

PERFIL HEMATOLÓGICO DE PACIENTES COM LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA NO AMAZONAS, BRASIL

Thayanne Guerreiro Sá BEZERRA¹; Thais Tibery ESPIR²; Antonia Maria Ramos FRANCO³

¹Bolsista PAIC/FAPEAM-INPA; ²Co-Orientadora CAPES-INPA; ³Orientadora CSAS/INPA

1. Introdução

A leishmaniose Tegumentar Americana é uma doença infecto parasitária de caráter zoonótico que acomete diversas espécies de animais silvestres, domésticos e acidentalmente o homem (Gontijo e Carvalho 2003; Amim e Manisali 2000). Estes parasitas possuem ciclo de vida heteroxênico, alternando estádios de vida entre hospedeiros mamíferos e invertebrados. Durante o seu ciclo de vida, a *Leishmania* apresenta diferentes formas sendo, as promastigotas e amastigotas as principais. A forma promastigota caracteriza-se por ser flagelada, móvel e alongada, responsável pela transmissão da doença e desenvolvendo-se no tubo digestivo ou aderido ao epitélio intestinal do vetor. A forma amastigota é encontrada nas células do sistema mononuclear fagocitário (SMF) do hospedeiro vertebrado, principalmente macrófagos e neutrófilos. O parasita sobrevive e multiplica-se nestas células, que são especializadas na destruição de agente estranho. As formas clínicas da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) dependem de fatores intrínsecos ao parasito, do vetor, de suas características epidemiológicas, e principalmente da constituição genética e imunológica do hospedeiro (Neves *et al.* 2005; Reis *et al.* 2006). O diagnóstico da LTA demonstra dificuldades pelo fato de suas manifestações clínicas se assemelharem a lesões ulceradas ou não de outras doenças como a hanseníase virchowiana, paracoccidioidomicose, úlcera tropical, sífilis, tuberculose cutânea, entre outras (Gontijo e Carvalho 2003). Erros no diagnóstico podem ser reduzidos pela associação dos aspectos clínicos, epidemiológicos e testes laboratoriais. Exames hematológicos em pacientes infectados por *Leishmania* têm sido considerados de valor limitado no diagnóstico da leishmaniose por mostrar resultados inespecíficos, mas são importantes para avaliar o status clínico do indivíduo (Reis *et al.* 2006). Os achados hematológicos mais constantes em pacientes infectados são anemia normocítica, normocrômica e não regenerativa (Reis *et al.* 2006) e trombocitopenia (Ciaramella *et al.* 1997). Portanto, o intuito deste trabalho foi averiguar o perfil hematológico de pacientes infectados por diferentes espécies de *Leishmania*, causadoras da LTA, tanto antes do tratamento como pós-tratamento com antimonial pentavalente (Glucantime®). Observando-se assim os valores de hematócrito, leucócitos e plaquetas durante o processo infeccioso pela *Leishmania* através do hemograma.

2. Material e Métodos

Este estudo foi realizado no laboratório de Leishmaniose e Doença de Chagas do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) e no laboratório de Pesquisa da Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM).

Critério de inclusão/exclusão

Foram incluídos 15 pacientes que aceitaram participar da pesquisa assinando Termo de consentimento esclarecido (TCLE), residentes no município de Rio Preto da Eva, AM - Brasil, atendidos no Hospital Regional da cidade, maiores de 18 anos, de ambos os sexos, com diagnóstico clínico-parasitológico positivo para LTA, na forma cutânea e tempo de evolução da doença entre 15 e 90 dias. Os pacientes incluídos neste estudo foram notificados da importância deste projeto de pesquisa e preencherão o termo de consentimento informado, além de fornecer dados relevantes ao trabalho de pesquisa. O presente projeto foi submetido e aprovado pelo comitê de ética em Pesquisa do INPA, com protocolo número 006/2010. Os pacientes foram submetidos à punção endovenosa para a realização do hemograma através de máquina automatizada.

Caracterização Bioquímica

As cepas isoladas foram caracterizadas pela técnica de eletroforese de isoenzimas em gel de agarose, conforme protocolo descrito por Cupolillo (10), utilizando oito sistemas enzimáticos: MalatoDesidrogenase (MDH, E.C.1.1.1.37), Isocitrato Desidrogenase (IDH, E.C.1.1.1.42) com substrato NAD e NADP, Enzima Málica (ME, E.C.1.1.1.40), Glicose-6-fosfato Desidrogenase (G6PDH, E.C.1.1.1.49), 6-Fosfogluconato Desidrogenase (6PGDH, E.C.1.1.1.44), Aconitato Hidratase (ACON, E.C.4.2.1.3) e Hexoquinase (HK, E.C.2.7.1.1). A identificação das espécies foi obtida através da comparação dos perfis isoenzimáticos das amostras com cepas de *L. (V.) braziliensis* (MHOMBR/1975M2903), *L. (V.) guyanensis* (MHOMBR/1975M4147), *L. (V.) naiffi* (MDASBR/1979M5533) e *L. (L.) amazonensis* (IFLA/BR/1967/PH8).

Técnica de realização do Hemograma Automatizado

O hemograma contempla diversas provas efetuadas, com a finalidade de avaliar quantitativa e qualitativamente os componentes celulares do sangue. Os itens avaliados incluem: hemácias, hemoglobina, hematócrito, índices hematimétricos, leucócitos totais, contagem diferencial de leucócitos,

plaquetas e exame microscópico de esfregaço de sangue corado. O aparelho conta os pulsos de condutividade, causados pelos glóbulos, ao cruzarem um orifício pelo qual flui uma corrente elétrica. As células sanguíneas são más condutoras de eletricidade. Neste método, um volume constante de solução constituída de sangue e diluente passa através de um orifício, onde ocorre a passagem de corrente elétrica, provocando um aumento considerável da impedância elétrica à medida que cada célula passa pelo campo, sendo que esse aumento é proporcional ao volume celular. Assim, as células são contadas a partir dos impulsos elétricos gerados por elas (Bain 1997). Pelos mesmos métodos são contados os eritrócitos e as plaquetas, porém neste caso, além de registrar o número de células contadas, o aparelho também registra o pico correspondente aos seus tamanhos. Muitos aparelhos utilizam a metodologia da impedância elétrica para a contagem de células. Assim, pode ser realizada a contagem de eritrócitos, plaquetas e leucócitos (contagem global). O contador tem uma haste oca cujo interior comunica-se com o exterior por um orifício de pequeno diâmetro; há um eletrodo metálico interno, outro externo, uma fonte geradora de corrente contínua, uma bomba de vácuo que aspira pelo orifício a suspensão de glóbulos para dentro da haste, que fazem parar o processo após a aspiração de um volume exato do material. Mergulha-se a haste na cubeta que contém o sangue apropriadamente diluído em solução eletrolítica. Cada vez que um dos glóbulos cruzarem os orifícios, sua menor condutividade causará um pulso de amperagem, sentido pelo galvanômetro do aparelho. Os pulsos são contados, e o computador, levando em conta a diluição, o volume aspirado e a coincidência estatística da passagem ao mesmo tempo de mais de um glóbulo pelo orifício, converte o resultado em número de glóbulos por microlitros de sangue. O resultado é expresso em display digital ou por meio de impressora anexa. Para contagem de leucócitos, o diluente recebe gotas de substâncias hemolisantes que eliminam os eritrócitos. Atualmente os contadores possuem três canais de leitura onde é calculada a média de leitura. Desta maneira o resultado do hemograma sai deste aparelho automatizado com todos os resultados da contagem sanguínea dos pacientes.

3. Resultados e Discussão

Durante o período de estudo, foram atendidos 15 pacientes primoinfecção para LTA na Unidade Básica de Saúde Manoel Romão, em Rio Preto da Eva, onde 8 (60%) eram do sexo masculino e 7 (40%) do sexo feminino. Não foi encontrada diferença nos valores dos leucócitos e plaquetas antes do tratamento em indivíduos infectados por *Leishmania (Viannia) guyanensis* e *Leishmania (Viannia) naiffi*. Foi observado em um paciente do sexo masculino, com infecção causada por *L. (V.) guyanensis* valor de hematócrito abaixo da normalidade na amostra antes do tratamento. Ao avaliar a amostra do mesmo indivíduo após a cura clínica e término do tratamento o valor encontrado estava dentro da normalidade (Tab. 1).

Tabela 1- Relação do perfil hematológico de pacientes com LTA, antes do tratamento e pós-tratamento

Isolados	Idade	Sexo	Hematócrito (AT e PT)	Leucócitos (AT e PT)	Plaquetas (AT e PT)
MHOM/BR/09/5562 *	26	M	45,1/42,8%	9.600/8.900	265/279.000µL
MHOM/BR/09/5595 **	21	M	41,4/44,3%	4.640/6.150	302/348.000µL
MHOM/BR/10/5690 **	58	F	40,5/40,5%	6.420/6.420	184/184.000µL
MHOM/BR/10/5697 **	19	F	43,1/43,1%	6.170/6.170	308/308.000µL
MHOM/BR/10/5692 **	30	M	37,8°/40,2 %	6.000/5.900	394/384.000µL
MHOM/BR/11/5772 **	26	M	43,1/41,8%	7.100/6.900	264/260.000µL
MHOM/BR/10/5665 **	23	M	50,7/50,7%	7.180/7.180	196/219.000µL
MHOM/BR/11/5773 **	30	M	41,9/46,4%	6.700/8.400	174/349.000µL
MHOM/BR/11/5775 **	24	M	44,2/43,8%	6.900/6.500	233/398.000µL
MHOM/BR/10/5637 **	29	F	40/38,9%	7.550/8.900	417/132.000µL
MHOM/BR/10/5653 **	18	M	42,4/40,8%	7.490/9.800	327/260.000µL
MHOM/BR/10/IM5694 **	29	M	41,8/43,3%	7.490/10.300	190/219.000µL
MHOM/BR/11/IM5840	38	F	43/40,4%	8.800/6.200	251/219.000µL
MHOM/BR/11/ IM 5874 **	23	F	36,5/36,6%	5.600/6.500	188/185.000µL
MHOM/BR/11/ IM 5828 **	43	F	36,5/36,6%	8.300/8.600	188/185.000µL

Legenda: Espécie *L. (V.) naiffi* - (*), *L. (V.) guyanensis* - (**);

Hematócrito; ° alteração no valor do hematócrito; °° alteração no valor das plaquetas;

Valores de referência das plaquetas em adultos: 150.000-450.000µL;

Valores de referência de Leucócitos: 4000 e 11000 células por ml;

Hematócrito: Homens: 40-54%; Hematócrito Mulheres: 35-47% (Fonte: Patricia 2009).

O hemograma é uma técnica utilizada para contagem das células do sangue, que auxilia o diagnóstico e controle de diversas doenças. Durante processo infeccioso causado por diferentes microorganismos, como a LTA, é comum ter alteração no número dessas células que são cruciais para o controle e cura da doença (Patricia 2009). *Leishmania* é um protozoário altamente imunogênico. No presente estudo foi observado somente diferença no valor do hematócrito em uma única amostra antes do tratamento,

sugerindo possível processo anêmico. Dentre as diversas funções das plaquetas está a ação de estancar o sangramento e reparação dos tecidos lesados. (Pinheiro 2011; Labestests 2009) nas amostras analisadas não foi encontrado casos de trombocitopenia ou trombocitose, bem como leucopenia e leucocitose.

4. Conclusão

Os resultados deste trabalho contribuem para a compreensão do curso clínico da doença e o comportamento do sistema imunológico do hospedeiro frente à infecção. O hemograma demonstrou ser uma ferramenta importante no acompanhamento do processo infeccioso. Entretanto, a conclusão diagnóstica e da cura da LTA deve ser feita com exames parasitológicos, sorológicos e moleculares interpretados cuidadosamente.

5. Referências Bibliográficas

- Amim, M.; Manisali, M. 2000. Cutaneous leishmaniasis affecting the face: Report of a case. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 58: 1066-1069.
- Bain, B.; J. 1997. *Células sanguíneas*. 2ª edição, Artes Médicas, Porto Alegre.
- Ciaramella, P.; Oliva, G.; Luna, R.D.; Gradoni, L.; Ambrosio, R.; Cortese, L.; Scalone, A.; Persechino, A. 1997. A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *Vet Rec.*, 141(21): 539-543.
- Gontijo, B.; Carvalho, M.L.R. 2003. Leishmaniose tegumentar americana. *Revista de Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 36: 71-80.
- Labestests, Hemograma. 2013. (<http://www.labtestsonline.org.br>). Acesso: 01/02/2013.
- Neves, D.; Melo, A.; Linardi, P.; Vitor, R. 2005. *Parasitologia Humana*. Brasil, 11ª ed. 50 pp.
- Patrícia, K. 2009. Hemograma Completo Automatizado. (<http://diariodebiologia.com>). Acesso em: 20/01/2013.
- Pinheiro, P. 2009. Teste laboratorial do hemograma. (<http://www.mdsaude.com>). Acesso: 24/01/2013.
- Reis, L.; Brito, M.; Souza, M.; Pereira, V. 2006. Mecanismos Imunológicos na Resposta Celular e Humoral na Leishmaniose Tegumentar Americana. *Atualização*, 35: 103-115.
- Rodriguez, B.; Garrido, B.; Grimaldi, Jr.; Momen, H.; Cupolillio, E. 2003. Genotypically distinct *Leishmania colombiense* isolates from Venezuela cause both cutaneous and visceral leishmaniasis in humans. *Infect. Gen. Evol.*, 3: 119-124.