatores nutricionais devem também estar envolvidos nessa sequência

de casos fatais, mesmo após o tratamento específico da LVH⁴. Tais achados devem ainda ser confrontados com as condições imunológicas da maioria das populações infectadas e assintomáticas nas áreas endêmicas.

Os demais dados laboratoriais mostraram que os níveis de hematócrito e as taxas de hemoglobina dos casos do grupo com LVH foram significativamente mais baixos do que os do grupo de controle, em relação ao hematócrito ($p = 0,03$), correlacionando-se com os fenômenos hemorrágicos observados nos pacientes portadores de LVH. Tais dados também se mostraram significativamente alterados em relação ao número total de leucócitos, de neutrófilos e de linfócitos, se comparados com os dos casos de controle, provavelmente por estarem relacionados com os quadros infecciosos concomitantes no curso da LVH. Entretanto, outros mecanismos não podem ser descartados num contexto com leucopenia, neutropenia e linfocitose. As dosagens de enzimas hepáticas (AST/ALT) mostraram níveis séricos significativamente superiores aos do grupo de controle, por conta, provavelmente, do quadro inflamatório hepatocelular observado nos casos de LVH. As avaliações da função renal pela dosagem da ureia sérica não mostraram diferenças significantes entre os dois grupos estudados, mesmo com os casos de glomerulopatias descritos.

Dentre os achados macroscópicos, confirmou-se que, na LVH, a esplenomegalia dos casos é uma característica clinico-patológica importante, conforme a literatura, afastando-se clinicamente outras causas de aumento do baço, como nas doenças leucêmicas mieloides, dentre outras etiologias.

Em relação aos achados microscópicos, como já foi salientado previamente, chama a atenção a desorganização da polpa branca do baço, com redução do número e do tamanho dos folículos linfóides, desaparecimento dos centros germinais foliculares e a hialinose dos folículos. Tais achados foram significativamente relevantes em relação ao grupo de controle, sendo a hialinose ressaltada, em trabalho anterior, como um “novo elemento morfológico incorporado ao Calazar” (ANDRADE, Z. A. e ANDRADE, S. G., 1966). Os achados da polpa branca do baço, antes descritos na literatura (ANDRADE, 1966, SILVA, 1957), estão relacionados, provavelmente, com a disproteinemia e a resposta humoral e celular defeituosa, o que poderá ser considerado com um marcador de evolução fatal dos casos de LVH em crianças, como é assinalado por CARVALHO, E.M. *et al.* (1992). Consideramos que um marcador histopatológico, como se observa nos folículos linfóides do baço, possa ser preditivo do curso clínico fatal da LVH, não só, mas principalmente, em crianças. No presente estudo, não se

⁴ <https://www.msf.org.br/o-que-fazemos/atividades-medicas/leishmaniose>

observaram depósitos suspeitos de substância amiloide no baço ou em outros órgãos, e não houve diferença estatisticamente significativa na plasmocitogênese no baço entre os dois grupos estudados, diferentemente do que é registrado em trabalhos anteriores citados. Somente dois (02) casos apresentaram parasitismo de células macrofágicas dos seios venosos esplênicos.

Alterações renais observadas, como necrose tubular aguda, nefrite túbulo-intersticial e glomerulonefrites, não apresentaram estatisticamente diferenças significantes entre os casos do estudo e os do grupo de controle. A bexiga urinária também não apresentou achados significantes entre os grupos estudados.

A medula óssea mostrou-se hiper celular nos dois grupos, não se observando diferenças significantes entre ambos, bem como o achado de plasmocitogênese.

O coração apresentou casos com pericardite, miocardite e endocardite inespecíficas em ambos os grupos, sem significância.

O SNC também não mostrou alterações que pudessem ser correlacionadas com o parasitismo, sendo os achados inespecíficos em ambos os grupos de estudo.

Os órgãos do tubo digestivo, incluindo esôfago, estômago, intestino delgado e intestino grosso, não mostraram alterações significantes ou passíveis de correlação com a doença, tendo distribuição tanto nos casos de estudo como nos casos de controle; também não foram observados parasitos em número significantes ou outros achados que pudessem ser correlacionados com os quadros de diarreia descritos na LVH. Alguns casos de crianças e alguns adultos de ambos os grupos apresentavam parasitismo pelo *Ascaris Lumbricoides*.

Os pâncreas também não mostraram alterações dignas de nota, que foram representadas por achados inespecíficos, incluindo um aumento do peso em alguns casos sem especificidades, podendo estar relacionado com a terapêutica com glucantime, conforme já descrito, embora sem processos inflamatórios associados.

O fígado apresentou leucocitose sinusoidal importante, mas inespecífica, e a presença de infiltrados portais linfo-plasmocitoides de moderada intensidade sem aspectos de atividade hepatocelular. Os granulomas observados não tinham aspectos de agentes específicos. Em dois casos, observou-se parasitismo em células de Kupffer.

Os pulmões mostram processos inflamatórios e (ou) hemorrágicos relacionados com a *causa mortis* dos pacientes com LVH, observando-se parasitismo nos tecidos pulmonares em uma (01) caso. Somente em um caso se observou um quadro de pneumonite intersticial, sem identificação de agentes específicos, o que pode estar relacionado com a destruição ou com a redução da carga parasitária após tratamento.

A baixa evidência de parasitos nos casos (09/18) em estudo pode estar relacionada ao tratamento antimonial e/ou com anfotericina B, a que foram submetidos os pacientes com diagnóstico de LVH em vida e à possível e acentuada redução da carga parasitária (Melleney, H. E., 1925), modificando aspectos histopatológicos da doença.

Saliente-se o baixo parasitismo da medula óssea (02/18) no material do grupo de estudo, tendo em vista que seu exame histopatológico é um dos meios mais usados para o diagnóstico de LVH, inclusive na presente casuística, quando 16/18 casos apresentaram positividade em vida. Essa redução de parasitas na presente série deve-se provavelmente ao fato de estar relacionada ao tratamento específico instituído durante o internamento desses pacientes no hospital geral referido.

Os linfonodos de cadeias linfáticas diversas não mostraram alterações histopatológicas que pudessem ser relacionadas com o processo parasitário, verificando-se, tanto no grupo de estudo como no grupo de controle, ou seja: a falta de desorganização de folículos linfoides ganglionares, diferentemente do que se observa no baço dos pacientes com LVH, e plasmocitogênese em focos isolados. Esses dados apontam para o baço como órgão linfóide secundário central na resposta imune ao parasitismo da LVH, tendo em vista que as alterações dos folículos linfoides dos linfonodos, nos dois grupos, não foram significativamente divergentes para pudessem ser correlacionadas com as alterações descritas no baço.

Não foram observadas alterações do conjuntivo, como fibrose ou colagenização dos órgãos estudados, que pudessem ser relacionadas com infecção pelo parasito, indicando que a LVH não apresenta aspectos de regeneração ou remodelação da matriz extracelular na sua evolução etiopatogênica, conforme já é relatado na literatura (ANDRADE, Z. A.).

No presente trabalho concluímos que as alterações de desorganização da polpa branca do baço são características associadas a Leishmaniose Visceral Humana e um possível marcador histopatológico dos casos fatais, independente do tratamento específico e na ausência de parasitismo histológico. Adicionalmente os mecanismos patogénicos envolvidos nos fenômenos hemorrágicos, mais frequentes na LVH fatal, precisam ser melhor elucidados, muito além das suas repercussões hemodinâmicas e o óbito dos pacientes.

Infelizmente, dado às limitações do tamanho amostral a razão de risco dos achados clínicos e anatomopatológicos não pode ser calculado.

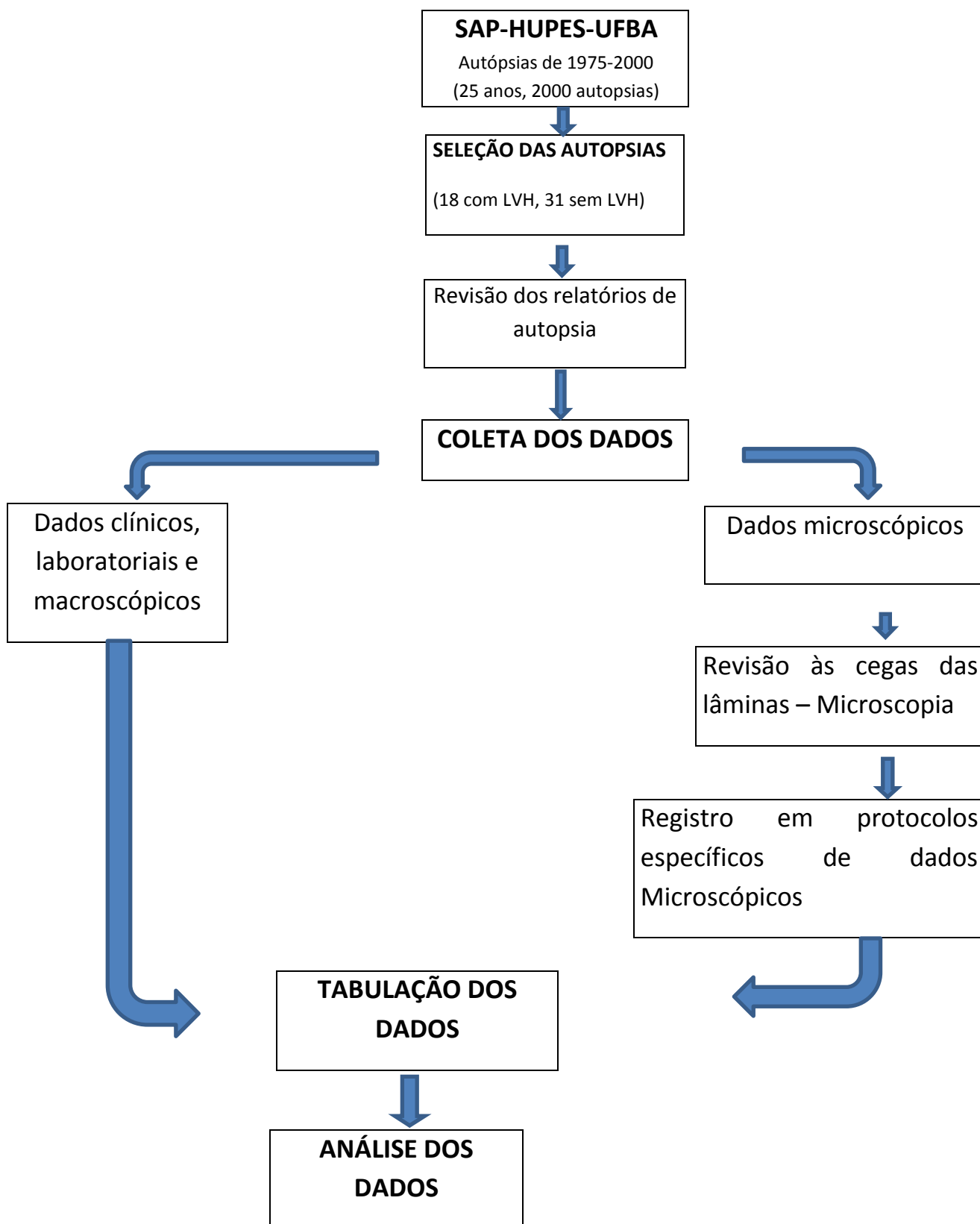
7. CONCLUSÕES

1. Infecções secundárias constituíram a principal causa de morte dos conjuntos casos e controles envolvidos neste estudo;
2. Fenômenos hemorrágicos constituíram porém uma causa de morte mais frequente em pacientes com LV que em pacientes com outras doenças crônicas;
3. A atrofia e desestruturação da polpa branca esplênica foi mais frequente nos pacientes que foram a óbito por LV que nos pacientes que foram a óbito por outras doenças crônicas. Este achado pode constituir um substrato histológico de evolução fatal de casos de LVH, principalmente em crianças e idosos, sendo também uma alteração diretamente associada a doença;
4. A ausência de parasitismo (histológico) na maior parte dos casos de LV sugerem que a infecção por *Leishmania* não está diretamente envolvida nos eventos finais que levam o paciente a morte.

8. PERSPECTIVAS

Os resultados do presente estudo estimulam a realização de pesquisas que envolvam avaliações imunológicas, imunopatológicas e outras, em trabalhos retrospectivos e também prospectivos, para que sejam elucidados os mecanismos mais detalhados em que estariam envolvidos os óbitos nesses casos fatais de LVH, mesmo após o tratamento quimioterápico específico e na ausência dos parasitos nos tecidos desses pacientes. Também se espera, tendo em vista os resultados obtidos no presente trabalho, que essas futuras pesquisas permitam conhecer alvos específicos para o tratamento medicamentoso da parasitose, com melhores perspectivas de cura e redução dos casos fatais. O reconhecimento da ação de linfócitos modulados e do papel dos macrófagos na manutenção da carga parasitária intracelular e sua redução poderá também determinar melhor curso clínico nos casos da LVH. A perspectiva de vacinas também não deverá ser negligenciada.

9. FLUXOGRAMA



REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M. A. C. *et al.* Identification of leishmanial antigen in renal tissue in human visceral leishmaniasis. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Brasil, v. 84, Supl., p. 95, 1989.
- ANDRADE, Z.A. Aspectos morfológicos da disproteinemia do calazar. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v. 5, p. 413-421, 1959.
- ANDRADE, Z.A.; ANDRADE, S.G. Alguns novos aspectos da patologia do calazar (Estudo morfológico de 13 casos necropsiados). **Rev. Inst. Med. Trop.**, São Paulo, v. 8, p. 250-266, 1966.
- ANDRADE, Z. A.; IABUKI, K. A nefropatia do Calazar. **Rev. Inst. Med. Trop.**, São Paulo, v. 14, n. 1, p. 51-54, 1972
- DUARTE, M.S.D.; BRITO, T. Relationship between Glomerular Mesangial Cell Proliferation and amyloid deposition as seen by ultrastructural and morphometric analysis in experimental Kala-Azar of the Hamster. **Am. J. Pathol.**, v. 92, p. 85-98, 1978.
- ALVAR, J. *et al.* Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. **PLoS One** 7, e35671, 2012.
- ANDRADE, T.M.; CARVALHO, E.M.; ROCHA, H. Bacterial infections in patients with visceral *leishmaniasis*. **J. Infect. Dis.**, v. 162, p. 1354-1359, 1990.
- BACELAR, O.; CARVALHO, E.M. Imunopatogênese da Leishmaniose Visceral. **Gaz. Med. Bahia**, v.75, p. 24-34, 2005.
- BENEDICT, C.A. *et al.* Specific remodeling of splenic architecture by cytomegalovirus. **PLoS Pathog.**, v. 22, e16. 2006.
- BOGLIOLO, L. Nova contribuição ao conhecimento da anatomia patológica da leishmaniose visceral. A propósito de um caso brasileiro e com especial referência a fibrose hepática leishmaniótica. **Hospital**, Rio, v. 50, p. 393-440, 1956.
- BRITO, T. *et al.* Glomerular involvement in human kala-azar. a light, immunofluorescence and electron microscopy study based in kidney biopsy. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 24, n. 1, p. 9-18, 1975.
- COSTA, C.H.N. *et al.* Is severe visceral leishmaniasis a systemic inflammatory response syndrome? A case control study. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 43, n. 4, p. 386-392, 2010.
- CABRERA, Maria Alice Airoso. **Ciclo enzoótico de transmissão da Leishmania (Leishmania) chagasi (Cunha e Chagas, 1937) no ecótopo peridoméstico em Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro-RJ: estudo de possíveis variáveis preditoras.** 1999. 84

f. Dissertação (Mestrado) - Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1999.

COSTA, F.A. *et al.* Histopathologic patterns of nephropathy in naturally acquired canine visceral leishmaniasis. **Vet. Pathol.**, v. 40, p. 677–684, 2003.

DILBER, E.; ERDURAN, E.; ISIK, Y. Visceral leishmaniasis and Coombs' positive hemolytic anemia: a rare association in an infant treated with liposomal amphotericin B. **The Turkish J. Pediat.**, v. 44, p. 354-356, 2002.

DUARTE, M.I.S. *et al.* Interstitial nephritis in human Kala-Azar. **Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 77, n. 4, p. 531-537, 1983.

DUTRA, M. *et al.* H. Renal Involvement in Visceral Leishmaniasis. **Am. J. Kidney Dis.**, v. 6, n. 1, p. 22-27, 1985.

ENGWERDA, C.R.; Kaye, P.M. Organ-specific immune responses associated with infectious disease. **Immunol. Today**, v. 21, n. 2, p. 72-77, 2000.

ENGWERDA, C.R. *et al.* A role for tumor necrosis factor-alpha in remodeling the splenic marginal zone during *Leishmania donovani* infection. **Am. J. Pathol.**, v. 161, p. 429-437, 2002.

EWERS, I.; RIZZO, L. V.; KALIL FILHO, J. Aging and immunology, **Einstein**, v. 6, supl1, S13-S20, 2008.

HERMIDA, M. d'El-Rei *et al.* Histological Disorganization of Spleen Compartments and Severe visceral Leishmaniasis. **Front. Cel. Infect.**, v. 8, p. 1-10, 2018.

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

JANOSSY, G. *et al.* An immunohistological approach to persistent lymphadenopathy and its relevance to AIDS. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 59, p. 257-266, 1985.

KAYE, P.M. *et al.* The immunopathology of experimental visceral leishmaniasis. **Immunol. Rev.**, v. 201, p. 239–253, 2004.

LIMA, I.S. *et al.* Severe clinical presentation of visceral *leishmaniasis* in naturally infected dogs with disruption of the splenic white pulp. **PLoS ONE**, v. 9, e87742, 2014.

LIMA, W.G. *et al.* Canine visceral *leishmaniasis*: a histopathological study of lymph nodes. **Acta Trop.**, v. 92, p. 43-53, 2004.

MELLENEY, H.E. The histopathology of kala-azar in the hamster, monkey, and man. **Am. J. Pathol.**, v. 1, p. 147-168, 1925.

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

BRASIL. Ministério da Saúde. **Situação epidemiológica da leishmaniose visceral, 2016**. Disponível em:
<http://portalsaude.saude.gov.br//imagens/pdf/2016/novembro/08/LV-Casos>.

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

QUINNELL, R. J.; COURTENAY, O. Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. **Parasitology**, v. 136, p. 1915-1934, 2009.

SILVA, J.R. **Leishmaniose visceral (calazar)**. 1957. 135 f. Tese (Doutorado) - Rio de Janeiro, 1957.

SARTORI, A. *et al.* Immune complex glomerulonephritis in experimental Kala-Azar. **Parasite Immunol.**, v. 9, p. 93-103, 1987.

WERNECK, G.L. *et al.* Prognostic factors for death from Visceral Leishmaniasis in Teresina, Brazil. **Infection**, v. 31, n. 3, p. 74-77, 2003.

WEISINGER, J. R. *et al.* Clinical and Histological Kidney Involvement in Human Kala-Azar. **Amer. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 27, n. 2, p. 357-359, 1978.