

## ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS CARDÍACAS NO CURSO DA LEISHMANIOSE VISCERAL HUMANA. ESTUDO BASEADO EM 16 CASOS DE NECRÓPSIA.

CARLOS FLORIANO DE MORAIS, MARIA IRMA SEIXAS DUARTE, CARLOS EDUARDO PEREIRA CORBETT, MARCIA MARTINS REIS

*Os autores descrevem os aspectos anátomo-patológicos de 16 corações obtidos de necrópsia de paciente falecidos devido à leishmaniose visceral (LV). As alterações histológicas foram mais proeminentes, porém nunca em grau intenso, no miocárdio e consistiram de edema, infiltração linfocitária, necrose focal e proliferação dos miócitos de Anitschkow. Estas alterações, quando tomadas em conjunto estabeleceram o diagnóstico de miocardite focal em somente um dos casos. Os demais exibiram alterações que parecem representar o que se pode denominar de “miocárdio reacional”. A pesquisa de Leishmania donovani tanto nas colorações de rotina quanto através de métodos de imunoperoxidase resultou negativa. Doze (75%) dos pacientes tinham broncopneumonia bacteriana (BCP) e/ou sepse associada; por isto foi questionado se o dano cardíaco foi realmente secundário a estas infecções bacterianas ou à*

*LV. Para resolver esta questão foi idealizado um grupo controle composto por pacientes que faleceram devido a doenças bacterianas agudas e sem LV. Verificou-se que elas não diferiram das alterações vistas no grupo LV. Entretanto estas mesmas alterações estiveram também presentes em quatro casos com LV que não apresentavam infecções bacterianas associadas, incluindo o caso com miocardite. Estes resultados levaram-nos a concluir que há comprometimento cardíaco no curso da LV; no entanto ele é pouco intenso e consiste no que se pode denominar “miocárdio reacional”. As infecções bacterianas associadas podem contribuir para as alterações histológicas encontradas. Quadro de miocardite foi visto apenas uma vez; no entanto tinha caráter focal e não foi encontrada Leishmania.*

Arq. Bras. Cardiol. 51/6: 441-445 — Dezembro 1988

O comprometimento cardíaco na leishmaniose visceral (LV) é controverso; Andrade<sup>1</sup> não o observou ao passo que Alencar e Aragão<sup>2</sup>, Brahmacari<sup>3</sup>, Marzochi e col<sup>4</sup>, Neves<sup>5</sup>, Prata<sup>6</sup>, e Rodrigues da Silva<sup>7</sup> descreveram alterações clínicas sugestivas de miocardite, sopros cardíacos e alterações eletrocardiográficas, tais como distúrbios de ritmo.

Os estudos anátomo-patológicos do coração em casos de LV são escassos. Assim, De MN<sup>8</sup> e Meloney<sup>9</sup> descreveram fragmentação de fibras cardíacas, infiltração focal de células inflamatórias, que segundo Bogliolo<sup>10</sup>, algumas vezes se acentuava em torno de vasos e em associação à “miocardose”; Brahmacari<sup>3</sup> relatou esteatose do endotélio de vasos de pequeno e médio calibre; Bogliolo<sup>11</sup> descreveu degeneração albuminóide, esteatose de fibras miocárdicas, dando às estruturas transversas da miofibra, vacuolização e hipertrofia de células miocárdicas e hemorragias, puntiformes; Raso e Siqueira<sup>12</sup>

e Veress e col<sup>13</sup>, descreveram edema e espessamento subendocárdico. Meloney<sup>9</sup> encontrou parasitas dentro de histiócitos, ao passo que Brahmacari<sup>3</sup> os encontrou no interior de células endoteliais e de leucócitos.

No presente estudo, são descritos os resultados da análise histopatológica detalhada, incluindo pesquisa através da técnica da imunoperoxidase (IPX) de antígenos da LV em tecido incluí em parafina. No total foram estudados 16 casos de necrópsia de LV, sendo que os objetivos básicos consistiram em: a) verificar se ocorre ou não dano cardíaco no curso da LV e b) ocorrendo lesão cardíaca, determinar a especificidade das lesões. Como em muitos casos com LV existiam infecções bacterianas agudas associadas, os resultados do grupo LV foram comparados com os achados histopatológicos de corações de necrópsia de pacientes sem LV e que faleceram em consequência de doenças bacterianas agudas.

Trabalho realizado no Serviço de Anatomia Patológica do Instituto do Coração e no Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina, Hospital das Clínicas, Universidade de São Paulo. Trabalho realizado com apoio Finep 43/83/0006/00 e 43/86/0361/00

## CASUÍSTICA E MÉTODOS

Foram constituídos dois grupos: grupo leishmaniose visceral e grupo controle.

O grupo leishmaniose visceral consistiu de 16 corações de portadores de LV submetidos à necropsia no período de 1954 a 1981. Todos os pacientes eram provenientes de áreas endêmicas de LV no Brasil; os diagnósticos clínicos foram confirmados através da identificação de *Leishmania* na medula óssea ou em tecidos do fígado ou baço. Nenhum deles era portador de doença reumática ou de doença de Chagas.

Os corações, após a inspeção macroscópica, foram fixados em formalina a 10% durante pelo menos 24 horas, sendo então seccionados e processados rotineiramente para a inclusão em parafina e coloração com hematoxilina e eosina, bem como com os métodos de Gallego e Giemsa. A variante peroxidase-anti-peroxidase (PAP) da técnica da IPX foi empregada em secções histológicas que continham epicárdio, miocárdio e endocárdio. O anticorpo primário contra *Leishmania donovani* foi obtido a partir da inoculação dos referidos parasitas (cepa 46 MHOM/BR/00) em coelhos.

As alterações histopatológicas foram estudadas em detalhes e graduadas semi-quantitativamente de acordo com graus de intensidade crescente de + a ++++.

O grupo controle consistiu de corações de pacientes sem LV que faleceram em decorrência de quadros bacterianos agudos: 33 tinham broncopneumonia e 19 sepse. Casos que apresentassem doença reumática e doença de Chagas foram excluídos. O mesmo procedimento utilizado no grupo LV para se estudar macro e microscopicamente os corações foi utilizado neste grupo.

## RESULTADOS

Grupo leishmaniose visceral: a média de idades foi de 14,3 anos (mediana 11): doze eram do sexo masculino e 4 do sexo feminino. Somente três enfermos não tinham sido tratados com antimoniais. Em todos foi observada desnutrição em grau variável.

As alterações típicas da LV incluindo parasitismo de células do sistema monocítico-fagocitário por grande quantidade de *Leishmania* foram encontradas à autópsia no fígado, baço e medula óssea. Os pesos dos corações variaram de 53 a 520 g (média de 174,50; mediana de 158). Macroscopicamente as alterações cardíacas não foram marcantes. Quatro casos (números 1; 2; 8 e 13) não apresentaram infecções bacterianas associadas. Os demais apresentaram doenças bacterianas agudas associadas, tais como broncopneumonia, pneumonia lobar e sepse.

TABELA I—Aehados histológicos em eorasão de pacientes com leishmaniose visceral.

Casos	Endocárdio		Miocárdio				Epicárdio		I.P.
	Edema	Linfomon	Edema	Linfomon	Necróse	Prolif Cel	Edema	Linfomon	
01	0	0	0	0	0	+	+	+	-
02	+	0	0	+	0	+	+	+	-
03*	0	0	+	+	0	0	+	+	-
04*	0	0	+	0	0	+	+	+	-
05*	+	0	+	+	0	+	+	+	-
06*	0	0	0	0	0	+	0	+	-
07*	0	0	+++	+	+	+	+	+	-
08*	0	0	+	++	0	+	+	+	-
09*	+	0	+++	+	0	+	+	0	-
10*	+	+	+	+	0	+++	+	+	-
11*	+	0	++	0	0	+	+	+	-
12*	+	0	+	+	0	++	++	++	-
13*	+	+	+	+	0	+	+	++	-
14*	+	0	++	+	0	+	++	++	-
15*	+	0	+	0	0	+	+	0	-
16*	++	0	++	+	0	0	++	+++	-
Total	10	3	13	11	1	14	15	1	-
%	62,5	18,7	81,2	68,7	6,2	87,5	93,7	87,5	-

(\*) Infecção bacteriana associada. (IP) Imuneroxidase. Linfomon = Linfomonócitos. Proliferal = proliferação celular

Os dados histológicos são apresentados na tabela I. As alterações endocárdicas consistiram em discreto edema na maioria dos casos (62,5%). Em três deles foi encontrado infiltrado inflamatório discreto, associado a fibrose discreta em um (caso 14). As alterações miocárdicas compreenderam edema intersticial (fig. 1) geralmente associado a discreto infiltrado inflamatório

intersticial a mononucleares, em sua maioria constituído por linfócitos; o grau de acometimento variou, porém nunca foi intenso. No caso 8 a resposta inflamatória linfocitária foi mais intensa, apesar de não ser difusa, com agressão discreta dos cardiócitos (fig. 2). Em todos os casos foram vistos poucos plasmócitos. Em um (caso 7) foi encontrada necrose focal de fibras

cardíacas além de esparsos linfócitos (fig. 1). Em outro (caso 14) verificou-se discreta fibrose miocárdica. O sistema monocítico-fagocitário no coração (miócitos de Anitschkow) geralmente encontrava-se proliferado (87,5%) (fig. 1), mesmo quando outros elementos da resposta inflamatória não se achavam presentes; a intensidade variou de leve (+) a moderada (+ +).

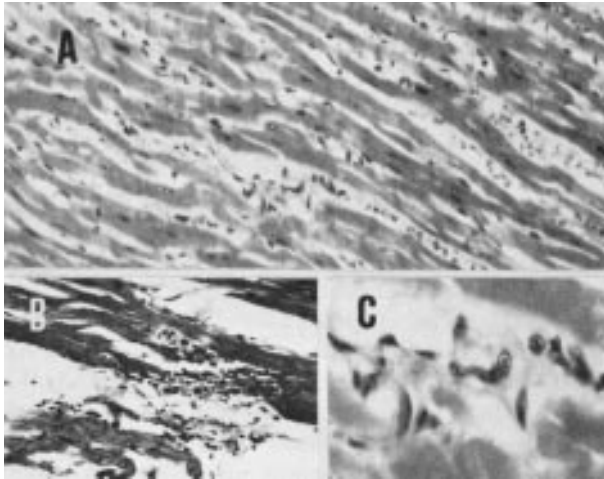


Fig. 1 — Células miocárdicas de caso com leishmaniose visceral. Nota-se edema (A); na maioria dos casos foi verificada proliferação de miócitos de Anitschkow (A e C). Raramente foram encontrados focos necróticos (B), sem infiltração linfocitária de outras regiões miocárdicas. Hematoxilina e eosina A 160x, B 400X; C 259 x.

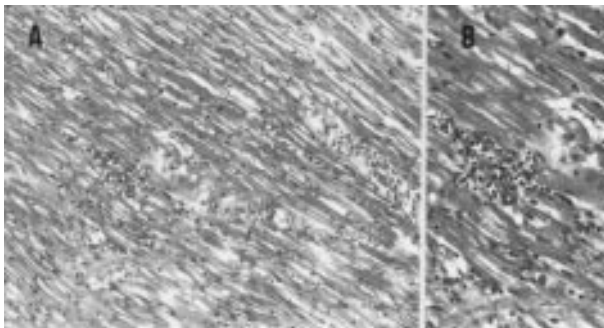


Fig. 2 — Miocardite focal (A) vista num dos caves (nº 8) do grupo leishmaniose visceral. Notam-se linfócitos no interstício miocárdico e em células miocárdicas agredidas em alguns campos microscópicos (B). Hematoxilina e eosina (A) 160 x. (B) 250 x.

As alterações epicárdicas consistiram de edema e infiltrado inflamatório mononuclear, na maioria das vezes associada a congestão e com tendência a se concentrar em torno de vasos. Apenas uma vez (caso 14) foram vistos neutrófilos, tinha caráter focal. Nos dois casos nos quais não foram encontradas células inflamatórias, foi verificado edema. Plasmócitos, em especial não se mostraram proeminentes, sendo encontrados em somente dois casos (14 e 16). Dois casos mostraram hemorragias focais.

Não foram encontradas Leishmanias ou seus antígenos no coração mesmo após o estudo com IPX. Em realidade, o parasito foi visto somente num caso; encontrava-se no entanto dentro de um leucócito circulante por sua vez dentro de um vaso. Também não foram encontradas vasculite ou outros agentes infecciosos no coração.

No subgrupo sepse do grupo controle a idade variou de um mês a 55 anos (média 21,8 anos, mediana de 19 anos): oito eram do sexo feminino e 11 do sexo masculino. No subgrupo com broncopneumonia a média de idade foi 28,1 anos (mediana 42 anos); vinte e um pertenciam ao sexo masculino e doze ao sexo feminino.

Os achados histopatológicos de ambos os grupos são apresentados na tabela II. As alterações agudas em ambos os grupos consistiram de edema e leve infiltrado linfocitário, distribuído ao longo do endocárdio. As alterações agudas miocárdicas em ambos os grupos consistiram em resposta inflamatória leve a moderada na qual predominaram o edema e a hiperplasia de células de Anitschkow (fig. 3). As células inflamatórias geralmente consistiram em linfócitos e neutrófilos esparsamente distribuídos (fig. 3) com predominância dos últimos no grupo broncopneumonia; a intensidade variou de leve a moderada. Dentre os casos nos quais os neutrófilos mostraram-se mais evidentes (grupo sepse), muitos micro abscessos puderam ser encontrados, geralmente em associação com colônias bacterianas (fig. 3). Às alterações epicárdicas em ambos os grupos foram geralmente leves e consistiram de infiltração linfocitária do tecido adiposo, com al-

**TABELA II - Achados histopatológicos nos corações de pacientes com infecções bacterianas agudas (broncopneumonia e septicemia)**

		Grupo Septicemia (19 casos)		Grupo Broncop. (33 casos)	
		N. de casos/intensidade	Total %	N. de casos/intensidade	Total %
Endoc	Edema	2/+	2 (10,5)	5/+	5 (15,1)
	Linfo-monócitos	6/+	6 (31,5)	1/+ 2/++	7 (21,2)
	Neutrófilos	2/+	2 (10,5)		
Mioc.	Edema	8/+ 6/++	14 (73,6)	13/+ 5/++	18 (54,5)
	Necrose*	1/+ 1/++ 2/+++	4 (21,0)	1/++	1 (3,0)
	Linfo-monócitos	5/+ 1/++	6 (31,5)	7/+ 1/++ 1/+++	9 (27,2)
	Neutrófilos	1/+ 3/++ 1/+++ 1/++++	6 (31,5)	2/+ 1/+++	3 (9,0)
	Proliferação de células de Anitschkow	6/+ 7/++	13 (68,4)	10/+ 4/++ 1/+++	15 (45,4)
Epic.	Edema	1/+	1 (5,2)	1/+	1 (3,0)
	Linfo-monócitos	9/+	9 (47,3)	20/+ 3/++	23 (69,6)
	Neutrófilos	1/+ 1/+++	2(10,5)	1/+	1 (3,0)

Os graus de intensidade variam de + a + + + +. Abscessos (as cruces nestes casos referem-se a focos de necrose).

guns poucos casos mostrando edema e/ou exsudação neutrofílica.

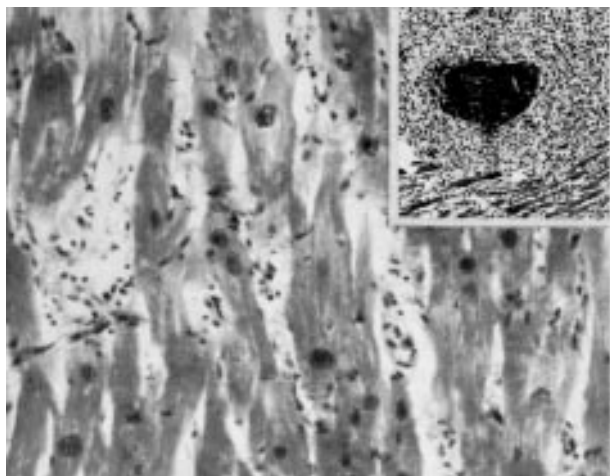


Fig. 3 — Aspectos histopatológicos de coração de pacientes falecidos por broncopneumonia e sepse. Nota-se proliferação de miócitos de Anitschkow em grau intenso; algumas vezes neutrófilos e linfócitos são encontrados entre as células miocárdicas, focalmente com microabscessos e colônias bacterianas (destaque). Hematoxilina e eosina (A) 250x; detalhe 160x.

### COMENTÁRIOS

A análise histopatológica do coração no grupo LV evidenciou lesões que de acordo com os critérios de Edwards e col<sup>14</sup> e de Fenoglio e col<sup>15</sup>, não permitem o diagnóstico de miocardite. Nós acreditamos que o edema, as células inflamatórias mononucleares e a proliferação do sistema monocítico-fagocitário, representam uma resposta miocárdica global à injúria e devem ser enquadrados sob a denominação de “miocárdio reacional”. Somente um caso (nº 8; 6,2%) apresentou alterações cardíacas suficientes para garantir o uso do termo “miocardite”, no entanto era focal. O foco necrótico visto no caso 7 era representado por área minúscula e isolada, talvez decorrente da ação de catecolaminas; o quadro miocárdico geral deste caso não é representativo de miocardite.

As lesões cardíacas apesar de presentes foram de caráter não específico, visto que não foram encontradas *Leishmanias* e nem seus antígenos. Como foram diagnosticados processos infecciosos extracardíacos tais como sepse e pneumonia na maioria dos casos de LV, considerou-se que os achados representassem simplesmente reatividade inespecífica devido a estas doenças infecciosas secundárias e não alterações próprias da LV. Tal interpretação encontrou também apoio no relato de Saphir e Amromin<sup>16</sup> que encontraram alterações cardíacas no curso de pneumonia bacteriana incluindo miocardite. Além do mais, o padrão de comprometimento cardíaco no grupo controle é muito semelhante ao do grupo LV. Somente alguns poucos pontos discriminatórios aparentemente tornaram-se evidentes; entretanto, na prática eles não ajudaram na discriminação dos grupos. Consistiram de: a)

intensidade, com os casos LV mostrando alterações mais intensas, b) presença de neutrófilos que praticamente não foram encontrados nos casos LV e c) necrose que foi vista somente em um caso de LV (6,2%), sob a forma de minúsculo foco, ao passo que 21,1 % dos casos do grupo sepse achavam-se afetados por vários focos.

Os corações dos 4 casos de LV nos quais não havia infecção bacteriana associada mostraram padrão de reatividade miocárdica semelhante ao anteriormente descrito inclusive o caso que apresentava miocardite. Conclui-se que a LV causa tão somente um “estado reacional” no miocárdio. As implicações clínicas decorrentes deste comprometimento podem não ser significativas, no entanto isto não pode ser verificado devido ao curto período de tempo entre a admissão hospitalar e o óbito, bem como pelo fato da doença já estar em estágio muito avançado. A possibilidade da toxicidade pelo antimônio utilizado no tratamento da maioria dos pacientes foi também levada em consideração, mas as alterações cardíacas descritas por Aswaad e col<sup>17</sup>, Davis<sup>18</sup>, Dempsey<sup>19</sup> e por Germiniani e col<sup>20</sup>, na vigência do tratamento com tais drogas, correspondem a anormalidades do eletrocardiograma que dependem de mecanismos outros que não resposta inflamatória.

Em conclusão, os dados obtidos mostraram que ocorrem alterações histopatológicas cardíacas no curso da LV, porém elas provavelmente representam uma “reatividade inespecífica do miocárdio”. A miocardite foi um achado incomum e muito focal, por isto não deve ser considerada importante. Além do mais como não foram encontrados parasitos e nem seus antígenos nos cortes histológicos do coração, aparentemente o quadro miocárdico não é específico da LV. Talvez fosse decorrente de infecções viróticas associadas.

### SUMMARY

*The pathologic features of 16 hearts from patients who died due to visceral leishmaniasis (VL) are described. Microscopic findings were more prominent, but not intense, in the myocardium and consisted of edema, lymphocytic infiltration, focal necrosis and Anitschkow myocyte proliferation which jointly could establish a diagnosis of focal myocarditis. However, these were present only in one case. The other cases showed changes which seem to represent “reactive myocarditis”. Search for *Leishmania donovani* with the usual histologic stains and for its antigens by immunoperoxidase method were negative. Twelve (75%) of the patients had bacterial bronchopneumonia (BCP) and/or associated sepsis which could suggest that cardiac damage was secondary to the bacterial infections or to VL. A control group was established with patients who died from acute bacterial diseases. The changes in the latter did not differ from VL group. Nevertheless, these alterations were also present in four VL cases who did not present associated infections, including the one with myocarditis. The results led us to conclude that cardiac involvement in VL*

*is not intense and consists of "reactive myocarditis". The associated bacterial infections could contribute to the histologic findings. Focal myocarditis without Leishmania was observed only once.*

#### AGRADECIMENTOS

A Gilma Ferreira de Oliveira pelas secções histológicas realizadas; Heber Luiz Bezerra Chaves pelo fotográfico e a Coordenação de Informática — INCOR — pelas facilidades no uso de microcomputadores e impressoras.

#### REFERÊNCIAS

1. Andrade ZA—Alguns novos aspectos da patologia do calazar (estudo morfológico de 13 casos necropsiados). Rev Inst Med Trop, São Paulo, 8: 259, 1966.
2. Alencar JE, Aragão T—Leishmaniose visceral no Ceará. Sintomas observados em 174 casos. Publicações Médicas, 26: 193,1955.
3. Brahmacarí UN—A Treatise on Kala-azar. London, John Bale, Sons and Danielsson, 1928. p. 252.
4. Marzochi MCA, Coutinho SG, Souza WJS, Amendoeira MRR — Leishmaniose visceral (calazar). J Bras Med, 41: 69,1981.
5. Neves J — Formas clinical do calazar. Hospital (Rio de Janeiro), 61: 191, 1962.
6. Prata A — Estudo clínico e laboratorial do calazar. Arq Bras Med Naval, 65: 5773,1957.
7. Rodrigues da Silva J — Leishmaniose visceral (calazar). Rio de Janeiro, 1957. (Tese professor catedrático, Faculdade de Medicina da Universidade do Brasil)
8. De MN—A study on the parasites of K ala-azar and their distribution in the body. Indian J Med Res, 21: 627,1934
9. Meleney HE—Kala-azar in China with special reference to its histopathology in experimentally infected hamsters. Proc R Soc Med, 1: 33,1925.
10. 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 de Janeiro), 50: 101,1956.
11. Bogliolo L— Sobre a anatomia patológica da Leishmaniose visceral (Leishmania donovani). Hospital (Rio de Janeiro), 20: 117, 1941.
12. Raso P, Siqueira JT—Subsídio ao conhecimento da anatomia patológica da leishmaniose visceral. com especial referência às lesões pulmonares e cardíacas. Hospital (Rio de Janeiro), 65: 1921, 1964.
13. Veress B, Malik MOA, Satir AA, El Hassan, AM—Morphological observations on visceral leishmaniosis in the Sudan. Trop. Geogr Med, 26:198, 1974.
14. Edwards WD, Homes Jr DR, Reeder GS—Diagnosis of active lymphocytic myocarditis by endomyocardial biopsy. Quantitative criteria of light microscopy. Mayo Clin Proc, 57: 419, 1982.
15. Fenoglio Jr JJ, Ursell PC, Kellog CG et al— Diagnosis and classification of myocarditis by endomyocardial biopsy. N Engl J Med, 308: 12, 1983.
16. Saphir O, Amromin GD— Myocarditis in instances of pneumonia. Ann Intern Med, 28: 963, 1948.
17. Aswaad S, Attia M, Reda M—The effect of Twsb on the electrocardiogram of children suffering from urinary bilharziosis. Am J Trop Med Hyg, 10: 365, 1961.
18. Davis A—The effect on antimony dimercato succinate on the ECG. Br Heart J, 23: 291, 1961.
19. Dempsey JJ — Leishmaniasis in the Sudan Republic. Electrocardiographic findings in sudanese kala-azar. East Afr Med J, 42: 131, 1964.
20. Germiniani H, Silveira da Mota CC, Lacerda FS, Baransky MC — Alterações eletrocardiográficas em pacientes submetidos a tratamento antimonial. Arq Bras Cardiol., 15: 58,1962.