



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**ESTUDO DAS ALTERAÇÕES CLÍNICO-
LABORATORIAIS E HISTOPATOLÓGICAS RENAIIS
EM CÃES COM LEISHMANIOSE VISCERAL
NATURALMENTE INFECTADOS NO DISTRITO
FEDERAL**

CECÍLIA AZEVEDO DIAS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

**BRASÍLIA-DF
DEZEMBRO/ 2008**



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**ESTUDO DAS ALTERAÇÕES CLÍNICO-
LABORATORIAIS E HISTOPATOLÓGICAS RENAIIS
EM CÃES COM LEISHMANIOSE VISCERAL
NATURALMENTE INFECTADOS NO DISTRITO
FEDERAL**

CECÍLIA AZEVEDO DIAS

ORIENTADOR: PROF. DR. MÁRCIO BOTELHO DE CASTRO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

PUBLICAÇÃO: 004/08

**BRASÍLIA-DF
DEZEMBRO/ 2008**

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

DIAS, C. A. **Estudo das alterações clínico-laboratoriais e histopatológicas renais em cães com leishmaniose visceral naturalmente infectados no Distrito Federal**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2008, 82 p. Dissertação de Mestrado.

Documento formal, autorizando reprodução desta dissertação de mestrado empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo autor a Universidade de Brasília e acha-se arquivado na secretaria do programa. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Dias, Cecília Azevedo

Estudo das alterações clínico-laboratoriais e histopatológicas renais em cães com Leishmaniose Visceral naturalmente infectados no Distrito Federal. / Cecília Azevedo Dias orientação de Márcio Botelho de Castro – Brasília, 2008. 82p.: il. Dissertação de Mestrado (M) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2008.

1. Alterações Laboratoriais. 2. Cães. 3. Histopatologia Renal. 4. Leishmaniose Visceral. I. DIAS, C. A. II. Título.

CDU 591.2: 616.61



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

ALTERAÇÕES CLÍNICO-LABORATORIAIS E HISTOPATOLÓGICAS RENAIS EM
CÃES COM LEISHMANIOSE VISCERAL NATURALMENTE INFECTADOS NO
DISTRITO FEDERAL

CECÍLIA AZEVEDO DIAS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE
ANIMAL, COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE
MESTRE EM SAÚDE ANIMAL.

APROVADO POR:

Prof. Dr. Márcio Botelho de Castro (Universidade de Brasília)

Prof^a Dr^a. Giane Regina Paludo (Universidade de Brasília)

Prof. Dr. Matias Pablo Juan Szabó (Universidade Federal de Uberlândia)

Brasília-DF, 10 de Dezembro de 2008

AGRADECIMENTOS

Para a concretização desse projeto, o apoio de muitas e muitas pessoas queridas foi necessário e indispensável. É impossível agradecer só com palavras...

Agradeço em primeiro lugar ao meu orientador, por me proporcionar dissertar sobre um tema tão querido. Há quase dois anos atrás, eu tive que convencê-lo a aceitar a orientação de um trabalho totalmente fora da sua linha de pesquisa, e ele com um coração tão bom aceitou. Nunca me esqueci das suas palavras me dando a oportunidade de fazer um projeto na área do meu interesse. No começo, um completo desconhecido. Uma carapaça externa dura e áspera, alta exigência, palavras duras,... No final, após horas e mais horas de convívio, descobri seu interior. Uma pessoa excelente, um professor que realmente gosta de difundir conhecimentos, que tenta conciliar o que é melhor para todos, que concilia mil compromissos ao mesmo tempo sem enlouquecer, que deixa compromissos pessoais em prol da veterinária. Na verdade, um coração mole. Muito obrigada pelo tempo dedicado, pelas correções fundamentais e pelas chamadas de atenção. Admiro muito seu profissionalismo, uma inspiração e modelo a ser seguido.

Agradeço imensamente o apoio de todos do laboratório da Patovet. Obrigada ao Francisco, Jonas, Nara, Fabrício, Lílian, Prof^a. Karla, Prof^a Rafaela, Vanessa, Érica, Cris, Mirna, Baiano, Malu e Madi. O trabalho primoroso de vocês foi fundamental para o desenvolvimento desse trabalho.

Agradeço especialmente a Profa. Giane, pela ajuda, orientação, disponibilização dos laboratórios de patologia clínica e molecular. Minha professora desde a graduação, que me orientou em casos complicados da residência e continuou me ajudando no mestrado. Muito obrigada por toda essa caminhada. Agradeço também à Tati, Roberta, Marta, Laís, Marina, Fernanda, Taís, Maia, Mayane, Nayara. A ajuda dessa mulherada toda do laboratório foi fundamental.

Agradeço à Prof^a Christine, grande amiga e orientadora em toda a minha trajetória profissional. Um modelo de dedicação à veterinária. Obrigada pelos conhecimentos que você me proporcionou durante toda a minha formação. Obrigada pelo estímulo, pela liberação no final da residência para eu ir a zoonoses coletar material, por tudo...

Agradeço à Prof^a Paula, Prof. Richard, Prof. Carlos que também muito me orientaram e me ajudaram nessa caminhada profissional.

Agradeço ao Prof. Mathias, por aceitar compor a minha banca (tradução: ler um trabalho comprido, corrigir e ainda vir à Brasília). Obrigada!

Agradeço a todo o Centro de Zoonoses de Brasília, principalmente a Dra. Maria Isabel e Dr. Péricles, pela paciência, realização da RIFI e disponibilização dos animais.

Agradeço a Larissa, Bruninha, Paty, Mário e Mafê pelas nossas agradáveis idas ao centro de zoonoses, fazer o que mais gostamos...

Agradeço a toda equipe do Hvetinho que cuidou com tanto carinho dos meus filhos caninos, principalmente na etapa final de elaboração dessa tese. Muito obrigada pelo carinho e amizade de todos vocês!

Agradeço aos meus pais por tudo. Pela compreensão pela ausência, falta de tempo e falta de ajuda. Obrigada por todo o suporte que vocês sempre me deram a vida toda... Obrigada também a Paulinha, Rogério e Pepê. Obrigada a Jojo pela nutrição e cuidado dessa dissertante.

Agradeço ao Renato pelo companheirismo e ajuda durante toda essa caminhada. Obrigada pelas ajudas infinitas que você me deu no mestrado e também em outros aspectos da vida, por tanto e tanto tempo...

Agradeço a todos do meu trabalho, pela compreensão na minha ausência e pela ajuda. Agradeço ao Dudu, Aline, Neide, Jonas, Dias, Fábio, Igor, Amorim, Cleiton, Vilma, Antônio, Luís, Zé, Dedé, Davi, Anadiel, D. Lúcia, D. Rosa e D. Divina. Agradeço especialmente a Michele que resolveu vários pepinos para mim, e à Roberta, que cuidou dos nossos 87 filhos caninos (tá bom, eu divido a maternidade deles com você) para que eu pudesse me dedicar a esse projeto.

Agradeço as minhas amigas do peito, Gi, Dharana, Liroca e Dê, que gastaram seus ouvidos escutando minhas preocupações e reclamações. Ao Mário que também escutou meus problemas demais...

Esse projeto dependeu da ajuda direta e indireta de muitos companheiros. Seria impossível fazê-lo sem vocês. Esses agradecimentos são de coração. Mesmo que eu repetisse muito obrigada mil vezes, ainda seria insuficiente...

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
CÁPITULO I	1
Introdução	1
Referencial teórico	3
Objetivos	17
Referências	18
CAPÍTULO II	31
Introdução	31
Material e métodos	35
Resultados	39
Discussão	55
Conclusões	68
Referências	69
CAPÍTULO III	
Considerações finais	82
	82

RESUMO

Considerando que os rins são freqüentemente acometidos na leishmaniose visceral canina, esse estudo visa contribuir para um melhor entendimento das alterações clínico-laboratoriais e nefropatias associadas à enfermidade. Foram realizados exames clínicos, hemograma completo, bioquímica sanguínea (proteína total, globulina, albumina, uréia e creatinina) e urinálise de 14 cães sintomáticos e 13 cães assintomáticos com leishmaniose visceral, além de 10 animais saudáveis como controle. Os principais sinais clínicos encontrados foram: palidez de mucosas (59,3%), linfadenopatia generalizada (55,6%), alterações dermatológicas (55,6%), esplenomegalia (55,6%), hepatomegalia (33,3%), condição corporal magra (33,3%) e alterações oftálmicas (29,6%). Nos cães com a enfermidade, foi observada anemia normocítica normocrômica (70,4%), diminuição na contagem de linfócitos (33,3%), aumento das concentrações séricas de uréia e creatinina (18,5%) e concentrações elevadas de proteínas, sangue oculto e hemácias na urina, em comparação aos animais do grupo controle. Os cães do grupo sintomático apresentaram hiperproteinemia, hiperglobulinemia e hipoalbuminemia mais expressivas, acometendo 64% dos animais desse grupo. Foram observadas glomerulonefrites em 70,4% dos cães, alterações intersticiais no parênquima renal em 70,4% e alterações tubulares em 40,7%. As principais glomerulopatias observadas nos cães com leishmaniose visceral foram glomerulonefrite membranoproliferativa (47,4%), glomeruloesclerose segmentar focal (21%), glomerulonefrite proliferativa mesangial (15,8%) e glomerulonefrite membranosa (15,8%). Os cães com glomerulonefrite membranoproliferativa apresentaram maior comprometimento da função renal. Em áreas endêmicas para a doença, como o Distrito Federal, os resultados do presente estudo pretendem contribuir para identificação e diagnóstico mais precoce da enfermidade nos cães.

Palavras chaves: alterações laboratoriais, cães histopatologia renal, leishmaniose visceral.

ABSTRACT

Considering the fact that kidneys are usually injured in canine visceral leishmaniasis, the aim of this study was to improve knowledge about clinical and laboratorial changes and nephropathies associated with this disease. It was conducted physical examination, complete blood count, serum biochemistry (total protein, globulin, albumin, blood urea nitrogen and creatinin) and urinalysis from 14 symptomatic and 13 asymptomatic dogs with visceral leishmaniasis. Ten healthy animals were used as control group. The most important clinical signs found were: paleness of the mucous membrane, generalized lymphadenopathy, cutaneous lesions, splenomegaly, hepatomegaly, weight loss and ophthalmological lesions. The infected group presented normocytic normochromic anemia, lymphopenia, azotemia and higher urinary level of proteins, occult blood and erythrocytes, compared with control group. The symptomatic group presented most significant hyperproteinemia, hyperglobulinemia and hypoalbuminemia in 64% of the animals. 70.4% of the dogs presented glomerulonephritis and interstitial changes in renal parenchyma, and 40.7% presented tubular injuries. The most important glomerulopathies reported in dogs with visceral leishmaniasis were membranoproliferative glomerulonephritis (47.4%), focal segmentar glomerulosclerosis (21%), mesangial proliferative glomerulonephritis (15.8%) and membranous glomerulonephritis (15.8%). Dogs with membranoproliferative glomerulonephritis presented a more impaired renal function.. In canine visceral leishmaniasis endemic areas, such as Distrito Federal, the results of this study intend to improve early identification and diagnosis of the disease in dogs.

Keywords: dogs, laboratorial changes, visceral leishmaniasis, renal histopathology.

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral canina (LVC) é uma zoonose registrada em diversas regiões do mundo (REICHMANN, 2006) e os cães constituem o reservatório mais importante no ambiente doméstico (COSTA et al., 1999). A leishmaniose visceral (LV) é endêmica em 62 países, em sua maioria países em desenvolvimento, sendo o Brasil, o país americano com maior número de casos (MELO, 2004). Até o início dos anos 80, a LV restringia-se principalmente à região Nordeste. Atualmente, já é realidade em capitais como Teresina, São Luís, Campo Grande, Palmas e Belo Horizonte. Nos últimos anos, foram diagnosticados casos autóctones em outras metrópoles como Brasília e São Paulo (SABROZA, 2006). Está presente em 20 dos 26 estados brasileiros. Apenas a Região Sul não possui casos autóctones da doença (ZORZETTO, 2008). Em todo o país, entre cinco e dez mil pessoas são acometidas pela doença anualmente, dos quais, cerca de 10% acabam morrendo (SABROZA, 2006).

No Distrito Federal, a LV passou a constituir um grave problema de Saúde Pública desde 2005. Até então, a região era considerada livre

da enfermidade, quando em setembro de 2005 quatro brasilienses se infectaram com o protozoário. Em novembro de 2006, uma menina de seis anos, moradora da Vila Rabelo II, Sobradinho, Brasília - DF morreu em razão da doença (RODRIGUES; GOULART, 2006).

Mamíferos da família Canidae, principalmente cães e raposas são considerados os principais reservatórios da doença no Brasil (MELO, 2004; PRATA; SILVA, 2005). No ambiente doméstico, o cão é a fonte de infecção para os vetores, sendo considerado o principal elo na cadeia de transmissão de LV (MELO, 2004). Os fatores que mais favorecem a posição do cão na transmissão são sua distribuição cosmopolita e seu papel nos grupos sociais, permitindo-lhe um contato mais próximo com o homem (COSTA et al., 1999; PRATA; SILVA, 2005). Além disso, a *Leishmania* possui intenso tropismo pela pele nesses reservatórios, sendo que a exposição cutânea pelas feridas ou perda de pêlos facilita a contaminação pelos flebotomíneos (PRATA; SILVA, 2005).

As manifestações clínicas da doença no cão e no homem são similares e inespecíficas (MARZOCHI et al., 1985; FEITOSA et al., 2000; FEITOSA, 2006). Por causa dessa inespecificidade, a enfermidade pode mimetizar várias outras doenças (ALBUQUERQUE et al., 2007). Dentre os órgãos que não pertencem ao sistema fagocítico mononuclear, mas que são afetados no curso da LV, particular atenção deve ser dispensada aos rins, pois o desenvolvimento de nefropatias é uma consequência comum da LV, tanto no homem quanto no cão (COSTA, 2001).

Uma vez que as lesões renais são freqüentes e podem resultar na morte dos cães com LV, é importante conhecer as alterações clínico-patológicas que possam ajudar na identificação da doença. Um conhecimento aprofundado das alterações clínicas renais causadas pela LVC permite ao médico veterinário realizar um diagnóstico precoce, o que possibilita diminuir o risco de contágio para o ser humano. Além disso, em razão da similaridade com a enfermidade nos humanos, estudos sobre a ação do parasita no organismo do cão também propiciam maiores conhecimentos sobre a enfermidade, facilitando seu controle, tratamento e prevenção da LV humana.

REFERENCIAL TEÓRICO

A LV é causada por um protozoário da ordem *Kinetoplastida* e família *Trypanosomidae* e gênero *Leishmania* (DESJEUX, 2004). Várias espécies e subespécies de *Leishmania* são encontradas em todo o mundo, responsáveis por diferentes sinais clínicos (NOLI, 1999). No Brasil e na América Latina, *L. chagasi* é o causador da doença visceral em cães e homens (CUNHA; CHAGAS, 1937). Já no Velho Mundo, é predominante a *L. infantum* na região do Mediterrâneo (França, Itália, Grécia, Portugal e Espanha), Ásia, China e Norte da África (PRATA; SILVA, 2005). Alguns pesquisadores, baseados em testes moleculares, consideram a *L. chagasi* uma subespécie da *L. infantum*, enquanto outros ainda as consideram espécies diferentes, não havendo até o momento consenso (MILES et al., 1999; MAURÍCIO et al., 2000; PRATA; SILVA, 2005). O parasita requer dois tipos de hospedeiros, um vertebrado e outro invertebrado, para completar seu ciclo biológico. O hospedeiro invertebrado, que no Brasil é o mosquito fêmea *Lutzomyia longipalpis*, alberga a forma promastigota infectante (LAISON; SHAW, 1978). A forma amastigota é encontrada no hospedeiro vertebrado intracelularmente, principalmente em macrófagos, e divide-se por fissão binária (ALENCAR et al., 1991). O período de incubação da doença em cães varia de um mês a sete anos (MILLER, 1995; PARANHOS-SILVA et al., 1996; NELSON; COUTO, 2003). Durante esse período, o microrganismo se dissemina com predileção pelos órgãos linfóides (medula óssea, linfonodos, baço e fígado) (NOLI, 1999).

Não há indícios de predisposição sexual, racial ou etária relacionada à infecção. No entanto, acredita-se que as raças miniaturas sejam menos afetadas por comumente viverem no interior dos domicílios (CIAMARELLA et al., 1997; AMUSATEGUI et al., 2003).

Após a inoculação do parasita no cão, os animais resistentes à infecção promovem a ativação de células TCD4+Th1, produzindo principalmente as citocinas interferon gama (IFN γ), fator de necrose tumoral alfa (TNF α) e interleucinas (IL) 2 e 12, que ativam macrófagos para destruírem as formas amastigotas intracelulares. Há evidências de que células TCD8 citotóxicas também estejam envolvidas na resistência à doença (PINELLI et al., 1995). Inversamente, nos animais que

desenvolvem sinais clínicos, há uma supressão das células TCD4+Th1 e ativação de células TCD4+Th2, produzindo IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13, que promovem a proliferação de células B e a conseqüente produção de grande quantidade de anticorpos (PINELLI et al., 1994; 1999). Entretanto, esses anticorpos não são protetores e muitas vezes são maléficos por formarem imunocomplexos que podem se depositar na membrana basal de vários órgãos (SLAPPENDEL, 1988; MARTINEZ-MORENO et al., 1995). Em resumo, as citocinas produzidas pelas células Th, dependendo do tipo de resposta imunológica do hospedeiro, podem ativar mecanismos efetores particulares, que resultam tanto na proteção imunológica como na exacerbação da doença (PINELLI et al., 1999).

Cães infectados apresentam um amplo espectro de características clínicas, que varia do aparente estado sadio à caquexia no estágio final (AGUIAR et al., 2007). A infecção evolui para o estado latente ou patente que, por sua vez, em períodos variáveis de semanas, meses ou anos, podem evoluir para a forma aguda, subaguda, crônica ou regressiva (MARZOCHI et al., 1985; ALMEIDA et al., 2005). Cães assintomáticos representam de 20-40% da população soropositiva. Desses, aproximadamente 80% irão eventualmente desenvolver a doença (MORETTI et al., 1995).

A LVC pode mimetizar várias outras doenças (ALBUQUERQUE, et al., 2007). Os sinais clínicos podem ser resultantes de danos causados por ação direta do parasito nos tecidos, decorrendo na formação de lesões inflamatórias não supurativas na pele, fígado, intestinos, rins, olhos, ossos e outros (NOLI, 1999). Ou ainda, por dano indireto causado pela deposição de imunocomplexos nas membranas basais de rins, vasos sanguíneos e olhos, levando a vasculites, glomerulonefrites, artrites e uveítes (SLAPPENDEL, 1988). A ação do parasita também é responsável por uma hipertrofia e hiperplasia das células do sistema retículo endotelial, promovendo o aumento de volume de órgãos como fígado, baço e linfonodos (MALLA; MAHAJAN, 2006).

Os sinais clínicos são muito variados e inespecíficos. Os principais incluem linfadenopatia, lesões cutâneas e perda de peso (AMUSATEGUI et al., 2003). Noli (1999) considera a linfadenopatia um dos sinais clínicos mais consistentes, embora possa estar ausente ocasionalmente. Esplenomegalia, febre e apatia também são achados comuns no exame físico de cães acometidos (AGUIAR et al., 2007).

Lesões cutâneas são freqüentes na LVC e possuem diferentes características (CIAMARELLA et al., 1997; FERRER, 1999). Os achados mais importantes são dermatite esfoliativa com formação de caspas, pelagem sem brilho e quebradiça, hiperkeratose nasodigital, alopecia generalizada, alopecia periocular e dermatite ulcerativa. Outros achados incluem onicogribose, paroníquia, dermatite pustular estéril, despigmentação nasal com erosão e ulceração, dermatite nodular e alopecia focal das pinas (SCOTT et al., 2001). Em um estudo realizado em 150 cães infectados por *L. infantum*, as principais alterações cutâneas, apresentadas em ordem decrescente de freqüência, foram: dermatite esfoliativa com formação de caspas, úlceras, alopecia periorbital, alopecia difusa e onicogribose (CIAMARELLA et al., 1997). Um estudo realizado no Brasil observou queda de pêlos, úlceras, prurido intenso, pelame opaco e dermatite seborréica (FEITOSA, et al., 2000). Dermatite pustular estéril, nódulos cutâneos, dermatofibrose nodular e despigmentação do plano nasal são raramente descritos, mas já foram associados à LVC (BLAVIER et al., 2001).

Manifestações oculares são comumente descritas em cães com LV, ocorrendo freqüentemente associadas a sinais sistêmicos da doença. Uveíte anterior, blefarite, blefarite ulcerativa, nódulo solitário em pálpebra, conjuntivite, ceratoconjuntivite, ceratoconjuntivite seca, uveíte posterior e celulite orbital já foram associadas à LVC (PENA et al., 2000). Outras lesões incluem conjuntivite granulomatosa refratária a tratamento, uveíte granulomatosa, edema de córnea, esclerite, hemorragia de retina e glaucoma secundário (NOLI, 1999; GELATT, 2003).

Distúrbios locomotores como poliartrites, polimiosites e lesões ósseas, apesar de infreqüentes, podem ocorrer na LVC, causando dor, claudicação e atrofia muscular (SPRENG, 1993; KOUTINAS et al., 1999; McCONKEY et al., 2002). Usualmente, a poliartrite costuma ser não erosiva e pode ou não estar associadas à sinovite. Lesões osteolíticas e osteoproliferativas também já foram relacionadas à enfermidade (VAMVAKIDIS et al., 2000; SOUZA et al., 2005).

Em pequena porcentagem de cães com LV, pode haver comprometimento hepático (CIAMARELLA et al., 1997), causando vômitos, poliúria, polidipsia, anorexia e perda de peso como sinais clínicos (NOLI, 1999). Colite ulcerativa crônica com diarreia profusa e melena, bem como enterite hemorrágica aguda fatal também já foram associadas à enfermidade (FERRER et al., 1991; DENEROLLE, 1996).

A presença de anticorpos contra o parasita no líquido foi associada à degeneração neuronal espongiiforme, mobilização de células gliais e acumulação de amiloide no cérebro e no cerebelo de cães com LV (GARCIA-ALONSO et al., 1996). Feitosa et al. (2000), observaram em cães com a doença, a ocorrência de paraparesias que evoluíram para paraplegias com retenção vesical, convulsões e paralisia de mandíbula. Neste estudo, foi descartada a possibilidade de co-infecção pelo vírus da cinomose canina e pelo vírus da raiva.

Além desses sinais clínicos, pode ocorrer com frequência epistaxe, resultado de lesões ulcerativas na mucosa nasal e/ou coagulação diminuída (SLAPPENDEL; FERER, 1998). Rinites também podem estar presentes ocasionalmente (NELSON; COUTO, 2003). Outras causas para ocorrências de diáteses hemorrágicas na LV são vasculite, hiperglobulinemia (pode interferir com a polimerização da fibrina), uremia (interfere na agregação plaquetária), seqüestro esplênico de plaquetas e trombocitopenia por aplasia ou hipoplasia de medula óssea (FEITOSA, 2006). Além disso, trombocitopatias, aumento no tempo de trombina e de tromboplastina parcial e um aumento da degradação de fibrinogênio e fibrina já foram encontrados em cães com LV, indicando que o parasita pode afetar a hemostasia primária, a coagulação e a fibrinólise (MORENO, 1999).

É possível encontrar animais com pneumonia intersticial, miocardite aguda não supurativa e pericardite (POCAI et al., 1998; LUVIZOTTO, 2006).

A insuficiência renal é comum e é a principal causa de morte natural em cães infectados pela doença (MILLER, 1995). A insuficiência, associada à proteinúria, pode levar a um quadro de síndrome nefrótica e tromboembolismo (FONT et al. 1993). Insuficiência renal aguda, rápida e fatal, sem a presença de outros sinais clínicos também já foi descrita (CIAMARELLA et al., 1997). As lesões renais em humanos e em cães com LV são similares, mas sua patogênese ainda não foi totalmente elucidada (COSTA et al., 2003). As lesões glomerulares são principalmente decorrentes à deposição de imunocomplexos circulantes na membrana basal glomerular (TAFURI et al., 1989). Entretanto, atualmente há evidências que a resposta imune celular também esteja envolvida na patogênese da nefropatia da doença (COSTA et al., 2000).

As lesões, sinais clínicos e alterações bioquímicas no curso da enfermidade têm sido amplamente descritas, na maioria dos casos, são reportadas apenas

diferentes freqüências de sinais e alterações (AMUSATEGUI et al., 2003). A tabela 1 resume a freqüência de diferentes sinais clínicos associados à infecção canina pela *L. chagasi* e *L. infantum*.

Tabela 1. Incidência relativa (%) de diferentes sinais clínicos associados à leishmaniose visceral canina.

SINAIS CLÍNICOS	<i>L. chagasi</i>					<i>L. infantum</i>					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Emaciação	100	47	80	44	34,4	60	67,2	32	25,3	21,3	86,4
Linfadenopatia	85,7	81	≤ 20	56	57,4	90	71,2	88,7	88,7	80,3	72,7
Apatia/Fraqueza	71,4	-	-	-	23	-	67,2	-	-	19,7	86,4
Mucosas hipocoradas	-	-	-	-	26,2	-	-	58	-	-	68,2
Esplenomegalia	-	-	≤ 20	-	16,4	32,5	16,8	53,3	9,5	-	-
Febre	-	21	-	-	45,9	36	-	4	-	-	-
Epistaxe	-	3	-	8	-	15	10,4	-	3,8	-	9,1
Poliúria/ Polidipsia	-	12	-	-	-	40	-	< 5	-	-	59,1
Alterações Cutâneas	85,7	68	-	-	37,7	89	81,6	-	>56	57,3	63,6
Úlceras	42,9	49	80	87,5	-	-	32,8	40	-	21,3	-
Descamações	42,9	25	-	90	-	-	67,2	56	-	27,9	-
Onicogribose	42,9	51	73	88	30,8	20	-	24	30,5	13,1	31,8
Alopecia	85,7	51	60	-	-	-	-	18	-	27,9	-
Alterações Oftálmicas	14,3	29	73	52	44,3	-	-	16	-	11,5	18,2
Ceratoconjuntivite	14,3	-	-	-	-	7,5	-	16	5,1	-	-
Conjuntivite	-	-	-	-	-	32,5	1,6	-	24,1	6,6	-
Uveíte	-	-	-	-	-	0,8	4,8	8	8,2	4,9	-
Panofalmitite	-	-	-	-	-	0,8	-	4,5	-	-	-
Alterações Locomotoras	14,3	4	-	6,25	11,5	37,5	-	< 5	3,2	-	18,2
Alterações Neurológicas	-	4	-	-	13,1	-	-	-	-	-	-
Alterações Gastrointestinais	14,3	20	-	-	44,3	-	-	-	-	-	63,6
Vômito	-	20	-	-	-	26	-	-	-	3,3	59,1
Diarréia	-	-	-	-	-	30	-	<5	3,8	6,6	27,3
Melena	14,3	10	-	-	-	12,5	1,6	-	-	3,3	-

1. MARZOCHI et al., 1985; 2. FEITOSA et al., 2000; 3. ALMEIDA et al., 2005; 4. ALBUQUERQUE et al., 2007; 5. AGUIAR et al., 2007; 6. SLAPPENDEL, 1988; 7. DENEROLLE, 1996; 8. CIAMARELLA et al., 1997; 9. KOUTINAS et al., 1999; 10. AMUSATEGUI et al., 2003; 11. ZARAGOZA et al., 2003.

O achado clínico-laboratorial mais freqüente da LVC é a hiperglobulinemia, causada pela ativação de células B policlonais e conseqüente produção de anticorpos (RAMOS et al., 1994; NOLI, 1999; MOURA et al., 2002; AMUSATEGUI et al., 2003; ALMEIDA et al., 2005). Hipoalbuminemia costuma estar presente como resultado de perdas renais, doenças hepáticas ou desnutrição, levando a um decréscimo na relação albumina/globulina (A/G) (RAMOS et al., 1994; AMUSATEGUI et al., 2003; ALMEIDA et al., 2005). A proteína total sérica comumente encontra-se elevada devido à hiperglobulinemia, entretanto, ocasionalmente, pode se encontrar dentro dos parâmetros da normalidade quando a hipoalbuminemia é muito severa, mesmo com o aumento das globulinas séricas (LAPPIN, 2004). A eletroforese das proteínas do soro apresenta uma característica típica, fortemente sugestiva de LVC: diminuição da albumina, associada com um aumento de beta e gamma-globulinas (CIAMARELLA et al., 1997; AMUSATEGUI et al., 2003). Beta-1 e beta-2 globulinas aumentam principalmente na fase inicial da doença, seguidas por um aumento de beta-3 e γ -globulinas com a evolução da infecção (AMUSATEGUI et al., 2003; ALMEIDA et al., 2005). A azotemia/uremia tem sido relatadas com freqüências variadas sendo resultado da progressão da glomerulopatia provocada pela infecção com o protozoário (SOARES et al., 2005).

Proteinúria é freqüentemente observada quando há doença glomerular e é reflexo do aumento da permeabilidade capilar glomerular a proteínas do plasma, especialmente à albumina (POLI et al., 1991; NIETO et al., 1992; MOURA et al., 2002; COSTA et al., 2003; SOARES et al., 2005). Podem também estar presentes, no exame de sedimento da urina, hemácias e leucócitos (NIETO et al., 1992; MOURA et al., 2002; SOARES et al., 2005). Há relato de presença do DNA da *Leishmania spp.* na urina de cães acometidos com freqüência de 25% em um estudo realizado com 40 animais, entretanto ainda não está esclarecida a origem desses fragmentos e nem o quê define sua presença ou não na urina (FRANCESCHI et al., 2007).

A anemia, principalmente normocítica normocrômica e arregenerativa, é um achado freqüente na LVC (FEITOSA et al., 2000; MOURA et al., 2002; SOARES et al., 2005; REIS et al., 2006; AGUIAR et al., 2007; COSTA-VAL et al., 2007; DIAS et al., 2008). Amusatogui et al. (2003) correlacionam a anemia à severidade dos sinais clínicos.

Quanto à série leucocitária, tanto a leucocitose (SLAPPENDEL et al., 1988; CIAMARELLA et al., 1997; MOURA et al., 2002; AMUSATEGUI et al., 2003; SOARES et al., 2005; AGUIAR et al., 2007) quanto a leucopenia (AMUSATEGUI et al., 2003; SOARES et al., 2005), aumento no número de bastonetes (AGUIAR et al., 2007) vem sendo descritos na LV. DIAS et al. (2008), reportaram 40,9% de eosinofilia em cães com LV e a associaram as alterações cutâneas. Trombocitopenias também já foram associadas à enfermidade (MOURA et al., 2002; SOARES et al., 2005). A tabela 2 sumariza os principais achados laboratoriais em cães com LV.

Tabela 2. Incidência relativa (%) de diferentes achados laboratoriais associados à leishmaniose visceral canina.

ALTERAÇÕES LABORATORIAIS	<i>L. chagasi</i>							<i>L. infantum</i>		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Hiperproteinemia	+	-	57,9	-	-	+		+	63,3-91	21,4
Hiperglobulinemia	+	-	55,3	-	-	+		+	70-100	26,8
Hipoalbuminemia	+	-	78,9	-	-	+		+	68-94	12,8
Diminuição relação A/G	+	-	-	-	-	+		+	76	32,3
Anemia	-	-	-	+	41,2	-	+	-	21-94,2	16,5
Leucopenia	-	-	-	-	2,0	-	-	-	22	3,1
Leucocitose	-	-	-	+	19,6	-	+	-	8-24	1,83
Trombocitopenia	-	-	-	+	39,2	-	-	-	29-50	-
Azotemia	-	-	27,3	11,1	3,9	-	-	30	38-45	1,83
Proteinúria	-	4	54,6	36,4	-	-	-	100	29-91	4,9
Hematúria	-	2	-	36,4	-	-	-	100	-	4,9
Piúria	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1,6

+: autores citaram alterações como relevantes, mas não disponibilizaram frequência absoluta ou relativa das alterações; A/G: relação albumina globulina; 1. RAMOS et al., 1994; 2. FEITOSA et al., 2000; 3. COSTA, 2001; 4. MOURA et al., 2002; 5. SOARES et al. 2005; 6. ALMEIDA et al., 2005; 7. AGUIAR et al., 2007; 8. NIETO et al., 1992; 9. NOLI, 1999; 10. AMUSATEGUI et al., 2003.

Vários métodos podem ser utilizados no diagnóstico da LV canina, os três principais tipos de testes disponíveis são parasitológico, sorológico e molecular (NOLI, 1999; MELO, 2004).

O teste diagnóstico parasitológico mais usado consiste na identificação da forma amastigota do parasito livre ou no interior dos macrófagos em aspirados de linfonodos, baço ou de medula óssea, corados com *Wright* ou *Giemsa* (LAPPIN, 2004; REIS et al., 2006). As formas amastigotas são reconhecidas pela sua morfologia esférica a ovóide, medindo de 2-5µm, núcleo arredondado e um cinetoplasto alongado (SLAPPENDEL; FERRER, 1998; SUNDAR; RAI, 2002). A demonstração de um único parasita ao microscópio em esfregaço é suficiente para diagnóstico da doença (MELO, 2004). As vantagens da técnica incluem fácil, rápida e barata execução, além de baixa agressão tecidual (FERRER, 1999). Infelizmente, na maioria dos casos, os parasitos não são sempre encontrados com esta técnica, especialmente nos casos recidivantes crônicos (MILLER, 1995). A especificidade do teste é de 100%, entretanto possui sensibilidade baixa, variando de 50 a 70% em esfregaços de medula óssea e de menos de 30% em esfregaços de linfonodos (CIAMARELLA et al., 1997; FERRER, 1999). Este problema pode ser resolvido usando técnicas de imunoistoquímica, que aumentam consideravelmente a sensibilidade (FERRER et al., 1988). Aparentemente, não há relação entre a severidade dos sinais clínicos e o número de parasitos encontrados na citologia (DENEROLLE, 1996). O material utilizado para diagnóstico do parasito, em esfregaço corado, pode também ser semeado em meios de cultura, sendo o meio NNN (*Novy-MacNeal-Nicolle*) o mais utilizado, seguido de outros como RPMI-1640 ou H0-MEM (BRASIL, 2003; PRATA; SILVA, 2005). Como desvantagem da técnica, considera-se o tempo longo necessário para o início do crescimento das formas promastigotas (de 3 a 5 dias), a necessidade de laboratórios específicos e a baixa sensibilidade, principalmente nos estágios iniciais da doença, nos quais a carga parasitária é pequena (REALE et al., 1999). Conseqüentemente, apesar da cultura ser útil no isolamento do parasita, ela é pouco utilizada na rotina clínica (FERRER, 1999).

Vários testes sorológicos, que detectam anticorpos circulantes anti-*Leishmania*, estão disponíveis para uso e podem ser úteis no estabelecimento do diagnóstico (LAPPIN, 2004; ROSÁRIO, 2002; OLIVEIRA et al., 2005). Os testes mais utilizados no Brasil são a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e o ensaio imunoenzimático (ELISA) (BRASIL, 2003). A principal desvantagem dessas técnicas é a limitação de especificidade, apresentando reações cruzadas com outras

espécies da família Trypanosomatide e mesmo com organismos filogeneticamente distantes (RACHAMIN et al., 1991; ROSÁRIO, 2002; MELO, 2004). A interpretação dos testes sorológicos deve ser feita com cautela, uma vez que os testes podem falhar em detectar cães infectados no período pré-patente e antes da soroconversão, em animais que nunca farão soroconversão e ainda em cães soropositivos que se converteram em soronegativos, mas ainda permanecem infectados (FERRER et al., 1995; LEONTIDES, et al., 2002). A RIFI apresenta sensibilidade variando de 90 a 100% e especificidade de 80 a 100% (MACIANTI et al., 1995; ALVES; BEVILACQUA, 2004; METTLER et al., 2005). O ELISA apresenta sensibilidade de 95 a 99,5% e especificidade de 97,1 a 100% (MACIANTI et al., 1995; BADARÓ et al., 1996; LAURENTI, et al., 2005).

Com o avanço da biologia molecular, já é possível realizar exame de identificação do DNA do parasito, por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) (REALE et al., 1999; FISA et al., 2001; GOMES et al., 2007). Esta técnica tem sido descrita como um método sensível para detecção do parasita, independente de imunocompetência ou histórica clínica do paciente (MELO, 2004). A técnica possui sensibilidade e especificidade muito altas, bem próximas de 100% (ASHFORD et al., 1995; FERRER, 1999). A detecção do DNA do parasito é possível em uma variedade de tecidos, incluindo sangue, medula óssea, aspirados de linfonodos, biópsias cutâneas e também em cortes histológicos de tecidos parafinados (XAVIER et al., 2006; GOMES et al., 2007). A principal desvantagem da técnica é que requer laboratórios bem equipados e habilidade técnica (FERRER, 1999).

No Brasil, o estudo das alterações renais na LVC iniciou-se na década de 50 por Alencar J.E., no estado do Ceará (COSTA, 2001). O entendimento das nefropatias caninas e humanas em geral, incluindo a nefropatia da LV, é dificultado pela falta de adoção de critérios padronizados, resultando em classificações e interpretações diversas em todo o mundo. Atualmente, os critérios de classificação das glomerulonefrites pela Organização Mundial de Saúde (WHO) vêm sendo adotados e incluem: glomerulopatia com alterações mínimas, glomeruloesclerose segmentar focal, glomerulonefrite membranoproliferativa, glomerulonefrite proliferativa mesangial, glomerulonefrite membranosa, glomerulonefrite crescêntica, e glomerulonefrite crônica (CHURG et al., 1985).

A glomerulopatia de alterações mínimas apresenta glómerulos normais ou com alterações muito discretas à microscopia de luz. Pode haver ligeira expansão da matriz mesangial, com ou sem proliferação celular e os capilares podem apresentar aspecto “rígido”, com luz ampla. O diagnóstico definitivo é feito à microscopia eletrônica em que se observa, principalmente, apagamento, edema e retração dos prolongamentos dos podócitos (GODOY, 2000).

Na glomeruloesclerose segmentar focal, os glomérulos apresentam esclerose parcial (segmentar) de um ou mais lóbulos (GODOY, 2000). Essas alterações acometem principalmente os glomérulos da região justaglomerular, associadas a áreas de colapso do lúmen capilar (ANTONOVYCH; MOSTOFI, 1980; GODOY, 2000). Também podem ser observados o espessamento da cápsula de *Bowman* e a presença de áreas com aspecto hialino, positivas à coloração ácido periódico de Schiff (PAS), na porção glomerular afetada (COSTA et al., 2003).

Glomerulonefrite membranoproliferativa, também chamada de glomerulonefrite capilar mesangial, manifesta-se por alterações pronunciadas no mesângio e nas alças capilares glomerulares (GODOY, 2000). As principais alterações são o espessamento e duplicação da parede dos capilares glomerulares (visualizada na coloração prata-metanamina - PAMS), associada à lobulação e proliferação celular acentuada do tufo glomerular, devido à proliferação de células mesangiais e aumento da matriz do mesângio (ANTONOVYCH; MOSTOFI, 1980; COSTA et al., 2003).

A característica principal da glomerulonefrite mesangial proliferativa é a proliferação global e difusa de células mononucleares no mesângio, levando a uma expansão e aumento da matriz mesangial, com muito pouco ou sem comprometimento do lúmen capilar. O tufo glomerular comumente preenche quase todo o espaço de *Bowman* (ANTONOVYCH; MOSTOFI, 1980; COSTA et al., 2003).

A glomerulonefrite membranosa caracteriza-se por acentuado espessamento e duplicação da membrana basal dos capilares glomerulares (visualizada na coloração PAMS), mas sem aumento da celularidade mesangial (ANTONOVYCH; MOSTOFI, 1980; FIGUEIREDO et al., 1994). A arquitetura glomerular se mantém preservada e as alterações acometem os glomérulos de forma homogênea (SOARES et al., 2005). Com a progressão da lesão, a espessura das paredes das

alças capilares vai constantemente aumentando, até estreitar ou obliterar completamente o lúmen capilar (ANTONOVYCH; MOSTOFI, 1980).

A glomerulonefrite crescêntica manifesta-se por proliferação extracapilar de células epiteliais parietais, células mononucleares e fibroblastos que ocupam parcial ou totalmente o espaço de *Bowman* de modo segmentar ou circunferencial, obliterando o tufo capilar em maior ou menor intensidade (ANTONOVYCH; MOSTOFI, 1980; COSTA et al., 2003). O envolvimento pode ser segmentar ou global (SOARES et al., 2005).

O termo glomerulonefrite crônica refere-se ao estágio terminal das diversas glomerulonefrites descritas acima (GODOY, 2000). Grande parte dos glomérulos exibe intensa proliferação da matriz mesangial e obstrução do lúmen capilar (esclerose glomerular), transformando o tufo glomerular em uma massa amorfa, atrófica, hipocelular ou até mesmo acelular (ANTONOVYCH; MOSTOFI, 1980; COSTA et al., 2003). Fibrose, atrofia tubular e infiltrado inflamatório severo mononuclear costumam acompanhar o quadro (FIGUEIREDO et al., 1994; COSTA et al., 2003).

Diferentes estudos têm mostrado diversas alterações renais causadas pela LVC, explanados a seguir.

TRYPHONAS et al. (1977) acompanharam um animal com nefropatia, infectado por *Leishmania donovani* no Canadá, que havia morado em região endêmica na Itália. À microscopia de luz, vários glomérulos apresentaram espessamento da cápsula de *Bowman*, espessamento dos tufos glomerulares e uma discreta proliferação de células mesangiais. Adesões dos tufos glomerulares à cápsula de *Bowman* não foram incomuns. O epitélio do túbulo contorcido proximal apresentou degenerações hidrópicas com acúmulo de numerosos grânulos PAS positivos. Os túbulos distais e o sistema coletor encontravam-se íntegros. No interstício foram observados proliferação de linfócitos e poucos plasmócitos, além de áreas com fibrose. Houve evidência de proteinúria caracterizada pelo acúmulo de material amorfo eosinofílico presente em vários túbulos.

BENDERITTER et al. (1988) realizaram um estudo em que espécimes renais de 11 cães naturalmente infectados com *L. infantum* foram analisados à microscopia de luz e eletrônica. Todos os cães estudados apresentaram lesões renais histopatológicas, acompanhadas ou não de insuficiência. Glomerulonefrite crônica

foi predominante (7/11) em sua maioria extra-membranosa (5/7), caracterizada por espessamento homogêneo da membrana basal com depósitos de imunocomplexos na membrana basal. Não foram observadas alterações tubulares ou vasculares.

TAFURI et al. (1989) estudaram os rins de 4 cães infectados com *Leishmania chagasi*, dois deles infectados naturalmente e dois deles experimentalmente. Todos os animais apresentaram alterações renais, que incluíam: glomerulonefrite mesangioproliferativa focal ou difusa, espessamento da membrana basal com depósitos eletrodensos, nefrite intersticial intertubular crônica com exsudação plasmocitária intensa e degeneração albuminosa tubular.

POLI et al. (1991) avaliaram o envolvimento renal de 34 cães naturalmente infectados pela *Leishmania infantum*. Todos os cães estudados apresentaram alterações glomerulares, indicando que a glomerulonefrite é uma seqüela típica da infecção, independente de idade, sexo ou raça dos cães. Grande parte dos animais (31/34) também apresentaram anormalidades tubulares e intersticiais. As alterações glomerulares foram: glomerulonefrite focal (11/34), glomerulonefrite mesangial proliferativa difusa (10/34), glomerulonefrite membranoproliferativa (12/34), amiloidose (1/34). As lesões não-glomerulares incluíram: nefrite intersticial de leve a moderada, mas sempre generalizada (31/34) e degeneração hidrópica e vacuolar de leve a moderada nas células epiteliais tubulares. Essas alterações foram mais severas em cães com glomerulonefrite membranoproliferativa e eram acompanhadas de infiltração de células mononucleares. Foi observada uma correlação positiva entre sinais clínicos e tipos de alterações glomerulares: glomerulonefrite focal foi principalmente observada em cães assintomáticos (5/8), enquanto a glomerulonefrite difusa e membranoproliferativa foram detectadas predominantemente nos oligossintomáticos (10/13) e nos sintomáticos (10/13).

NIETO et al. (1992) selecionaram 10 cães naturalmente infectados com *L. infantum* e avaliaram os achados histopatológicos correlacionando com função renal e achados clínicos. As lesões histopatológicas foram classificadas em: alterações mínimas (2/10), glomerulonefrite endoteliomesangial exsudativa (2/10), glomerulonefrite endoteliomesangial proliferativa (2/10), glomerulonefrite membranoproliferativa (3/10) e amiloidose (1/10).

MOURA et al. (2002) avaliaram 9 cães soropositivos para LV no Rio Grande do Norte. Todos os animais estudados, assintomáticos, oligossintomáticos ou

sintomáticos, apresentaram glomerulonefrite membranoproliferativa em graus variados. Um animal encontrava-se em uremia e quatro apresentaram proteinúria e hematúria no exame de urina. Foi concluído que animais soropositivos para LV, com ou sem sintomas ou sinais clínicos de afecção renal, apresentaram alterações histopatológicas caracterizadas como glomerulonefrite membranoproliferativa.

COSTA et al. (2003) avaliou a função renal de 55 cães naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi* no Piauí, Brasil. Glomerulonefrite foi observada em 55 animais, alterações intersticiais em 53 e alterações tubulares em 43. As alterações glomerulares foram: alterações glomerulares mínimas (n=8), glomerulonefrite segmentar focal (n=10), glomerulonefrite mesangial proliferativa (n=17), glomerulonefrite membranoproliferativa (n=18), glomerulonefrite crescêntica (n=1) e glomerulonefrite crônica (n=1). 80% dos animais sintomáticos apresentavam glomerulonefrites proliferativas. Três animais apresentaram valores séricos de creatinina aumentados, dentro de um grupo de seis animais com indícios de proteinúria. As alterações renais encontradas nesses animais foram: glomerulonefrite segmentar focal (2/6), glomerulonefrite mesangial proliferativa (2/6), glomerulonefrite membranoproliferativa (2/6) e glomerulonefrite crescêntica (1/6). As alterações tubulares encontradas foram degeneração vacuolar e hialina, seguidas por atrofia e dilatação tubular.

ZATELLI et al. (2003) identificaram glomerulonefrite segmentar focal (8/41), glomerulonefrite mesangial (n=9/41), glomerulonefrite membranosa (n=11/41), e glomerulonefrite membranoproliferativa (n=12/41) em 41 cães positivos para *Leishmania donovani infatum*. Alterações histopatológicas do sistema tubulointersticial não foram observadas como lesões primárias, mas estavam presentes em 23 (41%) animais. Na biópsia de rim de um cão com LV, e apresentando uremia e proteinúria, foi encontrada glomerulonefrite membranosa (BONFANTI et al., 2004).

SOARES et al. (2005) compararam 34 cães sintomáticos e 17 assintomáticos portadores de LV originários do estado do Piauí. A avaliação histopatológica renal mostrou infiltrado inflamatório mononuclear em ambos os grupos (n=35/51). Esse estudo concluiu que animais sintomáticos apresentaram uma frequência maior de glomerulonefrite membranoproliferativa, enquanto no grupo assintomático a glomerulonefrite mesangial proliferativa foi mais freqüente. As concentrações

plasmáticas de uréia e creatinina encontravam-se aumentadas em dois animais sintomáticos com glomerulonefrite membranoproliferativa na avaliação renal. Foram observados também alterações tubulares em 11 cães sintomáticos e em 2 cães assintomáticos. As alterações descritas foram degeneração hidrópica, cilindrúria, vacuolização tubular, fibrose intersticial e necrose tubular.

LUVIZOTTO (2006) em um levantamento das alterações anatomopatológicas em cães naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi* encontrou as seguintes alterações patológicas renais: glomerulonefrite mesangioproliferativa, glomerulonefrite membranoproliferativa, glomeruloesclerose com deposição de material PAS positivo, espessamento e duplicação das paredes capilares glomerulares, muitas vezes havendo deposição de material amilóide nos glomérulos. No interstício e ao redor dos glomérulos, predominou uma reação inflamatória caracterizada por infiltrado linfoplasmocitário, às vezes, contendo macrófagos albergando formas amastigotas, evidenciadas mais facilmente pela imunohistoquímica. Foram observadas ainda lesões tubulares degenerativas e necrose. Não foi informado o número de casos estudados e nem a frequência dessas alterações.

Os fármacos que atuam contra *Leishmania spp.* incluem os antimoniais pentavalentes, alopurinol, anfotericina B, aminosidina, imidazóis, triazóis, pentamidina e miltefosina (RIBEIRO, 2007). Entretanto, é importante ressaltar que a legislação brasileira não permite o tratamento de cães com LV, sendo recomendada a eutanásia de todos os cães sororreagentes com títulos a partir de 1:40 na RIFI e/ou com exame parasitológico positivo (BRASIL, 2005).

OBJETIVOS

- Caracterização e frequência das alterações morfológicas renais à microscopia de luz na LVC;
- Caracterização e frequência das alterações observadas na LVC em exames de função renal comumente realizados na rotina da clínica médica de pequenos animais e sua relação com alterações morfológicas renais.
- Caracterização e frequência das alterações clínicas encontradas no exame físico de cães com LV.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, P. H. P., SANTOS, S. O., PINHEIRO, A. A., BITTENCOURT, D. V. V., COSTA, R. L. G., JULIÃO, F. S., SANTOS, W. L. C., BARROUIN-MELO, S. M. Quadro clínico de cães infectados naturalmente por *Leishmania chagasi* em uma área endêmica do estado da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 8, p. 283-294, 2007.

ALBUQUERQUE, A. L., ARAGÃO, F. R., FAUSTINO, M. A. G., GOMES, Y. M., LIRA, R. A., NAKASAWA, M., ALVES, L. C. Aspectos clínicos de cães naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi* na região metropolitana do Recife. **Clínica Veterinária**, v. 71, p. 78-84, 2007.

ALENCAR, J. E., NEVES, J., DIETZE, R. Leishmaniose visceral. In: VERONESI, R. **Doenças infecciosas e parasitárias**. 8ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. p. 706-717.

ALMEIDA, M. A. O., JESUS, E. E. V., SOUSA-ATTA, M. L. B., ALVES, L. C., BERNE, M. E. A., ATTA, A. M. Clinical and serological aspects of visceral leishmaniasis in northeast brazilian dogs naturally infected with *Leishmania chagasi*. **Veterinary Parasitology**, v. 127, p. 227-232, 2005.

ALVES, W. A., BEVILACQUA, P. D. Reflexos sobre a qualidade do diagnóstico da leishmaniose visceral canina em inquérito epidemiológico: o caso da epidemia de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, 1993-1997. **Caderno de Saúde Pública**, v. 20, n. 1, p. 259-265, 2004.

AMUSATEGUI, I., SAINZ, A., RODRÍGUEZ, F., TESOURO, M. A. Distribution and relationships between clinical and biopathological parameters in canine leishmaniasis. **European Journal of Epidemiology**, v. 18, p. 147-156, 2003.

ANTONOVYCH, T. T., MOSTOFI, F. K. **Atlas of Kidney Biopsies**. Whashington: Armed Forces Institute of Pathology, 1980. 386p.

ASHFORD, D. A., BOZZA, M., FREIRE, M., MIRANDA, J. C., SHERLOCK, I., EULÁLIO, C., DEGRAVE, W., BARKER JR, R. H., BADARÓ, R., DAVID, J. R. Comparasion of the polymerase chain reaction and serology for the detection of canine visceral leishmaniasis. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 5, n. 3, p. 252-255, 1995.

BADARÓ, R., BENSON D., EULÁLIO, M. C., FREIRE, M., CUNHA, S., NETTO, E. M., PEDRAL-SAMPAIO, D., MADUREIRA, C., BURNS, J. M., HOUGHTON, R. L., DAVID, J. R., REED, S. G. rK39: a cloned antigen of *L. chagasi* that predicts active visceral leishmaniasis (VL). **Journal of Infectious Diseases**, v. 173, p. 758-761, 1996.

BENDERITTER, T., CASANOVA, P., NASHKIDACHVILI, L., QUILICI, M. Glomerulonephritis in dogs with canine leishmaniasis. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v.82, n.4, p. 335-341, 1988.

BLAVIER, A., KEROACK, S., DENEROLLE, P., GOY-THOLLOT, I., CHABANNE, L., CADORÉ, J. L., BOURDOISEAU, G. Atypical forms of canine leishmaniosis. **The Veterinary Journal**, v. 162, p. 108-120, 2001.

BONFANTI, U., ZINI, E., MINETTI, E., ZATELLI, A. Free light-chain proteinuria and normal renal histopathology and function in 11 dogs exposed to *Leishmania infantum*, *Erichia canis* and *Babesia canis*. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 18, p. 618-624, 2004.

BRASIL. Ministério da saúde. Secretária de vigilância em saúde. Departamento de vigilância epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília: Ministério da Saúde, 2003. 120p.

BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de vigilância em saúde. **Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso**. 5. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. 320p.

CHURG, J., BERNSTEIN, J., GLASSOCK, R.J. **Renal Disease: Classification and Atlas of Glomerular Disease**. 2ed. New York: Igaku-Shoin. 1985. 541p.

CIAMARELLA, P., OLIVA, G., DE LUNA, R., GRADONI, L., AMBROSIO, R., CORTESE, L., SACLONE, A., PERSECHINO, A. A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. **Veterinary Record**, v. 141, p. 539-543, 1997.

COSTA C. H. N., PEREIRA, H. F., PEREIRA, F.C. A., TAVARES, J. P. Is the household dog a risk factor for american visceral leishmaniasis in Brazil? **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 93, p. 464, 1999.

COSTA, F. A.L., GUERRA, J. L., SILVA, S. M. M. S., KLEIN, R. P., MENDONÇA, I. L., GOTO, H. CD4+ T cells participate in the nephropaty of canine visceral leishmaniasis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, p. 1455-1458, 2000.

COSTA, F. A. L. **Patologia e imunopatogenia da nefropatia da leishmaniose visceral canina**. São Paulo: USP, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2001. 129 p. Dissertação (Doutorado em Medicina Veterinária).

COSTA, F. A. L., GOTO, H., SALDANHA, L. C. B., SILVA, S. M. M. S., SINHORINI, I. L., SILVA, T. C., GUERRA, J. L. Histopathologic patterns of nephropathy in naturally acquired canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Pathology**, v. 40, p. 677-684, 2003.

COSTA-VAL, A. P., CAVALCANTI, R. R., GONTIJO, N. F., MICHALICK, S. M., ALEXANDER, B., WILLIAMS, P., MELO, M. N. Canine visceral leishmaniasis:

relationships between clinical status, humoral immune-response, haematology and *Lutzomyia* (*Lutzomyia*) *longipalpis* infectivity. **The Veterinary Journal**, v. 174, p. 636-643, 2007.

CUNHA, A. M., CHAGAS, E. Nova espécie de protozoário do gênero *Leishmania* patogênico para o homem (nota prévia). **O Hospital**, v. 11, p. 5-9, 1937.

DENEROLLE, P. Leishmaniose canina: difficultés du diagnostic et du treatment (125 cas). **Pratique Médicale et Chirurgicale de L'Animal de Compagnie**, v. 31, p.137-145, 1996.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Disease**, v. 27, n. 5, p. 305-318, 2004.

DIAS, E. L., BATISTA, Z. S., GUERRA, R. M. S. N. C., CALABRESE, K. S., LIMA, T. B., ABREU-SILVA, A. L. Canine visceral leishmaniasis (CVL): seroprevalence, clinical, hematology and biochemical findings of dogs naturally infected in a endemic area of São José de Ribamar municipality, Maranhão State, Brazil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 3, p. 740-745, 2008.

FEITOSA, M. M., IKEDA, F. A., LUVIZOTTO, M. C. R., PERRI, S. H. V. Aspectos clínicos de cães com leishmaniose visceral no município de Araçatuba – São Paulo (Brasil). **Clínica Veterinária**, v. 28, p. 36-44, 2000.

FEITOSA, M. M. Avaliação clínica de animais naturalmente infectados. In: FÓRUM SOBRE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA, I, 2006, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal, 2006. p. 9-13.

FERRER, L., RABANAL, R. M., DOMINGO, M., RAMOS, J. A., FONDEVILA, D. Identification of *Leishmania donovani* amastigotas in canine tissues by immunoperoxidase staining. **Research in Veterinary Science**, v. 44, n. 2, p. 194-196, 1988.

FERRER, L., JUANOLA, B., RAMOS, J. A., RAMIS, A. Chronic colitis due to *Leishmania* infection in two dogs. **Veterinary Pathology**, v. 28, p. 342-343, 1991.

FERRER, L., AISA, M., ROURA, X., PORTÚS, M. Serological diagnosis and treatment of canine leishmaniasis. **Veterinary Record**, v. 136, n.20, p. 514-516, 1995.

FERRER, L. M. Clinical aspects of canine leishmaniasis. In: CANINE LEISHMANIASIS: NA UPDATE. **Proceedings of a Canine Leishmaniasis Forum**, Barcelona, 1999. p. 6-10.

FIGUEIREDO, L. M. A., IAMAGUTI, P., BANDARRA, E. P., SEQUEIRA, J. L. Estudo anátomo-imuno-histopatológico e ultra-estrutural das glomerulonefrites em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 6, p. 65-76, 1994.

FISA, R., RIERA, C., GÁLLEGO, M., MANUBENS, J., PORTÚS, M. Nested PCR for diagnosis of canine leishmaniosis in peripheral blood, lymph node and bone marrow aspirates. **Veterinary Parasitology**, v. 99, p. 105-111, 2001.

FONT, A., CLOSA, J. M., MOLINA, A., MASCORT, J. Thrombosis and nephrotic syndrome in a dog with visceral leishmaniasis. **Journal of Small animal Practice**, v. 34, p. 466-470, 1993.

FRANCESCHI, A., MERILDI, V., GUIDI, G., MANCIANTI, F. Occurrence of *Leishmania* DNA in urines of dogs naturally infected with leishmaniasis. **Veterinary Research Communications**, v. 31, p. 335-341, 2007.

GARCIA-ALONSO, M., NIETO, C. G., BLANCO, A., REINA, D., SERRANO, F. J., ALONSO, C., NAVARRETE, I. Presence of antibodies in the aqueous humor and cerebrospinal fluid during *Leishmania infantum* infections in dogs. Pathological features at the central nervous system. **Parasite Immunology**, v. 18, n. 12, p. 539-546, 1996.

GELATT, K. N. Manifestações oftálmicas de doenças sistêmicas. In: _____. **Manual de Oftalmologia Veterinária**. 3ed. São Paulo: Manole, 2003. p. 459-507.

GODOY, P. Sistema Urinário. In: FILHO, G. B. **Bogliolo Patologia**. 6ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p.421 -480.

GOMES, A. H. S., FERREIRA, I. M. R., LIMA, M. L. S. R., CUNHA, E. A., GARCIA, A. S., ARAÚJO, M. F. L., PEREIRA-CHIOCCOLA, V. L. PCR identification of *Leishmania* in diagnosis and control of canine leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v. 144, n. 3-4, p. 234-241, 2007.

KOUTINAS, A. F., POLIZOPOULOU, Z. S., SARIDOMICHE M. N., ARGYRIADIS, D., FYTIANOU, A., PLEVRAKI, K. G. Clinical considerations on canine visceral leishmaniasis in Greece: a retrospective study of 158 cases (1989-1996). **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 35, p. 376-383, 1999.

LAISON, R., SHAW, J. J. Epidemiology and ecology of leishmaniasis in Latin America. **Nature**, v. 272, p. 595-600, 1978.

LAPPIN, M. R. Infecções por protozoários e mistas. In: ETTINGUER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 5ed. Rio de Janeiro: Manole, 2004. p. 437-438.

LAURENTI, M. O., LEMOS, E. M., REISA, B., MOREIRA, M. A. B., LUVIZOTTO, M. C. R., CORBETT, C. E. P., DIETZE, R., Evaluation of kalazar detect rapid test in serodiagnosis of canine visceral leishmaniose in Brazil. In: WORLD CONGRESS ON LEISHMANIASIS, 3, Italy: **Abstract book...** Italy. 2005. p. 160.

LEONTIDES, L. S., SARIDOMICHELAKIS, M. N., BILLINIS, C., KONTOS, V., KOUTINAS, A. F., GALATOS, A. D., MYLONAKIS, M. E. A cross-sectional study of *Leishmania spp.* Infection in clinically healthy dogs with polymerase chain reaction and serology in Greece. **Veterinary Parasitology**, v. 109, n. 1, p. 19-27, 2002.

LUVIZOTTO, M. C. R. Alterações Patológicas em animais naturalmente infectados. In: FÓRUM SOBRE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA, I, 2006, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal, 2006. p.15-22.

MACIANTI, F., FALCONE, M. L., GIANNELI, C., POLI, A. Comparison between an enzyme-linked immunosorbent assay using a detergent-soluble *Leishmania infantum* antigen and indirect immunofluorescence for the diagnosis of canine leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v. 59, n. 1, p. 13-21, 1995.

MALLA, N., MAHAJAN, R. C. Pathophysiology of visceral leishmaniasis – some recent concepts. **Indian Journal of Medical Research**, v. 123, p. 267-274, 2006.

MARTÍNEZ-MORENO, A., MORENO, T., MARTÍNEZ-MORENO, F. J., ACOSTA, I., HERNÁNDEZ, S. Humoral and cell-mediated immunity in natural and experimental canine leishmaniasis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 48, p. 209-220, 1995.

MARZOCHI, M. C. A., COUTINHO, S. G., SOUZA, W. J. S., TOLEDO, L. M., JUNIOR, G. G., MOMEN, H., PACHECO, R. S., SABROZI, P.C., SOUZA, M.A., JUNIOR, F. B. R., TRAMONTANO, N. C. Canine visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brazil. Clinical, parasitological, therapeutical and epidemiological findings (1977-1983). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 80, n.3, p. 349-357, 1985.

MAURÍCIO, I. L., STOHARD, J. R., MILES, M. A. The strange case of *Leishmania chagasi*. **Parasitology Today**, v. 16, p. 188-189, 2000.

McCONKEY, S., LÓPEZ, A., SHAW, D., CALDER, J. Leishmanial polyarthritis in a dog. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 43, p. 607-609, 2002.

MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: desafios e perspectivas. In: XIII CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA E I SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE RICKETIOSIS, 2004, Ouro Preto. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Rio de Janeiro, v.23, suplemento 1, p.41-45, 2004.

METTLER, M., GRIMN, F., CAPELLI, G., CAMP, H., DEPLAZES, P. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assays and immunofluorescent – antibody test and two rapid tests (immunochromatographic-dipstick and gel tests) for serological diagnosis of symptomatic and asymptomatic *Leishmania* infections in dogs. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 11, p. 5515-5519, 2005.

MILES, M. A., VEXENAT, J. A., CAMPOS, J. A. C., CASTRO, J. A. F. Canine leishmaniasis in Latin America: control strategies for visceral leishmaniasis. In: CANINE LEISHMANIASIS: NA UPDATE. **Proceedings of a Canine Leishmaniasis Forum**, Barcelona, 1999, p. 46-53.

MILLER, J. B. Zoonoses de pequenos animais. In: ETTINGUER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 4ed. Rio de Janeiro: Manole, 1995. p. 565-567.

MORENO, P. Evaluation of secondary haemostasis in canine leishmaniasis. **Veterinary Record**, n. 144, p. 169-171, 1999.

MORETTI, A., PIERGILI, F. D., FARINELLI, M. Leishmaniosi canina. **Obiettivi e Documenti Veterinari**, v. 10, p. 19-25, 1995.

MOURA, R. O. D., PAULA, V. V., SOARRES, M. J. V., SILVA, S. M. M. S. Alterações renais em cães (*Canis familiaris*) soropositivos para leishmaniose: aspectos clínicos, laboratoriais e hisopatológicos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 24, n. 2, p. 61-64, 2002.

NELSON, R. W.; COUTO, G.C. (Ed.). Polysystemic Protozoal Infection. In: **Small Animal Internal Medicine**. 3ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. p.1000-1005.

NIETO, C. G., NAVARRETE, I., HABELA, M. A., SERRANO, F., REDONDO, E. Pathological changes in kidneys of dogs with natural *Leishmania* infection. **Veterinary Pathology**, v. 45, p. 33-47, 1992.

NOLI, N. Canine Leishmaniasis. **Waltham Focus**, v. 9, n. 2, p. 16-24, 1999.

OLIVEIRA, L. S., JULIÃO, F. S., SOUZA, V. M. M., FREITAS, D. S., SOUZA, B. M. P. S., PAULE, B. J. A., AGUIAR, P. H. P., MELO, S. M. B., FRANKE, C. R. A utilização da imunofluorescência indireta no diagnóstico de rotina da leishmaniose visceral canina e suas implicações no controle da doença. **Ciência Animal Brasileira**, v. 6, n. 1, p. 41-47, 2005.

PARANHOS-SILVA, M., FREITAS, L. A., SANTOS, W. C., JUNIOR, G., PONTES, L. C. C., SANTOS, A. J. O. A cross-sectional serodiagnostic survey of canine leishmaniasis due to *L. chagasi*. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 55, p. 39-44, 1996.

PENA, M. T., ROURA, X., DAVIDSON, M. G. Ocular and periocular manifestations of leishmaniasis in dogs: 105 cases (1993-1998). **Veterinary Ophthalmology**, v. 3, p. 35-41, 2000.

PINELLI, E., KILLICK-KENDRICK, R., WAGENAR, J., BERNADINA, W., DEL REAL, G., RUITENBERG, J. Cellular and humoral immune responses in dogs experimentally and naturally infected with *Leishmania infantum*. **Infection and Immunity**, v. 62, n.1, p. 229-235, 1994.

PINELLI, E., GONZALO, R. M., BOOG, C. J. P., RUTTEN, V. P. M. G., GEBHARD, D., REAL, G., RUITENBERG, E. J. *Leishmania infantum* specific T cell lines derived from asymptomatic dogs that lyse infected macrophages in a major histocompatibility complex-restricted manner. **European Journal of Immunology**, v. 25, p. 1594-1600, 1995.

PINELLI, E., RUTTEN, P. M. G. V., RUITENBERG, E. J. Cellular immune responses in canine leishmaniasis. In: CANINE LEISHMANIASIS: NA UPDATE. **Proceedings of a Canine Leishmaniasis Forum**, Barcelona, 1999. p. 60-64.

POCAI, E. A., FROZZA, L., HEADLEY, S. A., GRAÇA, D. L. Leishmaniose visceral (calazar). Cinco casos em cães de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 28, n. 3, p. 501-505, 1998.

POLI, A., ABRAMO, F., MANCIANTI, F., NIGRO, M., PIERI, S., BIONDA, A.B. Renal Involvement in canine leishmaniasis. **Nephron**, v. 57, p. 444-452, 1991.

PRATA, A., SILVA, L. A. Calazar. In: COURA, J. R. **Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. p.713-732.

RACHAMIN, N., JAFFES, C. L., ABRANCHES, P., SILVA-PEREIRA, M. C. D., SCHNUR, L. F., JACOBSON, R. L. Serodiagnosis of canine visceral leishmaniasis in Portugal: a comparasion of three methods. **Annal of Tropical and Parasitology**, v. 85, n.5, p. 503-508, 1991.

RAMOS, G.P., RANGEL FILHO, F. B., BOTELHO, G. G., VOGEL, J. Valores bioquímicos séricos de cães portadores de leishmaniose visceral. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 16, n.5, p. 192-196, 1994.

REALE, S., MAXIA, L., VITALE, F., GLORIOSO, N. S., CARACAPPA, S., VESGO, G. Detection of *Leishmania infantum* in dogs by PCR with lymph node aspirates and blood. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, p. 2931-2935, 1999.

REICHMANN, A. M. Leishmaniose visceral canina – uma zoonose emergente. In: FÓRUM SOBRE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA, I, 2006, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal, 2006. p.7-8.

REIS, A.B., MARTINS-FILHO, O.A., TEIXEIRA-CARVALHO, A., CARVALHO, M.G., MAYRINK, W., FRANCA-SILVA, J.C., GIUNCHETTI, R.C., GENARO, O., CORREA-OLIVEIRA, R. Parasite density and impaired biochemical/hematological status are associated with severe clinical aspects of canine visceral leishmaniasis. **Research in Veterinary Science**, v. 81, p. 68-75, 2006.

RIBEIRO, M. V. Leishmaniose visceral canina: aspectos do tratamento e controle. **Revista Clínica Veterinária**, v.71, p. 66-76, 2007.

RODRIGUES, G.; GOULART, G. Começa caça a cães doentes. **Correio Braziliense**, Brasília, 16 de Novembro de 2006. Caderno Cidades, p. 28.

ROSÁRIO, E. Y. **Avaliação de testes sorológicos utilizando antígenos brutos e recombinantes para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina**. Belo Horizonte: UFMG, Escola de Veterinária, 2002. 99p. Dissertação (Mestrado).

SABROZA, P. **Epidemiologia das leishmanioses**. Disponível em: <<http://www.fiocruz.br>>. Acesso em 09/12/2006

SCOTT, D. W.; MILLER, W. H; GRIFFIN, C. E. Viral, rickettsial and protozoal skin diseases. In:_____. **Muller & Kirk's, Small Animal Dermatology**. 6ed. Philadelphia: Saunders, 2001. p.517-542.

SLAPPENDEL, R. J. Canine leishmaniosis. A review based on 95 cases in Netherlands. **Veterinary Quartely**, v. 10, p. 1-16, 1988.

SLAPPENDEL, R. J., FERRER, L. Leishmaniosis. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 2ed. Philadelphia: Saunders, 1998. p. 450-458.

SOARES, M. J. V., MORAES, J. R. E., BORGES, V. P., MIYAZATO, L. G., MORAES, F. R. Renal involvement in visceral leishmaniasis dogs. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 11, n.4, p. 579-593, 2005.

SOUZA, A. I., JULIANO, R. S., GOMES, T. S., DINIZ, S. A., BORGES, A. M., TAFURI, W. L., SANTOS, R. L. Osteolytic osteomyelitis associated with visceral leishmaniasis in a dog. **Veterinary Parasitology**, v. 129, p. 51-54, 2005.

SPRENG, D. Leishmanial polyarthritis in two dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 34, p. 559-563, 1993.

SUNDAR, S., RAI, M. Laboratory diagnosis of visceral leishmaniasis. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 9, n. 5, p. 951-958, 2002.

TAFURI, W. L., MICHALICK, M. S. M., DIAS, M., GENARO, O., LEITE, V. H. R., BARBOSA, A. J. A., BAMBIRRA, E. A., COSTA, C. A., MELO, M. N., MAYRINK, W. Estudo, ao microscópio óptico e eletrônico, do rim de cães natural e experimentalmente infectados com *Leishmania (Leishmania) chagasi*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 31, n. 3, p. 139-145, 1989.

TRYPHONAS, L., ZAWIDZKA Z., BERNARD, M. A., JANZEN, E. A. Visceral leishmaniasis in a dog: clinical, hematological and pathological observations. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v. 41, p. 1-12, 1977.

VAMVAKIDIS, C. D., KOUTINAS, A. F., KANAKOUDIS, G., GEORGIADIS, G., SARIDOMICHELAKIS, M. Masticatory and skeletal muscle myositis in canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*). **Veterinary Record**, v. 146, n. 698-703, 2000.

XAVIER, S. C., DE ANDRADE, H. M., MONTES, S. J. H., CHIARELLI, I. M., LIMA, W. G., MICHALICK, M. S. M., TAFURI, W. L., TAFURI, W. L. Comparasion of paraffin-embedded skin biopsies from different anatomical regions as sampling methods for detection of *Leishmania* infection in dogs using histological, immunohistochemical and PCR methods. **BMC Veterinary Research**, v. 2, p. 17-21, 2006.

ZARAGOZA, C., BARRERA,R., CENTENO, F., TAPIA, J. A., DURÁN, E., GONZÁLEZ, M., MAÑÉ, M. C. SDS-PAGE and western blot urinary proteins in dogs with leishmaniasis. **Veterinary Research**, v. 34, p. 137-151, 2003.

ZATELLI, A., BORGARELLI, M., SANTILLI, R., BONFANTI, U., NIGRISOLI, E., ZANATTA, R., TARDUCCI, A., GUARRACI, A. Glomerular lesions in dogs infected with *Leishmania* organisms. **American Journal of Veterinary Research**, v. 64, n. 5, p. 558-561, 2003.

ZORZETTO, R. Uma doença anunciada: infecção letal causada por parasita de uma só célula, a leishmaniose visceral avança sobre as cidades brasileiras. **Pesquisa Fapesp**, v. 151, p.47-51, 2008.

CAPÍTULO II

INTRODUÇÃO

No Brasil, *Leishmania chagasi* é a causadora da LV em cães e em humanos (CUNHA; CHAGAS, 1937). Os cães constituem o reservatório mais importante da doença no ambiente doméstico (COSTA et al., 1999), por sua distribuição cosmopolita em contato íntimo com humanos e pela *Leishmania spp.* possuir intenso tropismo pela pele nesses animais, facilitando a contaminação dos flebotomíneos, os hospedeiros intermediários da doença (PRATA; SILVA, 2005).

As manifestações clínicas da doença no cão são inespecíficas, mimetizando várias outras enfermidades (MARZOCHI et al., 1985; ALBUQUERQUE et al., 2007). Os sinais clínicos mais freqüentes incluem perda de peso, apatia, linfadenopatia, hepatoesplenomegalia, lesões cutâneas e lesões oftálmicas (CIAMARELLA et al., 1997; PENA et al., 2000; AMUSATEGUI et al., 2003; AGUIAR et al., 2007). As alterações dermatológicas mais comuns são dermatites esfoliativas, úlceras cutâneas, onicogribose, pelame opaco e alopecias difusas, periorbital ou focal nas pinas (CIAMARELLA et al., 1997; FEITOSA et al., 2000). Já as alterações oftálmicas acometem principalmente o segmento anterior do olho e incluem uveítes, blefarites, conjuntivites, ceratoconjuntivites e ceratoconjuntivite seca (PENA et al., 2000).

Os animais acometidos pela doença comumente apresentam anemia normocítica normocrômica (CIRAMELLA et al., 1997; MOURA et al., 2002; AGUIAR

et al., 2007). A anemia pode estar associada à inflamação crônica, perdas sanguíneas, hemólise, seqüestro esplênico e hipoplasia ou aplasia de medula, causadas diretamente ou indiretamente pela *Leishmania spp.* (PONTES DE CARVALHO et al., 1986; LISTE-BURILLO et al., 1994; KOUTINAS et al., 1999; DE LUNA et al., 2000; PRATA; SILVA, 2005; COSTA-VAL et al., 2007).

Quanto à série leucocitária, tanto a leucocitose (SLAPPENDEL et al., 1988; CIAMARELLA et al., 1997; MOURA et al., 2002; AMUSATEGUI et al., 2003; SOARES et al., 2005; AGUIAR et al., 2007) quanto a leucopenia (AMUSATEGUI et al., 2003; SOARES et al., 2005), aumento no número de bastonetes (AGUIAR et al., 2007) já foram descritos em cães com a doença. Trombocitopenia também já foi associada à enfermidade (MOURA et al., 2002; SOARES et al., 2005).

Outro achado laboratorial freqüente é a hiperproteinemia, caracterizada pelo aumento das gamaglobulinas e hipoalbuminemia (RODRIGUEZ et al., 1987; NIETO et al., 1992; RAMOS et al., 1994). A hiperglobulinemia é causada pela ativação de células B policlonais, com conseqüente elevada produção de anticorpos contra antígenos da *Leishmania spp.* (GALVÃO-CASTRO et al., 1984; KEENAN et al., 1984). A hipoalbuminemia pode ser causada por perdas renais (PERSECHINO; OLIVEIRA, 1986; NASKIDACHVILLI; PEROUX, 1988), redirecionamento da síntese protéica para globulinas (CABASSU et al., 1988), doenças hepáticas e desnutrição (RAMOS et al., 1994; NOLI, 1999; AMUSATEGUI et al., 2003; ALMEIDA et al., 2005).

O acometimento renal é uma conseqüência comum da leishmaniose visceral canina (LVC), mas seus sinais clínicos só são observados quando há um grande comprometimento da função do órgão (CIAMARELLA et al., 1997). Foram encontradas freqüências variando de 2% a 30% de cães com LV apresentando hipercreatinemia (NIETO et al., 1992; CIAMARELLA et al., 1997; AMUSATEGUI et al., 2002; MOURA et al., 2002; COSTA et al., 2003; SOARES et al., 2005). Proteinúria e hematúria são achados comuns em cães com envolvimento renal (GARUER; DIBARTOLA, 1997), com freqüências variando de 44,4% até 100% (NIETO et al., 1992; MOURA et al., 2002; COSTA et al., 2003).

Glomerulopatias são freqüentemente encontradas em estudos morfológicos renais na LVC, com freqüências variando de 83,6% a 100% (BENDERITTER et al., 1988; TAFURI et al., 1989; POLI et al., 1991; NIETO et al.,

1992; COSTA, 2001; COSTA et al., 2003; ZATELLI et al., 2003; SOARES et al. 2005). O entendimento das glomerulopatias caninas é dificultado pela falta de adoção de critérios padronizados de classificação. Atualmente o critério de classificação de glomerulonefrite da Organização Mundial de Saúde (WHO) é o mais adotado e inclui: glomerulopatia com alterações mínimas, glomeruloesclerose segmentar focal, glomerulonefrite membranoproliferativa, glomerulonefrite proliferativa mesangial, glomerulonefrite membranosa, glomerulonefrite crescêntica, e glomerulonefrite crônica (CHURG et al., 1985).

Na LVC há um predomínio da glomerulonefrite membranoproliferativa (TAFURI et al., 1989; NIETO et al., 1992; KOUTINAS et al., 1994; MOURA et al., 2002; ZATELLI et al., 2003). Porém, um estudo realizado com 55 cães no Brasil encontrou a glomerulonefrite proliferativa mesangial com a mais comum, acometendo 32,7% dos cães (COSTA et al., 2003). Glomerulonefrite proliferativa mesangial também foi padrão mais comum em cães sem sinais clínicos da doença em um estudo realizado com 51 animais. Entretanto, nos cães com sintomatologia, a glomerulonefrite membranoproliferativa predominou (SOARES et al., 2005). Amiloidose renal é um achado pouco freqüente em cães com a doença (POLI et al., 1991).

Além do acometimento glomerular, alterações intersticiais e tubulares também estão presentes na nefropatia da LVC (CHUNG et al., 1940; TAFURI et al., 1989; POLI et al., 1991; NIETO et al., 1992; COSTA et al., 2003; SOARES et al., 2005). Alterações intersticiais descritas incluem infiltrado inflamatório linfoplasmocítico e fibrose intersticial (CHUNG et al., 1940; POLI et al., 1992; MOURA et al., 2002). As alterações tubulares foram caracterizadas como degeneração hidrópica ou vacuolar, atrofia, dilatação, necrose, presença de cilindros hialinos e calcificação medular (TAFURI et al., 1989; POLI et al., 1991; SOARES et al., 2005).

A patogênese da nefropatia na LVC ainda não foi totalmente elucidada (COSTA et al., 2003). Está comumente associada à deposição de imunocomplexos circulantes na membrana basal glomerular (TAFURI et al., 1989). Entretanto, há evidências que a resposta imune celular também esteja envolvida (COSTA et al., 2000).

O objetivo desse estudo foi avaliar as alterações clínico-laboratoriais e histopatológicas renais com o intuito de melhor compreender a nefropatia presente na LVC.

MATERIAL E MÉTODOS

Seleção dos animais

Foram selecionados 66 cães diagnosticados com LV no período de 06/12/2006 a 21/09/2007 em inquérito realizado pela Diretoria de Vigilância Ambiental (DIVAL) do Distrito Federal. Os animais eram procedentes das regiões administrativas de Vila Rabelo I e II, Sobradinho II, Serra Azul, Planaltina, Lago Norte, Fercal, Córrego Ouro e Lago Norte. O diagnóstico da LV utilizado pelo DIVAL foi o teste RIFI, sendo considerado positivo o animal com titulação sorológica igual ou superior a 1:40 (BRASIL, 2005).

Todos os animais com diagnóstico sorológico positivo foram submetidos ao exame parasitológico em esfregaço de medula óssea, baço e linfonodo ou PCR em amostras de sangue total. Primeiramente, foi realizada a pesquisa de formas amastigotas do parasito em esfregaços citológicos. Os animais com resultado da pesquisa negativa tiveram, ainda, seu sangue total submetidos ao exame de PCR. No total, foram incorporados nesse estudo 27 animais que possuíam teste RIFI positivo e a presença de parasitas nos esfregaços ou positivos na PCR.

Os animais, machos e fêmeas, de idade ignorada, diferentes raças, portes e pesos, foram divididos em dois grupos: assintomáticos e sintomáticos (apresentaram pelo menos dois dos seguintes sinais clínicos: linfadenopatia, hepatomegalia e/ou esplenomegalia e dermatopatias). O grupo sintomático incluiu 14 animais e o grupo assintomático 13. O grupo controle consistiu de 10 animais da raça Labrador, machos e fêmeas, com idade variando de 2 a 8 anos, residentes no Distrito Federal e com RIFI e PCR negativos para a enfermidade.

Colheita das amostras

Nas instalações do DIVAL, os cães foram submetidos a exame físico e tiveram amostras de sangue e urina coletadas antes da realização da eutanásia. Foram colhidos 10 mililitros (ml) de sangue total da veia cefálica ou jugular, dependendo do porte do animal, e colocados em recipientes distintos: 2ml em tubo com o anticoagulante ácido dietilenoaminotetracético (EDTA) para realização de hemograma, 2ml em tubo com anticoagulante EDTA para realização de exame de

PCR, se necessário, e 6ml em tubo sem anticoagulante, para separação de soro e posterior realização de exames bioquímicos. As amostras de urina (10 a 20 ml) foram coletadas por micção natural nas fêmeas e armazenadas em tubos coletores estéreis e nos machos coletadas por cateterismo com auxílio de sondas uretrais e seringas de 10ml. Por fim, os animais foram eutanasiados com administração intravenosa de tiopental sódico (25mg/Kg) e cloreto de potássio (dose efeito) até parada cárdio-respiratória atestada por auscultação. Todos os cães portadores de LV são rotineiramente eutanasiados pelo Centro de Zoonoses para impedir a transmissão da doença, de acordo com a legislação federal vigente (BRASIL, 2003).

Exame Parasitológico e PCR

A pesquisa de formas amastigotas do parasito foi realizada em esfregaços citológicos de baço, medula óssea e linfonodos, corados com panótico rápido e examinados à microscopia de luz.

O exame de PCR foi processado pelo Laboratório de Microbiologia Molecular da Universidade de Brasília. Extraíu-se DNA das amostras sanguíneas por meio de *kits* comerciais (QIAmp DNA blood mini kit®, Qiagen, EUA). Para padronização do teste, DNA de um cão com diagnóstico parasitológico positivo para *Leishmania* spp. foi utilizado. DNA de um cão saudável e de dois cães positivos para erliquiose também foram testados como controles negativos para confirmar a especificidade do teste. PCR foi realizada usando-se três oligonucleotídeos (*forward* GGG TAG CGT TCT GCG AA e uma mistura na proporção 1:1 de oligonucleotídeos: *reverse* CCG CCC CTA TTT TAC ACC AAC CCC e *reverse* GGC CCA CTA TAT TAC ACC AAC CCC) que se pareavam na porção inicial de replicação das duas bandas da molécula minicircular de KDNA do parasita. A mistura de reação consistiu de aproximadamente 10ng de DNA, tampão de PCR, 2,0mM MgCl₂, 250µM de cada desoxinucleotídeo, 0,6µM de cada *primer* e 1,5 unidade de *Taq* DNAPolimerase em volume total de 25µL. PCR foi realizado em um termociclador (FTGene5D® – Techgene, Reino Unido), utilizando o seguinte programa: 94°C por 30 segundos, 63°C por 30 segundos e 72°C por 10 segundos, em um total de 40 ciclos. Os produtos da PCR foram submetidos a eletroforese em gel de agarose a 2% corado com brometo de etídio, o que resultou em bandas com 120bp nos casos positivos (DISCH et al., 2003).

Hemograma, exames bioquímicos e urinálise

Os exames de hemograma e urinálise foram realizados no mesmo dia da colheita no Laboratório de Patologia Clínica da Universidade de Brasília. As amostras de soro foram separadas por meio de centrifugação e armazenadas, congeladas para análise posterior dentro de um prazo máximo de 45 dias após a colheita.

Por meio de contador automático de células (modelo CC550-CELM®, Brasil), foram determinados os números totais de eritrócitos, leucócitos e a concentração de hemoglobina. O valor do hematócrito foi obtido por microcentrifugação capilar de sangue com EDTA. Esfregaços sanguíneos corados por *Giemsa* ou Panótico propiciaram a realização da contagem diferencial de leucócitos em 100 (cem) células sanguíneas. O volume corpuscular médio (VCM) e a concentração corpuscular média de hemoglobina (CHCM) foram determinados por cálculo padrão. O número de plaquetas foi obtido por contagem manual em hemocítômetro e conferido em lâmina de esfregaço sanguíneo.

As dosagens bioquímicas foram realizadas utilizando kits comerciais (Labtest Diagnóstica S. A., Lagoa Santa, M.G., Brasil): uréia, creatinina, proteína total e albumina. A globulina foi quantificada pela diferença entre a proteína total e a albumina. Os valores foram determinados em analisador bioquímico semi-automático (Bio Plus® 2000, Bio Plus, Brasil).

Na urinálise foram realizados exames físicos, químicos e de sedimento das amostras. O exame químico, que incluiu quantificação de proteínas, glicose, acetona, sangue oculto e determinação do pH, foi efetuado com fita reagente (Uriquest® Labtest Diagnóstica S. A., Lagoa Santa, M.G., Brasil). A densidade urinária foi determinada em refratômetro e o sedimento avaliado com auxílio de microscopia de luz após centrifugação da amostra.

Histopatologia renal

Todos os animais foram necropsiados pela técnica empregada rotineiramente no Laboratório de Patologia Animal da Universidade de Brasília. Os rins foram analisados macroscopicamente e microscopicamente (análise ao microscópio de luz). Os rins foram rapidamente removidos e em seguida retirados fragmentos para

histopatologia, fixados em solução de formol tamponado a 10%. Posteriormente, os fragmentos foram incluídos em parafina, cortados com 5 µm de espessura e corados pelas técnicas hematoxilina-eosina, ácido periódico de *Schiff* (PAS) e prata metanamina (PAMS). As amostras que aparentaram apresentar depósito de material amilóide foram coradas também pela técnica de vermelho congo (VG).

As lesões glomerulares foram classificadas segundo o critério de classificação das glomerulonefrites pela WHO que inclui: glomerulopatia com alterações mínimas, glomeruloesclerose segmentar focal, glomerulonefrite membranoproliferativa, glomerulonefrite proliferativa mesangial, glomerulonefrite membranosa, glomerulonefrite crescêntica, e glomerulonefrite crônica (CHURG et al., 1985). A distribuição e a intensidade das lesões foram classificadas semi-quantitativamente em uma escala de 0 a 4, em que 0 indica ausência de alterações; 1 = raro, 2 = discreta, 3 = moderada e 4 = severa. As alterações tubulares e intersticiais foram classificadas pela mesma escala semi-quantitativa.

Não foram realizadas amostras de tecido renal do grupo controle, visando evitar dano e sofrimento desnecessários aos animais, uma vez que, em grupos controle nunca foram observadas alterações glomerulares (NIETO et al., 1992; COSTA, 2001; COSTA et al., 2003).

Análise Estatística

Foi utilizado o programa *GraphPad Prism 4.0* para análise de variância (ANOVA) e o teste de *Tukey* para comparação das médias. Para análise não-paramétrica, utilizou-se ANOVA e o teste de *Kolmogorov-Smirnov*. A análise dos esfregaços citológicos foi realizada pelo teste qui-quadrado. Foram empregados os níveis de significância de 5% para todos os testes.

RESULTADOS

Alterações clínicas

Dos 27 animais com LVC incluídos nesse estudo, 52% eram machos e 48% fêmeas. As alterações clínicas mais frequentes foram mucosas hipocoradas (59,3%), linfadenopatia generalizada (55,6%), alterações dermatológicas (55,6%), esplenomegalia (55,6%), hepatomegalia (33,3%), condição corporal magra (33,3%), alterações oftálmicas (29,6%), linfadenopatia focal (25,9%), condição corporal caquética (18,5%) (figura 1), seguida de mucosas ictéricas, anasarca e paraparesia dos membros pélvicos com 3,7% cada uma.

Com relação às alterações dermatológicas, 22,2% dos cães apresentaram úlceras cutâneas, 18,5% crostas e descamações, 18,5% alopecia em pina de orelha, 11,1% alopecia generalizada, 11,1% onicogribose e 7,4% alopecia periocular (Figuras 2, 3 e 4). Em relação às alterações oculares, 18,5% apresentaram secreção ocular mucóide, 14,8% quemose, 7,4% secreção ocular purulenta e 3,7% com hifema e edema de córnea cada um.

Exame Citológico

No grupo sintomático, em 100% (14/14) dos animais foram encontradas formas amastigotas do parasito em esfregaços citológicos de medula óssea, ou linfonodos ou baço. Enquanto no grupo assintomático, apenas 62% (8/13) dos animais apresentaram o mesmo resultado. A comparação entre os grupos apresentou diferença significativa ($p \leq 0,05$), indicando que o parasito foi mais facilmente encontrado nos esfregaços citológicos dos cães sintomáticos.

Reação em cadeia da Polimerase

O exame de PCR foi realizado em um total de 44 cães, destes 23 foram incluídos no experimento. Em 18 casos, mesmo com resultado parasitológico positivo, amostras foram submetidas ao exame molecular para avaliação da confiabilidade do teste. Amostras com resultado molecular positivo estiveram



Figura 1. Cão com LV apresentando severa caquexia – Brasília, 2007.



Figura 2. Alopecia e úlceras cutâneas em cão com LV – Brasília, 2007



Figura 3. Cão com LV demonstrando alopecia na face e no pavilhão auricular– Brasília, 2007.



Figura 4. Onicogribose pronunciada em animal com LV – Brasília, 2007.

presentes em 11 cães do grupo sintomático, todos com parasitológico positivo. No grupo assintomático 12 casos foram submetidos a PCR, destes 5 animais apresentaram exame citológico negativo e PCR positivo. O exame de PCR com resultado negativo eliminou 21 animais do experimento.

Hematologia

O valor médio e desvio padrão das variáveis do eritrograma dos cães grupos controle, assintomáticos e sintomáticos estão expressos na tabela 3. Os dados demonstraram que os valores do hematócrito, da contagem global das hemácias e da concentração da hemoglobina dos animais assintomáticos e sintomáticos apresentaram-se abaixo dos padrões de normalidade para a espécie. Houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) nesses parâmetros entre o grupo controle e os grupos compostos pelos animais com LVC. Não houve diferença significativa entre o grupo assintomático e sintomático ($p > 0,05$). Os valores do VCM e do CHCM também não apresentaram diferenças entre os grupos ($p > 0,05$), indicando uma anemia do tipo normocítica normocrômica nos cães com LV.

Tabela 3. Média e desvio padrão das variáveis do eritrograma do grupo controle (GC) e dos cães com leishmaniose visceral assintomáticos (GA) e sintomáticos (GS) – Brasília, 2007.

Variável	GC	GA	GS	Referência*
Hematócrito (%)	46,40 ± 2,46 ^a	32,85 ± 8,81 ^b	30,79 ± 9,18 ^b	37-55
Hemácias ($\times 10^6 / \mu\text{l}$)	7,20 ± 0,47 ^a	5,51 ± 1,99 ^b	5,28 ± 1,51 ^b	5,5-8,5
Hemoglobina (g/dl)	15,83 ± 0,72 ^a	10,75 ± 3,27 ^b	10,92 ± 4,34 ^b	12-18
VCM (fl)	64,61 ± 4,37 ^a	61,11 ± 8,94 ^a	58,80 ± 11,89 ^a	60-77
CHCM (%)	34,17 ± 1,80 ^a	32,63 ± 4,59 ^a	35,14 ± 8,93 ^a	32-36

Letras diversas na mesma linha diferem entre si ($p \leq 0,05$); VCM = volume corpuscular médio; CHCM = concentração corpuscular média de hemoglobina *FELDMAN, B. F., ZINK, J. G., JAIN, N. C. **Schalm's Veterinary Hematology**. 5 ed., Baltimore: Williams & Wilkins, 2000. 1344p.

O valor médio e o desvio padrão das variáveis do leucograma dos cães grupos controle, assintomáticos e sintomáticos estão expressos na tabela 4. Foi observada redução na contagem de linfócitos nos animais assintomáticos e sintomáticos em comparação ao grupo controle ($p \leq 0,05$), entretanto não esteve presente necessariamente uma linfopenia nos animais com a doença. Não houve

diferença significativa entre o grupo assintomático e o sintomático ($p > 0,05$). Todos os demais parâmetros avaliados (leucócitos totais, neutrófilos, monócitos, eosinófilos, basófilos, bastonetes e plaquetas) não apresentaram diferenças entre os grupos ($p > 0,05$).

Tabela 4. Média e desvio padrão das variáveis do leucograma do grupo controle (GC) e dos cães com leishmaniose visceral assintomáticos (GA) e sintomáticos (GS) – Brasília, 2007.

Variável	GC	GA	GS	Referência*
Leucócitos ($\times 10^3 / \mu\text{l}$)	$9,84 \pm 1,52^a$	$10,13 \pm 5,26^a$	$11,43 \pm 3,02^a$	6,0 - 17,0
Bastonetes ($\times 10^3 / \mu\text{l}$)	0 ± 0^a	$0,07 \pm 0,14^a$	$0,25 \pm 0,38^a$	0 - 0,30
Neutrófilos ($\times 10^3 / \mu\text{l}$)	$5,27 \pm 1,29^a$	$7,45 \pm 4,62^a$	$8,13 \pm 2,94^a$	3,0 - 11,5
Linfócitos ($\times 10^3 / \mu\text{l}$)	$3,42 \pm 1,39^a$	$1,39 \pm 0,92^b$	$1,68 \pm 1,22^b$	1,0 - 4,8
Monócitos ($\times 10^3 / \mu\text{l}$)	$0,53 \pm 0,26^a$	$0,73 \pm 0,42^a$	$0,73 \pm 0,54^a$	0,15 - 1,35
Eosinófilos ($\times 10^3 / \mu\text{l}$)	$0,62 \pm 0,48^a$	$0,47 \pm 0,37^a$	$0,52 \pm 0,48^a$	0,1 - 1,25
Basófilos ($\times 10^3 / \mu\text{l}$)	0 ± 0^a	$0,01 \pm 0,02^a$	$0,08 \pm 0,22^a$	Raro
Plaquetas ($\times 10^3$)	$247,3 \pm 37,77^a$	$230,08 \pm 141,08^a$	$186,07 \pm 140,96^a$	150 - 450

Letras diversas na mesma linha diferem entre si ($p \leq 0,05$); *FELDMAN, B. F., ZINK, J. G., JAIN, N. C. **Schalm's Veterinary Hematology**. 5 ed., Baltimore: Williams & Wilkins, 2000, 1344p.

As principais alterações no hemograma dos cães dos grupos assintomático e sintomático estão expressas na tabela 5. Verificou-se que parte significativa de animais de ambos os grupos apresentaram anemia, trombocitopenia e diminuição na contagem de linfócitos. Leucopenia foi observada em 3 cães (23%) do grupo assintomático e em 1 cão (7%) do grupo sintomático. Leucocitose esteve presente em 2 cães (14%) e linfocitose em 1 cão (7%), apenas no grupo sintomático. O aumento no número de basófilos e bastonetes também foram mais expressivos no grupo sintomático, observado em 3 cães (22%) e em 6 cães (43%) respectivamente. Neutropenia esteve presente apenas no grupo assintomático, ocorrendo somente em 1 cão (8%). Na avaliação dos esfregaços sanguíneos não foram encontradas formas amastigotas de *Leishmania spp.* em nenhum dos grupos estudados.

Tabela 5. Frequência das alterações encontradas no hemograma dos cães com leishmaniose visceral assintomáticos e sintomáticos – Brasília, 2007.

Alterações Laboratoriais	Assintomáticos %	Sintomáticos %
Anemia	69	71
Leucopenia	23	7
Leucocitose	0	14
Neutropenia	8	0
Neutrofilia	15	21
Linfopenia	39	29
Linfocitose	0	7
Monocitose	8	14
Eosinofilia	8	7
Basofilia	8	21
Bastonetes	23	43
Trombocitopenia	31	50

Não houve diferença significativa entre os grupos ($p > 0,05$)

Bioquímica sérica

Na tabela 6 observa-se a média e o desvio padrão das concentrações séricas de uréia, creatinina, proteína total, albumina e globulina dos grupos controle, assintomáticos e sintomáticos. Não houve diferença nas dosagens de uréia e creatinina entre os grupos ($p > 0,05$). Já nas dosagens de proteína total e de suas frações houve diferença entre o grupo controle e o grupo sintomático ($p \leq 0,05$). Essa análise indicou que os cães do grupo sintomático possuem valores maiores de proteína total e globulina e valores menores de albumina que o grupo controle.

Tabela 6. Média e desvio padrão das variáveis de dosagens bioquímicas do grupo controle (GC) e dos cães com leishmaniose visceral assintomáticos (GA) e sintomáticos (GS) – Brasília, 2007.

Variável	CG	GA	GS	Referência*
Uréia (mg/dl)	44,10 ± 10,40 ^a	57,38 ± 47,29 ^a	63,14 ± 57,65 ^a	21,4 – 59,92
Creatinina (mg/dl)	1,18 ± 0,10 ^a	1,20 ± 1,49 ^a	1,27 ± 1,38 ^a	0,5 - 1,5
Proteína Total (g/dl)	6,9 ± 20,33 ^a	7,88 ± 1,90 ^a	8,84 ± 1,71 ^b	6,0 – 8,0
Albumina (g/dl)	2,88 ± 0,22 ^a	2,22 ± 0,86 ^a	2,14 ± 0,72 ^b	2,6- 3,3
Globulina (g/dl)	4,05 ± 0,34 ^a	5,66 ± 2,16 ^a	6,70 ± 1,89 ^b	2,7 – 4,4

Letras diversas na mesma linha diferem entre si ($p \leq 0,05$); * KANEKO, J. J., HARVEY, J. W., BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5ed. San Diego: Academic Press, 1997, 932p.

Nenhum animal do grupo controle apresentou alterações nas dosagens bioquímicas. Observou-se valores séricos de uréia aumentados em 3 animais (21%) do grupo assintomático e em 4 animais (31%) do grupo sintomático. Já a hipercreatinemia esteve presente em 2 cães (15%) do grupo assintomático e em 3 cães (21%) do grupo sintomático.

Valores aumentados de proteína total sérica foram observados em cães do grupo sintomático (64%) e cães do grupo assintomático (46%). O aumento da globulina sérica foi mais expressivo no grupo sintomático, acometendo 13 cães (93%) e com a média mais elevada. A hipoalbuminemia apresentou frequência semelhante entre os grupos com LV, acometendo 9 cães de cada grupo. As principais alterações nas dosagens bioquímicas séricas estão demonstradas na tabela 7.

Tabela 7. Frequência das principais alterações bioquímicas observadas em cães com leishmaniose visceral assintomáticos e sintomáticos – Brasília, 2007.

Alterações Laboratoriais	Assintomáticos %	Sintomáticos %
Azotemia	15	21
Hiperproteinemia	46	64
Hipoalbuminemia	69	64
Hiperglobulinemia	69	93

Urinalise

Na tabela 8 observa-se a média e o desvio padrão da densidade e do pH urinário encontrados nos animais do experimento. Não houve diferença entre os grupos em relação à densidade urinária ($p > 0,05$). Entretanto o pH urinário apresentou diferença entre o grupo controle e os grupos assintomático e sintomático ($p \leq 0,05$). O grupo controle apresentou pH urinário mais alcalino que os outros grupos.

Houve diferença entre o grupo controle e os grupos assintomático e sintomático na análise da proteína, do sangue oculto e das hemácias na urina ($p \leq 0,05$). Não houve diferença entre o grupo assintomático e sintomático ($p > 0,05$). Quanto aos leucócitos presentes na urina, houve diferença entre o grupo controle e o grupo sintomático ($p \leq 0,05$). Estes achados demonstraram que há maior presença de proteínas, sangue oculto e hemácias na urina de cães com LVC em comparação

aos animais do grupo controle. Os leucócitos apresentaram-se mais elevados na urina de cães com sinais clínicos da doença. Não houve diferença entre os grupos quanto às variáveis bactérias e cilindros granulosos ($p > 0,05$). As alterações mais importantes encontradas na urinálise são demonstradas na tabela 9.

Tabela 8. Média e desvio padrão das variáveis de densidade urinária (DU) e do pH do grupo controle (GC) e dos cães com leishmaniose visceral assintomáticos (GA) e sintomáticos (GS) – Brasília, 2007.

Variável	CG	GA	GS	Referência*
DU	1.036 ± 17,60 ^a	1043 ± 17,64 ^a	1.042 ± 19,64 ^a	1,001 – 1,065
pH	7,75 ± 1,18 ^a	5,58 ± 0,76 ^b	6,19 ± 0,80 ^b	5,0 -6,0

Letras diversas na mesma linha diferem entre si ($p \leq 0,05$); *OSBORNE, C. A., STEVENS, J. B., LULICH, J. P., ULRICH, L. K., BIRD, K. A., KOEHLER, L. A., SWANSON, L. L. A clinician's analysis of urinalysis. In: OSBORNE, C. A.; FINCO, D. R. **Canine and Feline Nephrology and Urology**. 1 ed. Baltimore: Williams & Wilkins. 1995. p.136-205.

Tabela 9. Frequência das principais alterações encontradas na urinálise dos cães com leishmaniose visceral assintomáticos (n=13) e sintomáticos (n=14) – Brasília, 2007.

Alterações Laboratoriais	Assintomáticos %	Sintomáticos %
Proteinúria (≥ 100 mg/dl)	23 ^a	36 ^a
Sangue Oculto ($\geq +$)	38 ^a	64 ^a
Hemácias ($\geq +$)	31 ^a	29 ^a
Leucócitos ($\geq +$)	0 ^a	29 ^b
Bactérias ($\geq ++$)	8 ^a	7 ^a
Cilindros Granulosos	8 ^a	7 ^a

Letras diversas na mesma linha diferem entre si ($p \leq 0,05$)

Alterações histopatológicas renais

Alterações intersticiais e tubulares

Dos 27 animais estudados, 19 (70,4%) apresentaram alteração inflamatória intersticial composta por células mononucleares (linfócitos e plasmócitos) variando de rara a severa, sempre com distribuição multifocal (Figura 11A). Destes, 10 (52,6%) pertenciam ao grupo sintomático e 9 (47,4%) ao assintomático. Fibrose intersticial (Figura 11A) foi observada em 3 casos variando de discreta (n=2) a

moderada (n=1). Todos os cães com fibrose pertenciam ao grupo sintomático. Não houve diferença entre os casos ($p>0,05$) sem alteração glomerular e os com glomerulonefrites, indicando que a presença de infiltrado inflamatório intersticial independe das alterações glomerulares.

As lesões tubulares estavam presentes em 11 casos (40,7%), desses, 6 (54,6%) eram do grupo sintomático e 5 (45,4%) do grupo assintomático. As alterações mais freqüentes nos animais sintomáticos foram representadas por cilindros hialinos intratubulares (Figura 11A) variando de raro a moderado em 5 cães (35,7%), presença intraepitelial tubular de gotículas hialinas de intensidade discreta em 2 animais (14,3%), degeneração hidrópica discreta em 1 cão (7,1%), e mineralização tubular moderada (Figura 11A) também em 1 (7,1%). Nos animais assintomáticos as alterações tubulares observadas foram cilindros hialinos na luz tubular variando de raro a discreto em 3 cães (23,1%), presença intraepitelial tubular de gotículas hialinas de intensidade rara a discreta em 2 casos (15,4%), cilindros hemáticos discretos em 1 cão (7,7%) e edema do epitélio tubular raro em apenas 1 animal (7,7%). Não houve diferença ($p>0,05$) entre os casos sem alterações glomerulares e os com glomerulonefrites, indicando que também não há dependência entre alterações tubulares e alterações glomerulares.

Todos os animais com alterações tubulares apresentaram infiltrado inflamatório intersticial. As alterações tubulares e intersticiais estiveram presentes em todos os padrões de glomerulonefrites, inclusive nos casos sem alteração glomerular.

A deposição de lipofuscina no interior das células tubulares (Figura 11B) esteve presente em 15 casos (55,6%), apresentando intensidade de rara a discreta. O grupo assintomático abrangeu 6 casos (40%) e o grupo sintomático 9 (60%). Não houve diferença ($p>0,05$) entre os casos sem alterações glomerulares e os com glomerulonefrites, indicando que a deposição de lipofuscina não possui relação com as alterações glomerulares.

Alterações glomerulares

Dozenove animais (70,4%), dos 27 cães com LV estudados, apresentaram alterações glomerulares. Destes, 9 (47,4%) pertenciam ao grupo assintomático e 10 (52,6%) ao sintomático. As alterações glomerulares encontradas nesse estudo,

classificadas de acordo com os critérios da Organização Mundial de Saúde (CHURG et al., 1985), foram: glomerulonefrite membranoproliferativa, glomeruloesclerose segmentar focal, glomerulonefrite proliferativa mesangial e glomerulonefrite membranosa, conforme ilustrado na Figura 12. Não foi encontrado nenhum animal com glomerulonefrite crônica, amiloidose renal ou formas amastigotas do parasito em tecido renal. Não houve diferença ($p>0,05$) no número de casos sem alterações glomerulares entre o grupo assintomático e o sintomático, indicando que as alterações glomerulares não estavam relacionadas a sintomatologia clínica.

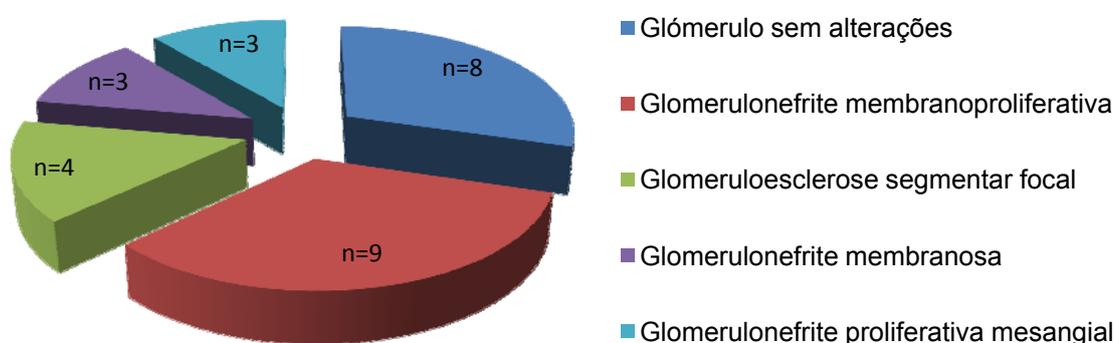


Figura 12. Frequência das glomerulopatias em 27 cães naturalmente infectados com leishmaniose visceral – Brasília, 2007.

Glomerulonefrite membranoproliferativa foi a mais freqüente, sendo observada em 9 casos (47,4%). Destes, 4 cães (44,4%) pertenciam ao grupo assintomático e 5 (50%) ao sintomático. Proliferação celular e evidente expansão da matriz mesangial foram visualizadas, associadas a alterações da parede capilar glomerular (Figura 13A). A coloração PAS permitiu visualizar depósito de material PAS positivo ao redor das alças capilares, enquanto que na coloração PAMS, foram visualizados espessamento e duplicação da membrana basal glomerular (Figura 13B). Essas alterações apresentaram intensidade discreta em quatro animais e moderada em cinco. Vários tipos de lesões foram encontrados nesses animais e estão representados na tabela 10. Todos os 5 animais azotêmicos apresentaram glomerulonefrite do tipo membranoproliferativa. Além disso, 5 dos 8 casos com proteinúria acentuada $\geq 100\text{mg/dl}$ (++) ou mais) também possuíam esse padrão de glomerulonefrite.

Glomeruloesclerose segmentar focal foi observada em 4 casos (21%). Destes, 2 cães (22,2%) pertenciam ao grupo assintomático e 2 (20%) ao sintomático. Todos os animais classificados com glomeruloesclerose focal apresentaram, à microscopia de luz, esclerose do tufo glomerular associadas a áreas de colapsos do lúmen capilar de distribuição focal (Figura 14A). Observou-se material PAS positivo nessas áreas focais de glomeruloesclerose, sugerindo a deposição de glicoproteínas. Não foram observadas alterações na membrana basal glomerular na coloração PAMS. As alterações glomerulares, tubulares e intersticiais observadas nesses animais estão representadas na tabela 11. Proteinúria de 30mg/dl (+) esteve presente em 2 dos 3 casos em que predominava esse tipo de glomerulonefrite.

Glomerulonefrite proliferativa mesangial foi observada em 3 casos (15,8%). Destes, 1 cão (11,1%) pertenciam ao grupo assintomático e 2 (20%) ao sintomático. Todos os animais apresentaram proliferação de células mesangiais e expansão da matriz mesangial sem alterações de parede capilar (Figura 14B), distribuídas de forma difusa por todo o glomérulo e com intensidade discreta. Comumente, o tufo glomerular preencheu grande parte do espaço de *Bowman*. A parede dos capilares glomerulares apresentou-se normal na coloração PAS e PAMS. As alterações glomerulares, tubulares e intersticiais observadas nesses animais estão representadas na tabela 12. Proteinúria de 30mg/dl (+) esteve presente em 3 dos 4 casos em que predominava esse tipo de glomerulonefrite.

Glomerulonefrite membranosa foi observada em 3 casos (15,8%). Destes, 2 cães (22,2%) pertenciam ao grupo assintomático e 1 (10%) ao sintomático. Todos os animais apresentaram espessamento difuso da membrana basal glomerular com arquitetura glomerular preservada e sem aumento da celularidade mesangial. Comumente, o lúmen capilar encontrava-se diminuído ou até mesmo obliterado (Figura 15A). A coloração PAS permitiu visualizar depósito de material PAS positivo ao redor das alças capilares (Figura 15B), enquanto que na coloração PAMS, foram visualizados espessamento e duplicação da membrana basal glomerular. Essas alterações distribuíam-se de forma difusa por todo o glomérulo e apresentaram intensidade discreta em dois animais e moderada em um. As alterações glomerulares, tubulares e intersticiais observadas nesses animais estão representadas na tabela 13. Todos os animais acometidos por esse tipo de glomerulonefrite apresentaram proteinúria, dois casos apresentaram valores de

30mg/dl (+), enquanto um caso apresentou concentração protéica urinária de 100mg/dl (++)

Dos 27 casos estudados, em 8 animais (29,6%) não foram encontradas alterações glomerulares, apesar de alterações intersticiais estarem presentes. Quatro casos (50%) pertenciam ao grupo assintomático e ou outros quatro (50%) do grupo sintomático. Apenas 1 animal apresentou infiltrado inflamatório mononuclear multifocal de intensidade moderada. Outros dois animais apresentam raros depósitos de lipofuscina em células tubulares. Alteração tubular estava presente como edema tubular raro, no mesmo animal que apresentou o infiltrado inflamatório intersticial.

Tabela 10. Frequência (%) e intensidade das lesões histopatológicas renais em cães com leishmaniose visceral canina apresentando glomerulonefrite membranoproliferativa – Brasília, 2007.

Alterações Histopatológicas	Intensidade			
	Raro	Discreto	Moderado	Severo
Espessamento da cápsula de <i>Bowman</i>	0	0	44,4	0
Mineralização da cápsula de <i>Bowman</i>	0	0	11,1	0
Edema glomerular	11,1	22,2	0	0
Esclerose segmentar focal	11,1	33,3	0	0
Crescente glomerular	11,1	0	0	0
Infiltrado inflamatório intersticial	33,3	22,2	22,2	11,1
Fibrose intersticial	11,1	11,1	11,1	0
Gotículas hialinos intraepiteliais	11,1	11,1	0	0
Cilindros hialinos	11,1	33,3	22,2	0
Cilindros hemáticos	11,1	0	0	0
Mineralização tubular	0	0	11,1	0
Lipofuscina	33,3	11,1	11,1	0

Tabela 11. Frequência (%) e intensidade das lesões histopatológicas renais em cães com leishmaniose visceral canina apresentando glomeruloesclerose segmentar focal – Brasília, 2007.

Alterações Histopatológicas	Intensidade			
	Raro	Discreto	Moderado	Severo
Espessamento da cápsula de <i>Bowman</i>	75	0	0	0
Edema de podócitos	0	25	0	0
Esclerose glomerular total	75	0	0	0
Infiltrado inflamatório intersticial	0	100	0	0
Cilindros hialinos	25	25	0	0
Lipofuscina	25	0	25	0

Tabela 12. Frequência (%) e intensidade das lesões histopatológicas renais em cães com leishmaniose visceral canina apresentando glomerulonefrite proliferativa mesangial– Brasília, 2007 .

Alterações Histopatológicas	Intensidade			
	Raro	Discreto	Moderado	Severo
Espessamento da cápsula de <i>Bowman</i>	66,7	0	0	0
Esclerose glomerular total	66,7	0	0	0
Infiltrado inflamatório intersticial	0	100	0	0
Cilindros hialinos	0	0	33,3	0
Gotículas hialinas intraepiteliais	0	33,3	0	0
Lipofuscina	0	0	0	33,3

Tabela 13. Frequência (%) e intensidade das lesões histopatológicas renais em cães com leishmaniose visceral canina apresentando glomerulonefrite membranosa – Brasília, 2007.

Alterações Histopatológicas	Intensidade			
	Raro	Discreto	Moderado	Severo
Espessamento da cápsula de <i>Bowman</i>	0	66,7	0	0
Esclerose glomerular total	33,3	0	0	0
Infiltrado inflamatório intersticial	66,7	33,3	0	0
Degeneração hialina	0	33,3	0	0
Lipofuscina	33,3	33,3	0	0

Amiloidose Renal

Um total de 2 amostras com alterações suspeitas de depósito de amilóide, à coloração de hematoxilina – eosina, foram submetidas a coloração de vermelho congo. Não se confirmou amiloidose renal em nenhum desses casos.

Correlação entre achados laboratoriais e histopatológicos

A tabela 14 correlaciona os padrões de glomerulonefrites com o valor médios de uréia, creatinina, proteína total, albumina e globulina encontrados na dosagem bioquímica e o valor médio de proteinúria na urinálise.

Os animais com glomerulonefrite membranoproliferativa apresentaram valores médios de uréia e creatinina séricos bem mais elevados que nos outros padrões de glomerulopatias. Todos os 5 animais azotêmicos desse estudo apresentaram esse padrão de glomerulonefrite. Além disso, esse grupo tendeu a apresentar proteinúria mais significativa e valores menores de albumina sérica. Os animais com

glomerulonefrite membranosa também apresentaram valores baixos para a albumina sérica.

Os casos sem alterações glomerulares apresentaram proteinúria expressiva. Entretanto, 3 dos 8 animais desse grupo apresentaram presença de quantidade significativa de sangue oculto e hematúria, além de 1 animal também ter expressiva quantidade de leucócitos na urina.

Tabela 14. Médias dos exames bioquímicos e de proteinúria por glomerulopatia observada em 27 cães com leishmaniose visceral – Brasília, 2007.

Glómerulos	n	Uréia (mg/dl)	Creatinina (mg/dl)	PT (g/dl)	Albumina (g/dl)	Globulina (g/dl)	Proteinúria (mg/dl)
NORMAL	8	36	0,7	8,3	2,7	5,6	86,3
GNMP	9	115	2,3	8,3	1,8	5,9	110
GEFS	4	36	0,9	9,3	2,1	7,2	20
GNPM	3	31	0,8	8,5	2,5	4,3	30
GNMB	3	19	0,7	9,4	1,8	7,6	53

GNMP: glomerulonefrite membranoproliferativa; GEFS: glomeruloesclerose focal segmentar; GNPM: Glomerulonefrite proliferativa mesangial; GNMB: glomerulonefrite membranosa

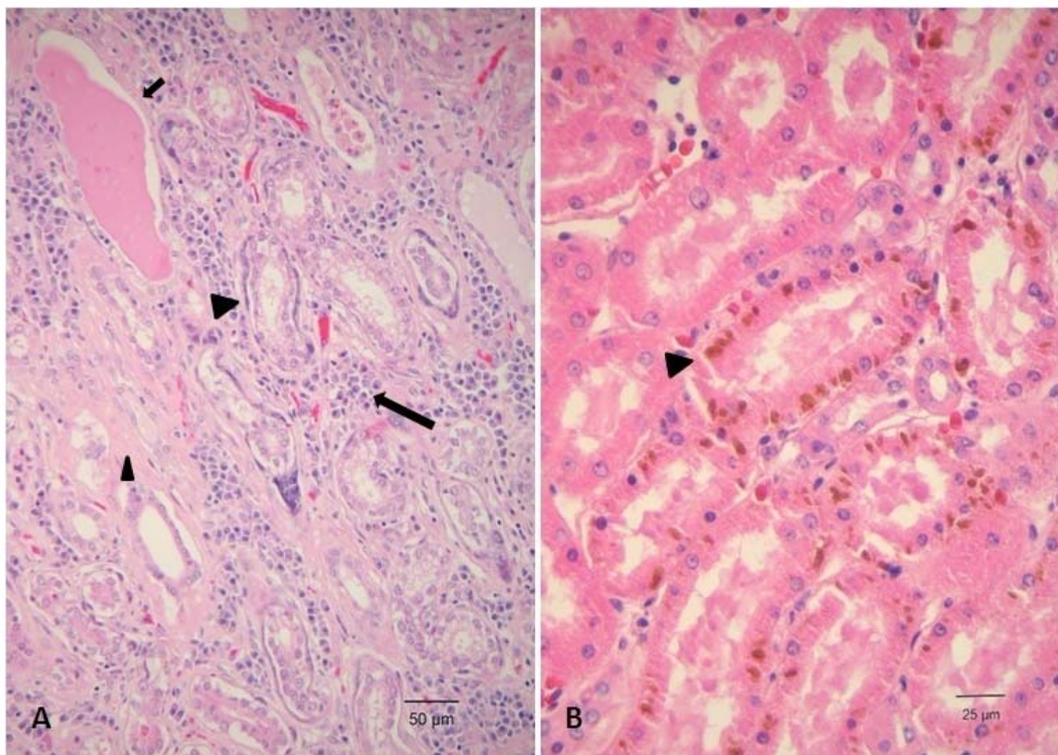


Figura 11. Alterações intersticiais e tubulares em cão com leishmaniose visceral canina. **A.** Infiltrado inflamatório mononuclear (seta maior), cilindro hialino em luz tubular (seta menor), mineralização tubular (cabeça de seta larga) e fibrose intersticial (cabeça de seta estreita). Coloração HE. **B.** Depósito de lipofuscina intratubular (cabeça de seta). Coloração HE.

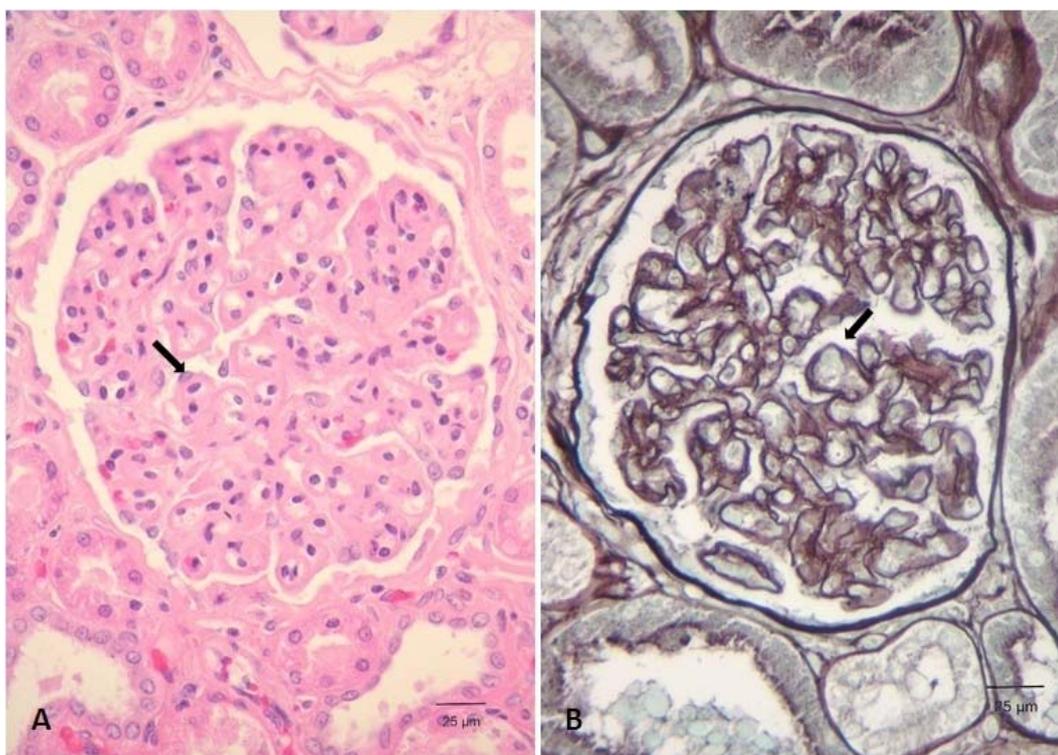


Figura 13. Glomerulonefrite membranoproliferativa em cão com leishmaniose visceral canina. **A.** Proliferação e aumento da celularidade mesangial; espessamento da parede capilar glomerular com diminuição de sua luz (seta). Coloração HE. **B.** Espessamento e duplicação da membrana basal dos capilares glomerulares (seta). Coloração PAMS.

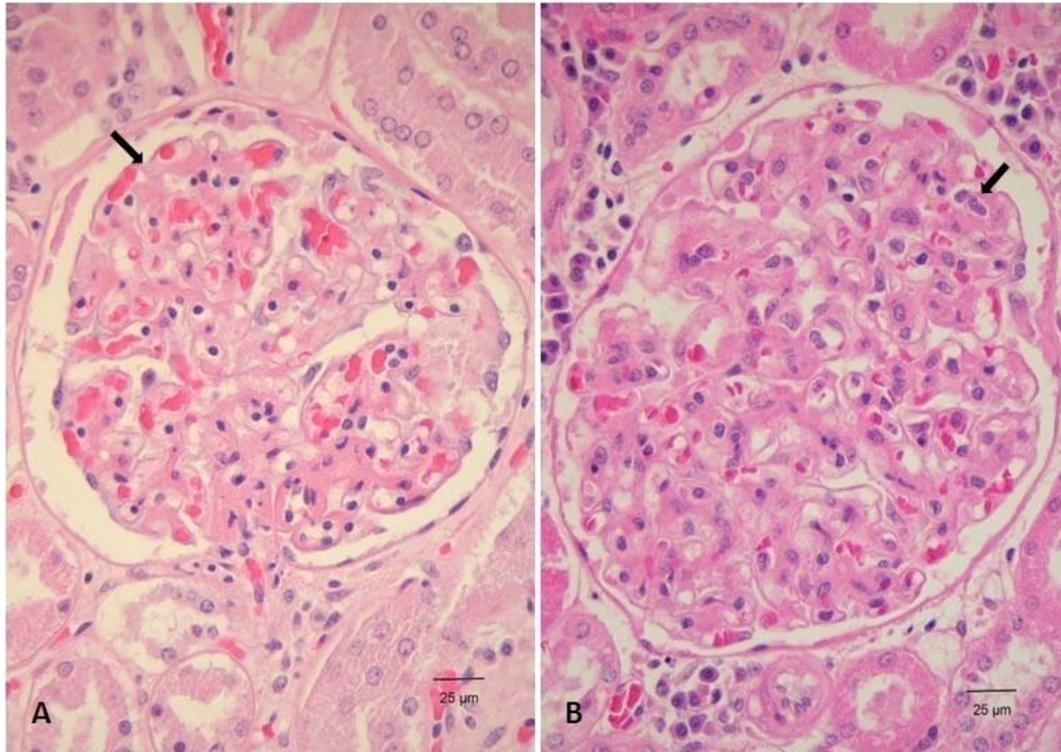


Figura 14. A. Glomerulosclerose segmentar focal em cão com leishmaniose visceral canina. Presença de área de esclerose segmentar (seta). Coloração HE. **B.** Glomerulonefrite proliferativa mesangial em cão com LVC. Aumento da matriz e da celularidade mesangial (seta) sem alteração de capilar glomerular. Coloração HE.

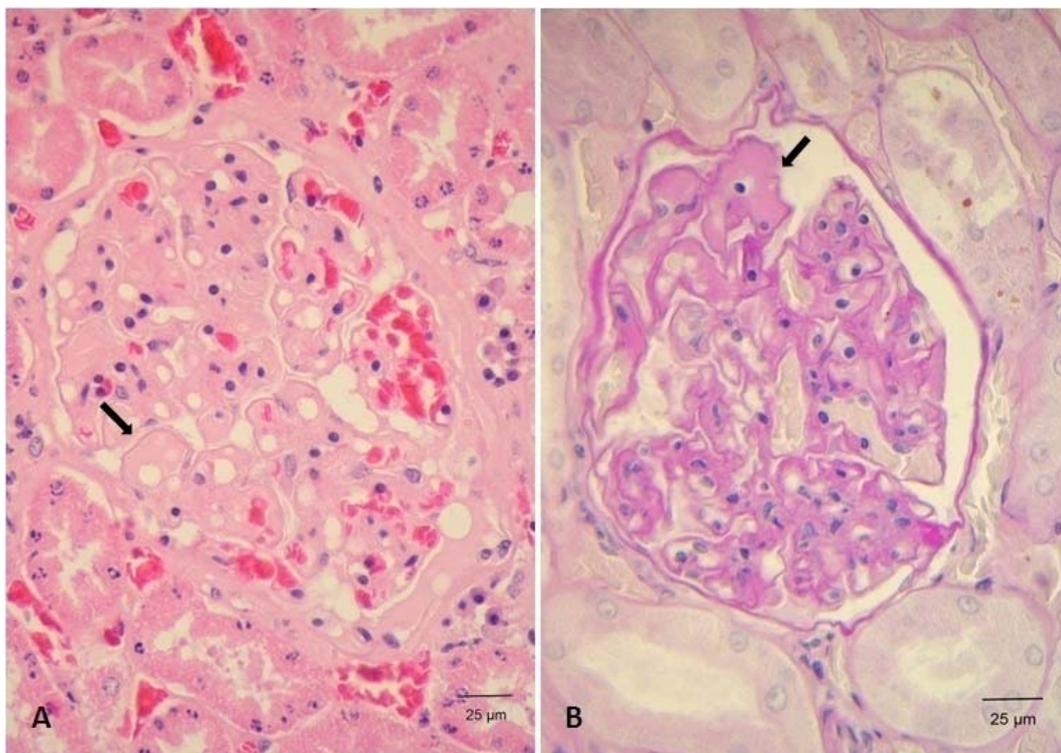


Figura 15. Glomerulonefrite membranosa em cão com leishmaniose visceral canina. A. Espessamento da parede capilar glomerular com diminuição de sua luz (seta). Coloração HE. **B.** Depósito de material PAS positivo ao redor de alças capilares (seta). Coloração PAS.

DISCUSSÃO

No presente estudo não foi constatada predisposição sexual nos cães acometidos por LV, similar ao observado em outros relatos da doença (NOLI, 1999; FEITOSA et al., 2000; AMUSATEGUI et al., 2003; ZATELLI et al., 2003). Os principais sinais clínicos encontrados nesse estudo foram: palidez de mucosas (59,3%), linfadenopatia generalizada (55,6%), alterações dermatológicas (55,6%), esplenomegalia (55,6%), hepatomegalia (33,3%), condição corporal magra (33,3%) e alterações oftálmicas (29,6%). Todos os sinais clínicos encontrados já foram previamente descritos em cães com LV (MARZOCHI et al., 1985; SLAPPENDEL, 1988; DENEROLLE, 1996; CIAMARELLA et al., 1997; FERRER, 1999; KOUTINAS et al., 1999; FEITOSA et al., 2000; AMUSATEGUI et al., 2003; ZARAGOZA et al., 2003; ALMEIDA et al., 2005; AGUIAR et al., 2007; ALBUQUERQUE et al., 2007). Na avaliação clínica das lesões cutâneas, verificou-se maior ocorrência de úlceras cutâneas (22,2%), crostas e descamações (18,5%), alopecia em pina de orelha (18,5%), alopecia generalizada (11,1%) e onicogribose (11,1%). Apesar das diferenças nas freqüências destas alterações, esses achados são semelhantes às principais alterações dermatológicas em animais infectados por *Leishmania spp.* (MARZOCHI et al., 1985; CIAMARELLA et al., 1997; FEITOSA et al., 2000; AMUSATEGUI et al., 2003; ALBUQUERQUE et al., 2007). Em relação às alterações oculares, as principais foram secreção ocular mucóide (18,5%) e quemose (14,8%), diferentemente ao observado em outras situações, onde a conjuntivite foi a principal alteração oftálmica relatada (SLAPPENDEL, 1988; KOUTINAS et al., 1999).

A linfadenopatia e a hepatoesplenomegalia observadas nos cães com LV são decorrentes do acúmulo de células fagocíticas mononucleares que levam à hipertrofia e hiperplasia desses órgãos (MALLA; MAHAJAN, 2006). Histologicamente, a linfadenopatia pode ser explicada por um aumento em número e tamanho nos folículos linfóides, com proliferação de linfócitos e células do retículo-endotelial (resposta imune) e também pela hiperplasia dos macrófagos medulares (LIMA et al., 2004). O baço apresenta hipertrofia e hiperplasia do sistema fagocítico mononuclear, congestão dos sinusóides esplênicos e infiltrado de plasmócitos e macrófagos, muitas vezes parasitados por *Leishmania spp.* No fígado observa-se hiperplasia e hipertrofia das células de Kuppfer e infiltrado linfoplasmocitário (DUARTE, 2000).

Embora a úlcera cutânea não represente sinal clínico patognomônico da LVC, a presença dessa lesão está creditada à resposta do hospedeiro vertebrado diretamente contra o parasita na pele e também à vasculite necrosante causada por deposição de imunocomplexos (RIDLEY; RIDLEY, 1983; PUMAROLA et al., 1991). Os nódulos cutâneos correspondem a granulomas formados por acúmulo de macrófagos, células gigantes multinucleadas, poucos linfócitos e plasmócitos, além da presença de formas amastigotas do parasito (FERRER et al., 1988). Em cães com dermatite descamativa, observou-se histologicamente glândulas sebáceas destruídas ou com ductos obliterados por processos inflamatórios (NETO et al., 2008). Essas alterações podem contribuir para a queda na qualidade lipídica da epiderme, causando esfoliação cutânea (KOUTINAS et al., 1993; PAPADOGIANNAKIS et al., 2005). A onicogribose é resultado da presença do parasito estimulando a matriz ungueal e/ou diminuição da atividade do cão enfermo, levando a um menor desgaste da unha (CIAMARELLA et al., 1997; SCOTT et al., 2001). Acredita-se haver correlação entre a sintomatologia cutânea e o grau de imunocompetência cutânea, caracterizado pela presença e quantidade de células de Langerhans, queratinócitos, células T, macrófagos e plasmócitos na derme. Nos animais com alopecia, foi observado número adequado de células apresentadoras de antígenos e número baixo de parasitos; formas nodulares possuíram grande número de macrófagos e parasitos; as formas ulcerativas apresentaram aspecto intermediário entre as duas anteriores (FONDEVILLA et al., 1997).

Lesões oculares em cães com LV envolvem principalmente o segmento anterior dos olhos. (CIAMARELLA et al., 1997). As alterações oftálmicas podem ser causadas pela presença direta do parasita levando a uma reação inflamatória ou por consequência de imunodepósitos nos vasos oculares causando uma reação de hipersensibilidade do tipo III (GARCÍA-ALONSO et al., 1996). Uveítes estão mais relacionadas à deposição de imunocomplexos enquanto inflamações corneais e conjuntivais são comumente relacionadas à presença do parasito (PENA et al., 2000). A ceratoconjuntivite seca pode ser justificada pela presença do parasito causando um processo inflamatório ao redor dos ductos lacrimais, resultando na retenção e acúmulo das secreções indispensáveis a formação adequada do filme lacrimal (NARANJO et al., 2005).

No presente estudo, 70,4% dos cães com LV apresentaram anemia normocítica normocrômica. Esses achados sugerem que este tipo de anemia pode estar diretamente relacionada à sintomatologia da LV, pois têm sido freqüentemente descrita associada à enfermidade (DEDET, 1979; SLAPPENDEL, 1988; CIRAMELLA et al., 1997; MOURA et al., 2002; AGUIAR et al., 2007). Em um estudo realizado com 150 cães, 60% apresentaram anemia normocítica normocrômica, resultado inferior ao encontrado por esse estudo (CIRAMELLA et al., 1997). Também há relatos de freqüências menores dessa alteração, variando de 16,5% a 41,2% (AMUSATEGUI et al., 2003; SOARES et al., 2005) Diferentemente desse estudo, foi observado diferença em relação à anemia entre animais sintomáticos e assintomáticos (SOARES et al., 2005).

A anemia na LVC é de origem multifatorial. Está associada a perdas sanguíneas (epistaxe, ulcerações na pele, perdas intestinais, hematúria), hemólise, inflamações generalizadas e insuficiência renal com a diminuição da produção de eritropoietina (KOUTINAS et al., 1999; COSTA-VAL et al., 2007). A ação nociva direta do parasita na medula óssea também poderia explicar a hipoplasia ou aplasia medular como causa de anemia severa em cães com a doença (PRATA; SILVA, 2005). Comprovou-se a existência de autoanticorpos contra eritrócitos na LVC, resultando na destruição imunomediada das hemácias (PONTES De CARVALHO et al., 1986). Além disso, uma diminuição da maleabilidade dos eritrócitos, encontrada em cães com a doença, pode promover o seqüestro esplênico e destruição dessas células (De LUNA et al., 2000). A diminuição dos valores séricos de ferro e o aumento da ferritina na LVC sugerem que a anemia poderia estar associada ao processo inflamatório crônico (LISTE- BURILLO et al., 1994).

No leucograma, a redução no número de linfócitos foi a principal alteração encontrada nos animais assintomáticos e sintomáticos. Todos os demais parâmetros avaliados (leucócitos totais, neutrófilos, monócitos, eosinófilos, basófilos, bastonetes e plaquetas) não apresentaram diferenças entre os grupos. Esses achados são similares às alterações no leucograma da maioria dos cães com LV (VARELA, 1992; AMUSATEGUI et al., 2003; SOARES et al., 2005).

Assim como descrito nos casos de LV humana (BELEHU et al., 1980; HOMMEL, 1978), a diminuição na contagem de linfócitos foi um achado significativo nos cães desse estudo e também já havia sido previamente relatada (MARTÍNEZ E

LLORET, 1992). Linfopenias em cães estão associadas à severidade das manifestações clínicas da doença, sendo possivelmente atribuídas à liberação de citocinas imunodepressoras na presença do parasito (PINELLI et al., 1994; BOURDOISEAU et al., 1997; REIS et al., 2006). Além disso, a linfopenia, como também outras leucopenias, podem estar relacionadas ao bloqueio de maturação das linhagens leucocitária, causada pelo intenso parasitismo da medula óssea e também pelo recrutamento dessas células para sítios inflamatórios (ALVAR et al., 2004; PRATA; SILVA, 2005).

Leucocitose, associada à neutrofilia, é relatada quando há a existência de lesões cutâneas, digestórias ou renais, causadas por infecções secundárias (AMUSATEGUI et al., 2003; SOARES et al., 2005). Da mesma forma tem sido reportada monocitose, que geralmente acompanha a neutrofilia em inflamações purulentas, necrose e hemólise (MARTÍNEZ; LLORET, 1992; SOARES et al., 2005).

A trombocitopenia foi observada em 40,7% dos animais desse estudo. Trombocitopenia é um achado freqüente em cães com LV (MOURA et al., 2002). Freqüências semelhantes ou até mesmo maiores, de 36,4% a 50% já foram relatadas (SLAPPENDEL, 1988; SOARES et al., 2005). Em um outro estudo realizado em 150 cães, foi encontrada a freqüência de 29,5% (CIAMARELLA et al., 1997), demonstrando variação bastante ampla nas contagens de plaquetas em animais acometidos pela doença. A trombocitopenia pode ser explicada por uma menor produção devido à hipoplasia medular observada na doença (MORENO et al., 1998). Além disso, também há um consumo aumentado dessas células. Acredita-se que o parasito pode causar dano direto afetando diferentes receptores encontrados na membrana das plaquetas, que deixam de ser reconhecidos como próprios e ativam a destruição celular por processo imunomediado (MORENO; TORANO, 2001).

Os valores hematológicos em cães com LV apresentam freqüências variadas, provavelmente devido a variações nos tempos de evolução da doença e diferenças na resposta imune do hospedeiro (AMUSATEGUI et al., 2002), bem como a possível presença de outras enfermidades concomitantes. As alterações no eritograma e na contagem de plaquetas nos cães do presente estudo, não podem ser integralmente atribuídas à LVC, considerando que não foram descartadas outras doenças como erliquiose e babesiose, que levam a um quadro clínico-hematológico semelhante.

As principais alterações observadas nas proteínas séricas, dos caninos do Distrito Federal com LV, foram hiperproteinemia (55,6%), hiperglobulinemia (81,5%) e hipoalbuminemia (66,7%), com uma tendência de valores maiores de proteína total e de globulina nos animais sintomáticos em comparação com os assintomáticos.

A hiperproteinemia, hiperglobulinemia e hipoalbuminemia são achados bem documentados na LVC (RODRIGUEZ et al., 1987; NIETO et al., 1992; RAMOS et al., 1994). Amusategui et al. (2002) encontraram 21,4%, 26,9% e 12,8% de hiperproteinemia, hiperglobulinemia e hipoalbuminemia, respectivamente, em 24 cães avaliados. Essas freqüências foram bem menores que as observadas por esse estudo. Ciamarella et al. (1997) observaram 55% de hiperproteinemia, 81% de hiperglobulinemia e 66% de hipoalbuminemia em 150 cães, e Costa et al. (2003), 44,9%, 42,9% e 61,2% respectivamente em 49 animais.

A hiperproteinemia e a hiperglobulinemia são causadas pela ativação de células B policlonais, com elevada produção de anticorpos (GALVÃO-CASTRO et al., 1984; KEENAN et al., 1984). Foi demonstrada uma massiva proliferação da população de linfócitos B nos linfonodos, placas de Peyer's e nos folículos linfóides do baço de cães com LVC (KEENAN et al., 1984). A hipoalbuminemia freqüentemente observada na enfermidade poderia ser decorrente de uma significativa proteinúria (PERSECHINO; OLIVEIRA, 1986; NASKIDACHVILLI; PEROUX, 1988) e do redirecionamento da síntese protéica para globulinas (CABASSU et al., 1988). Além disso, também podem contribuir para estas alterações nos níveis protéicos, doenças hepáticas e desnutrição (RAMOS et al., 1994; NOLI, 1999; AMUSATEGUI et al., 2003; ALMEIDA et al., 2005). Os cães desse estudo eram provenientes de uma região na periferia do DF, de baixo poder aquisitivo e de precário desenvolvimento sócio-econômico, e provavelmente não recebiam os requerimentos nutricionais adequadamente.

Nesse estudo, 26% dos cães apresentaram valores aumentados de uréia sanguínea e 18,5% também cursaram com hipercreatinemia. Não houve diferença entre os animais sintomáticos e assintomáticos. O aumento das concentrações plasmáticas de uréia e creatinina é um achado comum em cães com LV sendo relatada com diversas freqüências em diferentes trabalhos (NIETO et al., 1992; CIAMARELLA et al., 1997; MOURA et al., 2002). Nieto et al. (1992) encontraram uma freqüência de 70% dos animais infectados com elevações séricas de uréia e

30% com hipercreatinemia. Costa et al. (2003) citou 27,3% dos animais com hipercreatinemia. Ciamarella et al. (1997), Moura et al. (2002) e Soares et al. (2005) encontram as freqüências de 16%, 11,1% e 3,9%, respectivamente, de aumento das concentrações séricas de uréia e creatinina em cães infectados por *Leishmania spp.* A azotemia de origem renal possui como causa a falência da função excretora do rim, levando a um acúmulo de compostos nitrogenados e outras substâncias que deveriam ser eliminadas normalmente. As dosagens da concentração sérica de uréia e de creatinina são utilizadas rotineiramente como índices de retenção desses compostos nitrogenados pelos rins (FINCO, 1997).

A presença de proteinúria e hematuria são comumente vistos em cães com envolvimento renal na LV (GRAUER; DIBARTOLA, 1997). Proteinúria ($\geq 30\text{mg/dl}$) esteve presente em 88,9% dos cães desse estudo, destes 29,6% apresentaram proteinúria severa, igual ou superior a 100mg/dl. Sangue oculto (acima de +) foi detectado na urinálise de 51,9% dos animais, hematuria (acima de +) em 29,7% e leucócitos em 14,8%. Estes resultados demonstraram que há maior presença de proteínas, sangue oculto e hemácias na urina de cães com LVC. Os leucócitos são mais expressivos apenas na urina de cães com sinais clínicos da doença. A presença de leucócitos na urina é um indicativo de lesão inflamatória ao longo do trato urinário (OSBORNE et al., 1995).

Em humanos, 51% dos pacientes com LV apresentaram proteinúria, hematuria e/ou piúria (DUTRA et al., 1985). Em 10 cães com a doença, descreveu-se elevada freqüência de hematuria e proteinúria, acometendo 100% dos animais (NIETO et al., 1992). Outros 9 cães com LV apresentaram as mesmas alterações, porém em uma freqüência menor (44,4%) (MOURA et al., 2002). Infelizmente esses estudos não definiram a quantidade exata de proteína encontrada na urina desses animais, dificultando uma comparação mais detalhada entre eles. Descreveu-se em 11 cães com LV uma freqüência de 55,6% dos animais com relação proteína/creatinina urinária acima de 1,0, indicando proteinúria significativa (COSTA et al., 2003). Nas doenças glomerulares, a proteinúria é freqüentemente observada e reflete o aumento da permeabilidade capilar glomerular as proteínas do plasma, especialmente a albumina (ALVES, 1999).

Os animais sem alterações glomerulares apresentaram valor expressivo de proteinúria. Entretanto, 50% dos animais desse grupo apresentaram presença de

quantidade significativa de sangue oculto, hemácias ou leucócitos na urina. Como a fita reagente do exame de urinálise não é específica, possivelmente houve uma reação com esses elementos, levando a uma média de proteinúria elevada nos animais sem alterações glomerulares. O fato de esse grupo apresentar valor médio de albumina dentro da faixa de referência para essa espécie, também suporta essa hipótese.

Em 4 animais desse estudo, não houve correlação entre a reação de sangue oculto na fita reagente e a visualização de hemácias no sedimento urinário. Uma reação positiva de sangue oculto na urina poderia indicar tanto a presença de hematúria, hemoglobínúria quanto mioglobínúria (OSBORNE et al., 1995). Até o presente momento, a hemoglobínúria e a mioglobínúria não vem sendo relatadas em cães com LV, apenas a hematúria é considerada freqüente (NIETO et al., 1992; MOURA et al., 2002). Entretanto, como o histórico desses animais é desconhecido, e também não foi descartada a presença de doenças concomitantes que poderiam levar a essas alterações (ex. erliquiose, babesiose, leptospirose, entre outras), a presença de sangue oculto na urina, poderia não necessariamente estar associada à leishmaniose visceral (OSBORNE et al., 1995).

Os cães com LV apresentaram pH urinário dentro da faixa de normalidade, enquanto os cães do grupo controle que evidenciaram um pH mais alcalino. Ácidos de origem dietética influenciam o pH da urina, sendo que dietas com altos teores de proteínas de origem animal levam à acidificação urinária, enquanto aquelas ricas em cereais urina apresenta-se ligeiramente alcalina (FINCO, 1997). Como todos os animais do grupo controle eram domiciliados em um mesmo canil, e recebiam exclusivamente ração industrializada rica em grãos como soja e milho, possivelmente esse pH alcalino seja resultante dessa alimentação.

Formas amastigotas da *Leishmania spp.* foram mais facilmente identificadas em esfregaços citológicos dos cães do grupo sintomático. Nesse grupo, em 100% dos animais o parasito foi encontrado, enquanto no grupo assintomático, apenas 62% foram positivos por esta técnica. Animais sintomáticos com LV costumam apresentar no exame citológico uma maior facilidade para o encontro dos parasitas nos esfregaços, quando comparados aos cães assintomáticos (MYLONAKES et al., 2005; SARIDOMICHELAKIS et al., 2005).

Dos 27 casos no presente estudo, 70,4%) dos animais apresentaram alterações glomerulares. As glomerulonefrites são alterações comuns em cães portadores de LVC (BENDERITTER et al.,1988; TAFURI et al., 1989; POLI et al.,1991; NIETO et al., 1992; COSTA, 2001; COSTA et al., 2003; ZATELLI et al., 2003). Costa (2001) observou uma freqüência ainda maior de acometimento glomerular em cães com LV, compreendendo 83,6% dos casos, enquanto Benderitter et al. (1988), Tafuri et al. (1989), Poli et al. (1991), Nieto et al. (1992), Costa et al. (2003) e Zatelli et al. (2003) relataram em 100% dos casos.

As alterações glomerulares observadas nos cães deste experimento parecem não estar relacionadas com a gravidade da enfermidade, já que não ocorreram diferenças significativas, em relação a sua freqüência, entre os cães sintomáticos e assintomáticos. Como animais sem sinais clínicos também apresentaram alterações glomerulares, estas poderiam ser um indicador precoce do acometimento renal pela enfermidade (SOARES et al., 2005).

Oito animais (29,6%) apresentaram glomérulos sem alterações morfológicas dignas de nota à análise histopatológica, 4 do grupo sintomático e 4 do grupo assintomático. A ausência de alterações glomerulares esteve presente tanto em cães sintomáticos como assintomáticos. Vale ressaltar que alterações mínimas glomerulares poderiam estar presentes, já que nesse estudo não foi realizada investigação à microscopia eletrônica das amostras renais.

Foram observados 4 padrões de alterações glomerulares nos cães deste estudo: glomerulonefrite membranoproliferativa (47,4%), glomeruloesclerose segmentar focal (21%), glomerulonefrite proliferativa mesangial (15,8%) e glomerulonefrite membranosa (15,8%). As principais alterações glomerulares descritas previamente em 55 cães brasileiros com LV são: glomerulonefrite proliferativa mesangial (32,7%), glomerulonefrite membranoproliferativa (30,9%), glomeruloesclerose segmentar focal (18,2%), alterações glomerulares mínimas (14,5%), glomerulonefrite crescêntica (1,8%), glomerulonefrite crônica (1,8%) e nenhum caso com glomerulonefrite membranosa (COSTA et al., 2003). Na Itália, um estudo com 41 cães naturalmente infectados por *L. infantum* demonstrou 29,3% dos animais com glomerulonefrite membranoproliferativa, 26,8% com glomerulonefrite membranosa, 22% com glomeruloesclerose segmentar focal e 22% com glomerulonefrite proliferativa mesangial. Porém, não foram encontradas diferenças

entre os padrões de glomerulonefrites entre os animais com e sem sinais clínicos da doença (ZATELLI et al., 2003), assim como no presente experimento.

Soares et al. (2005) descreveram uma maior frequência de glomerulonefrite membranoproliferativa em animais sintomáticos e de glomerulonefrite proliferativa mesangial nos animais assintomáticos. Em 34 cães naturalmente infectados por *L. infantum* na Espanha, foram descritas apenas glomerulonefrite proliferativa mesangial e glomerulonefrite membranoproliferativa, com predominância da segunda. A glomeruloesclerose segmentar focal e glomerulonefrite membranosa foram consideradas padrões raros na LVC (POLI et al., 1991). Apesar de existirem muitas diferenças entre as frequências e os padrões de alteração glomerular, nos diversos estudos das nefropatias na LVC, os animais avaliados no DF apresentaram características semelhantes à de outros relatos da enfermidade (COSTA et al., 2003; ZATELLI et al., 2003).

Mesmo sendo empregadas outras formas de classificação das glomerulopatias, houve grande predominância da glomerulonefrite membranoproliferativa em 10 cães naturalmente infectados por *L. infantum* na Espanha (NIETO et al., 1992) e em 14 cães naturalmente infectados por *L. infantum* na Grécia (KOUTINAS et al., 1994). Outros 2 cães naturalmente e 2 cães experimentalmente infectados por *L. chagasi* no Brasil (TAFURI et al., 1989) e também em 9 cães naturalmente infectados por *L. chagasi* no Brasil (MOURA et al., 2002) apresentaram resultados semelhantes. Há um consenso quanto a glomerulonefrite membranoproliferativa ser a nefropatia predominante na LVC, assim como observado no presente estudo. Os padrões proliferativos das glomerulonefrites não são restritos à LVC, sendo observado em outras doenças com antigenemia crônica, como a erliquiose, dirofilariose, entre outras (FORRESTER; LEES, 1995). Diferenças nos padrões de glomerulonefrites podem estar relacionadas ao pequeno número de casos usados, diferenças entre as espécies de *Leishmania spp.* envolvidas ou ainda pela resposta imune individual do hospedeiro (COSTA et al., 2003).

Atualmente, a teoria mais aceita para a patogenia das glomerulonefrites observadas na LV é a deposição de imunocomplexos circulantes no tecido renal, com conseqüente ativação do sistema complemento levando ao dano tecidual (SLAPPENDEL, 1988; TAFURI et al., 1989; POLI et al., 1991). LVC é considerada

uma doença imunomediada, devido a sua capacidade de modificar a resposta imune do hospedeiro, inibindo a ativação de células TCD4+ Th1 e ativando células TCD4+ Th2, que promovem a proliferação de células B e a conseqüente, a produção de grande quantidade de anticorpos específicos e não específicos contra antígenos de *Leishmania spp.* (PINELLI et al., 1994;1999). A hipergamaglobulinemia inespecífica pode ser responsável por vários fenômenos autoimunes, como a formação de imunocomplexos circulantes e de anticorpos antinucleares (SLAPPENDEL, 1988; MARTINEZ-MORENO et al., 1995).

A utilização de técnicas de imunistoquímica e de investigação ultraestrutural demonstraram a presença de imunodepósitos localizados nos glomérulos, tanto no mesângio como na membrana basal glomerular, e também ao longo de membrana basal tubular em cães acometidos por LV (POLI et al., 1991). A reversão das lesões renais, associadas à redução dos níveis de imunocomplexos circulantes em pessoas em tratamento para a doença (DUTRA et al., 1985), fortalecem ainda mais o envolvimento dos depósitos de imunocomplexo na patogênese dessas lesões.

Foi detectada a presença de imunodepósitos renais de IgG específicos contra antígenos de membrana da *Leishmania spp.* em todos os cães infectados com glomerulonefrite (MANCIANTI et al., 1989). Altos títulos de IgG, IgM e IgA circulantes já foram relatados em cães com LV (LOPEZ et al., 1996; MARGARITO et al., 1998). Títulos maiores de IgG estavam presentes em cães com a doença sintomática, e níveis ainda maiores nos cães com hipercreatinemia, sugerindo uma relação de causa-efeito entre produção de imunocomplexos circulantes e falência renal (LOPEZ et al., 1996). Entretanto, nem sempre há uma correlação positiva entre imunocomplexos circulantes e seus depósitos nos tufo glomerulares nas nefropatias observadas na LV em humanos (ABRASS, 1997).

A deposição de antígenos de *Leishmania spp.* no glomérulo e no interstício foram detectados em todos os 55 cães com LV em um estudo, sugerindo que a presença do antígeno é importante na patogenia da nefropatia na LV, estando presente em todos os padrões de glomerulonefrite avaliados (COSTA et al., 2003).

Formas amastigotas do parasita foram visualizadas no parênquima renal apenas em um caso em 51 cães com a doença (SOARES et al., 2005). Entretanto, este é considerado um achado pouco freqüente (BENDERITTER et al., 1988; TAFURI et al., 1989; POLI et al., 1991; NIETO et al., 1992; MOURA et al., 2002;

COSTA et al., 2003; ZATELLI et al., 2003), sendo a presença direta da *Leishmania spp.* não necessariamente associada ao insulto renal.

Os diferentes padrões de glomerulonefrites são determinados, possivelmente, pelo tipo celular ou estrutura glomerular envolvida na resposta imune (BLANTZ et al. 1997; COUSER, 1998), pela localização do antígeno dentro do glomérulo (ABRASS, 1997) ou ainda pela localização do imunocomplexo (DAY, 1999). Na glomerulonefrite membranosa há a deposição de material eletrodense na porção subepitelial da membrana basal glomerular. Na glomerulonefrite membranoproliferativa a deposição ocorre na porção subendotelial e subepitelial da membrana basal glomerular bem como no mesângio, já na glomerulonefrite proliferativa mesangial é resultado da deposição depósitos de imunocomplexos nas áreas esclerosadas do mesângio (DAY, 1999; GODOY, 2000). Não existem evidências de que ocorra a evolução de um padrão de glomerulonefrite para outro (COSTA, 2001).

Atualmente, há evidências crescentes que a resposta imune celular também esteja envolvida na patogênese da glomerulonefrite imunomediada presente na LV (VAN ALDERWEGEN et al., 1997). Células T CD4⁺ já foram detectadas tanto no glomérulo como no interstício renal de cães com a doença (COSTA et al., 2000), sugerindo que a ativação dessas células possam levar a uma reação de hipersensibilidade tardia, reações citolíticas, expressão anormal de moléculas do complexo de histocompatibilidade ou a ativação de células B, resultando em uma injúria local (VAN ALDERWEGEN et al., 1997).

Nesse estudo não foi observado nenhum caso de amiloidose renal, entretanto, apesar de infreqüente, esta alteração pode ser encontrada ocasionalmente em cães com LV. Chung et al. (1940) detectaram 1 caso em 12 estudados, Poli et al., (1991), 1 em 34 e Nieto et al. (1992), 1 em 10. A proteína amilóide AA é produzida a partir de um precursor sintetizado no fígado denominado precursor sérico da amilóide, que é uma proteína de fase aguda e é produzida em grande escala em resposta a inflamações crônicas (PEREIRA, 2000). A deposição dessa proteína amilóide reativa no tecido renal parece estar relacionada a inflamações crônicas e a fatores genéticos individuais (DIBARTOLA, 1995).

Dos 27 animais estudados, 70,4% apresentaram inflamação intersticial multifocal com presença de mononucleares e 40,8% também apresentaram

alterações tubulares. Fibrose intersticial foi observada em 11,1% dos casos, apenas no grupo sintomático. A nefrite intersticial, caracterizada pela presença de infiltrado linfoplasmocitário, é um componente comum na nefropatia da LVC (CHUNG et al., 1940; TAFURI et al., 1989). Fibrose intersticial também costuma estar presente (MOURA et al., 2002). Poli et al. (1991) e Soares et al. (2005) detectaram freqüências de nefrite intersticial maiores ainda que as desse estudo, 91,2% e 96,1% respectivamente. Alterações tubulares, caracterizadas por degeneração do tipo hidrópica ou vacuolar, atrofia, dilatação, necrose, presença de cilindros hialinos, e calcificação medular também estão relacionadas à doença (TAFURI et al., 1898; POLI et al., 1991; SOARES et al., 2005). Nieto et al. (1992) detectaram freqüências de 80% para alterações tubulares e 50% para presença de infiltrado inflamatório intersticial. Em estudo realizado por Costa et al., (2003), foram observadas freqüências menores de infiltrado inflamatório intersticial (78,2%) e maiores de alterações tubulares (96,4%).

No presente experimento, as alterações tubulares e intersticiais estiveram presentes em todos os padrões de glomerulonefrites, inclusive nos casos sem alteração glomerular. Entretanto, nos casos com padrão de glomerulonefrite membranoproliferativa, observou-se maior variedade e severidade dessas alterações, assim como já descrito em cães com LV (POLI et al., 1991; ZATELLI et al., 2003; SOARES et al., 2005). Não foram detectadas diferenças entre os animais sintomáticos e assintomáticos, quanto à freqüência dessas alterações, semelhante ao observado em 51 cães com a doença (SOARES et al., 2005).

O mecanismo patogênico exato da nefrite intersticial na LV ainda é desconhecido, parecendo haver envolvimento tanto da resposta humoral (POLI et al., 1991), quanto celular (FILLIT; ZABRISKIE, 1982; CARVALHO et al., 2007). Depósitos de imunoglobulinas e de complemento na membrana basal tubular e no interstício renal suportam a hipótese de um mecanismo imunomediado humoral associado à LV (POLI et al., 1991). Entretanto, a presença de infiltrado intersticial de células mononucleares, uma característica de reação mediada por células, também parece estar envolvida (FILLIT; ZABRISKIE, 1982). Independente do mecanismo envolvido, a reação é desencadeada pela presença de antígenos de *Leishmania spp.* no parênquima renal. (CARVALHO et al., 2007). Nefrite intersticial é um

componente comum de diversas doenças sistêmicas (CONFER; PANCIERA, 2001) e não necessariamente está relacionada apenas a LVC.

No homem, a nefrite intersticial ocorre de forma aguda na fase avançada da doença (DUARTE et al. 1983). Entretanto em cães, a nefrite intersticial parece ser um processo crônico, já que acomete cães com idades, manifestações clínicas e estágios da doença diferentes (TAFURI et al., 1989; COSTA et al., 2003).

A deposição de lipofuscina nas células tubulares esteve presente em 55,6% casos. Não houve diferença entre os casos sem alterações glomerulares e os com glomerulonefrite. A lipofuscina é um pigmento insolúvel, derivado da oxidação incompleta de lipídios, como os das membranas celulares, por isso é considerado um pigmento de “desgaste” (CULLEN; MACLACHLAN, 2001). Até o momento, nenhum outro estudo descreveu essa alteração na LVC, sendo necessário avaliar um número maior de casos para comprovar sua associação com a doença e para definir suas causas.

Ao associar os achados histopatológicos, bioquímicos e da urinálise dos cães deste experimento, constatou-se que todos os animais azotêmicos e com fibrose intersticial, apresentaram apenas glomerulonefrite do tipo membranoproliferativa. Além disso, azotemia, proteinúria e hipoalbuminemia também foram mais severas nesses cães. Esses dados sugerem um maior comprometimento da função renal em animais com esse padrão de glomerulonefrite, corroborando com outros estudos. Todos os cães azotêmicos com LV apresentaram apenas glomerulonefrite membranoproliferativa (SOARES et al., 2005). Proteinúria mais significativa também foi observada em humanos (KIRRSZTAJN, 1999) e em cães (POLI et al., 1991) com glomerulonefrite membranoproliferativa.

O conjunto de alterações clínico-laboratoriais observadas no presente estudo demonstra a natureza sistêmica da LVC. O comprometimento multiorgânico de formas e intensidades diversas resulta numa gama variável de manifestações clínicas ou até mesmo a sua ausência. Em virtude disto, alterações renais devido a LVC, que variam de discretas a severas, estão freqüentemente associadas à doença, como pôde ser comprovado por este e outros estudos. Por esta razão, em áreas endêmicas para a doença, cães que apresentem sinais clínico-laboratoriais de nefropatia, mesmo que mínimos, devem ter a LV incluídos em seu diagnóstico diferencial.

CONCLUSÕES

- As alterações clínicas mais freqüentes em cães com LV no DF são mucosas hipocoradas, hepatoesplenomegalia, linfadenopatias, emaciação e alterações dermatológicas;
- Anemia normocítica normocrômica e redução na contagem de linfócitos são alterações freqüentes no hemograma de cães com LV, apresentando ou não sinais clínicos. Assim como a presença de quantidades significativas de proteína, sangue oculto e hemácias na urinálise;
- Hiperproteinemia, hiperglobulinemia e hipoalbuminemia são mais expressivas nos animais com sinais clínicos da enfermidade;
- O comprometimento renal na LVC é freqüente e caracterizado como glomerulopatias, nefrite intersticial e alterações tubulares. Glomerulonefrite membranoproliferativa é predominante e implicou em um maior comprometimento da função renal.

REFERÊNCIAS

ABRASS, C. K. Mechanisms of immune complex formation and deposition in renal structures. In: NIELSON, E. G., COUSER, W. G. **Immunologic renal diseases**. 1ed. Philadelphia: Lippincott-Raven. 1997. p. 291-307.

AGUIAR, P. H. P., SANTOS, S. O., PINHEIRO, A. A., BITTENCOURT, D. V. V., COSTA, R. L. G., JULIÃO, F. S., SANTOS, W. L. C., BARROUIN-MELO, S. M. Quadro clínico de cães infectados naturalmente por *Leishmania chagasi* em uma área endêmica do estado da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 8, p. 283-294, 2007.

ALBUQUERQUE, A. L., ARAGÃO, F. R., FAUSTINO, M. A. G., GOMES, Y. M., LIRA, R. A., NAKASAWA, M., ALVES, L. C. Aspectos clínicos de cães naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi* na região metropolitana do Recife. **Clínica Veterinária**, v. 71, p. 78-84, 2007.

ALMEIDA, M. A. O., JESUS, E. E. V., SOUSA-ATTA, M. L. B., ALVES, L. C., BERNE, M. E. A., ATTA, A. M. Clinical and serological aspects of visceral leishmaniasis in northeast brazilian dogs naturally infected with *Leishmania chagasi*. **Veterinary Parasitology**, v. 127, p. 227-232, 2005.

ALVAR, J., CANAVATE, C., MOLINA, R., MORENO, J., NIETO, J. Canine leishmaniasis. **Advances in Parasitology**, v. 57, p. 1-88, 2004.

ALVES, M. A. R. Glomerulonefrite crescêntica. In: SOARES, V., ALVES, M. A. R., BARROS, R. T. **Glomerulopatias: patogenia, clínica e tratamento**. 1 ed. São Paulo: Sarvier. 1999. p. 118-127.

AMUSATEGUI, I., SAINZ, A., RODRÍGUEZ, F., TESOURO, M. A. Distribution and relationships between clinical and biopathological parameters in canine leishmaniasis. **European Journal of Epidemiology**, v. 18, p. 147-156, 2003.

BELEHU, A., LOUIS, J. A., PUGIN, P., MIESHER, P. A. Immunopathological aspects of leishmaniasis. **Springer Seminars in Immunopathology**, v. 2, n. 4, p.399-415, 1980.

BENDERITTER, T., CASANOVA, P., NASHKIDACHVILI, L., QUILICI, M. Glomerulonephritis in dogs with canine leishmaniasis. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v.82, n.4, p.335-341, 1988.

BLANTZ, R. C., WILSON, C. B., GABBAI, F. B.. Pathophysiology of acute immune injury. In: NIELSON, E. G., COUSER, W. G. **Immunologic renal diseases**. 1 ed. Philadelphia: Lippincott-Raven. 1997. p. 237-250.

BOURDOISEAU, G., BONNEFONT, C., MAGNOL, J. P., SAINT-ANDRE, I., CHABANNE, L. Lymphocyte subset abnormalities in canine leishmaniasis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 56, p. 345-351, 1997.

BRASIL. Ministério da saúde. Secretária de vigilância em saúde. Departamento de vigilância epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília: Ministério da Saúde, 2003. 120p.

BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de vigilância em saúde. Leishmaniose Visceral. **Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso**. 5. ed. Brasília: Ministério da Saúde. 2005. p.199-203

CABASSU, J. P., GERVAIS, P., SEGURET, N., ROUSSET-ROUVIÉRE, B. Bilan biologique chez le chien leishmanien. **Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie**, suplemento 5, p. 35-42, 1988.

CARVALHO, A. A., MACÊDO, E. L., VERÇOSA, B. L., SILVA, S. M. M., CARVALHO, S. M., COSTA, F. A. L. Caracterização histopatológica e imunoistoquímica da nefropatia da leishmaniose visceral experimental em hamster. **Revista Clínica Veterinária**, v. 71, p. 60-64, 2007.

CHUNG, H. L., HOEPPLI, R., FENG, L. C. Histopathological observations in twelve cases of canine leishmaniasis in Peiping. **Chinese Medical Journal**, v. 3, p. 212-223, 1940.

CHURG, J., BERNSTEIN, J., GLASSOCK, R.J. **Renal Disease: Classification and Atlas of Glomerular Disease**. 2ed. New York: Igaku-Shoin, 1985, 541p.

CIAMARELLA, P., OLIVA, G., DE LUNA, R., GRADONI, L., AMBROSIO, R., CORTESE, L., SACLONE, A., PERSECHINO, A. A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. **Veterinary Record**, v. 141, p. 539-543, 1997.

CONFER, A. W., PANCIERA, R. J. The urinary system. In: MCGAVIN, M. D., CARLTON, W. W., ZACHARY, J. F. (Ed.). Thomson's Special Veterinary Pathology. 3ed. Missouri: Mosby, 2001. p. 235-278.

COSTA C. H. N., PEREIRA, H. F., PEREIRA, F. C. A., TAVARES, J. P. Is the household dog a risk factor for american visceral leishmaniasis in Brazil? **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 93, p. 464, 1999.

COSTA, F. A.L., GUERRA, J. L., SILVA, S. M. M. S., KLEIN, R. P., MENDONÇA, I. L., GOTO, H. CD4+ T cells participate in the nephropaty of canine visceral leishmaniasis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, p. 1455-1458, 2000.

COSTA, F. A. L. **Patologia e imunopatogenia da nefropatia da leishmaniose visceral canina**. São Paulo: USP, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2001. 129 p. Dissertação (Doutorado em Medicina Veterinária).

COSTA, F. A. L., GOTO, H., SALDANHA, L. C. B., SILVA, S. M. M. S., SINHORINI, I. L., SILVA, T. C., GUERRA, J. L. Histopathologic patterns of nephropathy in

naturally acquired canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Pathology**, v. 40, p. 677-684, 2003.

COSTA-VAL, A. P., CAVALCANTI, R. R., GONTIJO, N. F., MICHALICK, S. M., ALEXANDER, B., WILLIAMS, P., MELO, M. N. Canine visceral leishmaniasis: relationships between clinical status, humoral immune-response, haematology and *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* infectivity. **The Veterinary Journal**, v. 174, p. 636-643, 2007.

COUSER, W. G. Pathogenesis of glomerular damage in glomerulonephritis. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 13, suplemento 1, p. 10-15, 1998.

CULLEN, J. M., MACLACHLAN, N. J. Fígado, Sistema Biliar e Pâncreas Exócrino. MCGAVIN, M. D., CARLTON, W. W., ZACHARY, J. F. (Ed.). Thomson's Special Veterinary Pathology. 3ed. Missouri: Mosby, 2001. p. 81-124.

CUNHA, A. M., CHAGAS, E. Nova espécie de protozoário do gênero *Leishmania* patogênico para o homem (nota prévia). **O Hospital**, v. 11, p. 5-9, 1937.

DAY, M. J. Immune-mediated renal and reproductive disease. In: DAY, M. J. **Clinical immunology of the dog and cat**. 1ed. Iowa: Iowa State University Press. 1999. P. 171-180.

DEDET, J. P. Les leishmanioses en Afrique du Nord. **Bulletin de l'institut Pasteur**, v.77, p.49-82, 1979.

DE LUNA, R., FERRANTE, M., SEVERINO, L., AMBROSIO, R., PIANTEDOSI, D., GRADONI, L., LUCISANO, A., PERSECHINO, A. Decreased lipid fluidity of the erythrocyte membrane in dogs with leishmaniasis associated anemia. **Journal of Comparative Pathology**, v. 122, p. 213-216, 2000.

DENEROLLE, P. Leishmaniose canina: dificuldades do diagnóstico e do tratamento (125 casos). **Pratique Médicale et Chirurgicale de L'Animal de Compagnie**, v. 31, p.137-145, 1996.

DIBARTOLA, S. P. Renal amyloidosis. In: OSBORNE, C. A., FINCO, D. R. **Canine and Feline Nephrology and Urology**. 1 ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1995, p.400-415.

DISCH, J., MACIEL, F. C., OLIVEIRA, M. C., ORSINI, M., RABELO, A. Detection of circulating Leishmania chagasi DNA for the non-invasive diagnosis of human infection. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 97, p.391-395, 2003.

DUARTE, M. I. S., SILVA, M. R., GOTO, H., NICODEMO, E. L., AMATO NETO, V. Interstitial nephritis in human Kala-azar. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 77, n. 4, p. 531-537, 1983.

DUARTE, M. I. S. Leishmaniose visceral (Calazar). In: FILHO, G. B. **Bogliolo Patologia**. 6ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p.1215-1227.

DUTRA, M., MARTINELLI, R., CARVALHO, E. M., RODRIGUES, L. E., BRITO, E., ROCHA, H. Renal involvement in visceral leishmaniasis. **American Journal of Kidney Disease**, v. 6, n. 1, p.22-27, 1985.

FEITOSA, M. M., IKEDA, F. A., LUVIZOTTO, M. C. R., PERRI, S. H. V. Aspectos clínicos de cães com leishmaniose visceral no município de Araçatuba – São Paulo (Brasil). **Clínica Veterinária**, v. 28, p. 36-44, 2000.

FERRER L., RABANAL, R., FONDEVILA, D., RAMOS, J. A., DOMINGO, M. Skin lesions in canine leishmaniosis. **Journal of Small Animal Practice**, v. 29, p. 381-383, 1988.

FERRER, L. M. Clinical aspects of canine leishmaniasis. In: CANINE LEISHMANIASIS: NA UPDATE. **Proceedings of a Canine Leishmaniasis Forum**, Barcelona, 1999. p. 6-10.

FILLIT, H. M., ZABRISKIE, J. B. Cellular immunity in glomerulonephritis. **The American Journal of Pathology**, v. 109, n. 2, p. 227-243, 1982.

FINCO, D. R. Kidney Function. In: KANEKO, J. J., HARVEY, J. W., BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5ed. San Diego: Academic Press, 1997. p. 441-484.

FONDEVILLA, D., VILAFRANÇA, M., FERRER, L. Epidermal imunocompetence in canine leishmaniasis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 56, n. 3, p. 319-327, 1997.

FORRESTER, S. D., LEES, G. E. Renal manifestations of polysystemica diseases. In: OSBORNE, C. A., FINCO, D. R. **Canine and Feline Nephrology and Urology**. 1 ed. Baltimore: Williams & Wilkins. 1995. p.491-504.

GALVÃO-CASTRO, B., FERREIRA, J. A., MARZOCHI, K. F., MARZOCHI, M.C., COUTINHO, S. G., LAMBERT, P. H. Polyclonal B-cell activation, circulating immune complexes autoimmunity in human american visceral leishmaniasis. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 56, p. 58-66, 1984.

GARCIA-ALONSO, M., BLANCO, A., REINA, D., SERRANO, F. J., ALONSO, C., NIETO, C. G. Immunopathology of the uveitis in canine leishmaniasis. **Parasite Immunology**, v. 18, n. 12, p.617-623, 1996.

GODOY, P. Sistema Urinário. In: FILHO, G. B. **Bogliolo Patologia**. 6ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p.421-480.

GRAUER, G. F., DIBARTOLA, S. P. Afecções glomerulares. In: ETTINGUER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 4ed. São Paulo: Manole, 1997. p.2432-2452.

HOMMEL, M. The genus Leishmania. Biology of the parasite and clinical aspects. **Bulletin de L'Institute Pasteur**, v.75, n.5, p.5-102, 1978.

KEENAN, C.M., HENDRICKS, L.D., LIGHTNER, L., WEBSTER, H. K., HELMERHORST, F.M. Visceral leishmaniasis in the german shepherd dog. I Infection, clinical disease and clinical pathology. **Veterinary Pathology**, v. 21, p. 74-79, 1984.

KIRSZTAJAN, G. M. Glomerulonefrite membranoproliferativa. In: SOARES, V., ALVES, M. A. R., BARROS, R. T. **Glomerulopatias: patogenia, clínica e tratamento**. 1 ed. São Paulo: Sarvier, 1999. p. 206-213.

KOUTINAS, A. F., SCOTT, D. W., KONTOS, V., LEKKAS, S. Skin lesions in canine leishmaniasis (kala-azar): a clinical and histopathological study on 22 spontaneous cases in Greece. **Veterinary Dermatology**, v. 3, n. 3, p. 121-130, 1993.

KOUTINAS, A. F., KONTOS, V., KALDRIMIDOU, H. Canine leishmaniasis associated nephropathy: a clinical, clinicopathologic and pathologic study in 14 spontaneous cases with proteinuria. **European Journal of Companion Animal Practice**, v. 5, n. 2, p.31-38, 1994.

KOUTINAS, A. F., POLIZOPOULOU, Z. S., SARIDOMICHE M. N., ARGYRIADIS, D., FYTIANOU, A., PLEVRAKI, K. G. Clinical considerations on canine visceral leishmaniasis in Greece: a retrospective study of 158 cases (1989-1996). **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 35, p.376-383, 1999.

LIMA, W. G., MICHALIK, M. S. M., MELO, M. N., TAFURI, W. L., TAFURI, W. L. Canine visceral leishmaniasis: a histopathological study of lymph nodes. **Acta Tropica**, v. 92, p. 43-53, 2004.

LISTE- BURILLO, F., PÉREZ, F. M. G., LIESA, J. P., FABIÀN M. C. A. Iron status and anemia in canine leishmaniasis. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v. 3, p. 171-176, 1994.

LOPEZ, R., LUCENA, M., NOVALES, M., GINEL, P. J., MARTIN, E., MOLLEDA, J. M. Circulating immune complexes and renal function in canine Leishmaniasis. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 43, p. 469-474, 1996.

MACIANTTI, F., POLI, A., BIONDA, A. Analysis of renal immune-deposits in canine leishmaniasis. Preliminary results. **Parassitologia**, v. 31, p. 213-230, 1989.

MALLA, N., MAHAJAN, R. C. Pathophysiology of visceral leishmaniasis – some recent concepts. **Indian Journal of Medical Research**, v. 123, p. 267-274, 2006.

MARGARITO, J. M., LUCENA, M., LOPEZ, R., MOLLEDA, J. M., MARTIN, E., GINEL, P. J., Levels of IgM and IgA circulating immune complexes and renal function in dogs with leishmaniasis. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 45, p. 263-267, 1998.

MARTÍNEZ, S. J., LLORET, R. A. Leishmaniosis canina: um estudo retrospectivo. **Premios Fundacións Purina**, p. 71-88, 1992.

MARTÍNEZ-MORENO, A., MORENO, T., MARTÍNEZ-MORENO, F. J., ACOSTA, I., HERNÁNDEZ, S. Humoral and cell-mediated immunity in natural and experimental canine leishmaniasis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 48, p. 209-220, 1995.

MARZOCHI, M. C. A., COUTINHO, S. G., SOUZA, W. J. S., TOLEDO, L. M., JUNIOR, G. G., MOMEN, H., PACHECO, R. S., SABROZI, P.C., SOUZA, M.A., JUNIOR, F. B. R., TRAMONTANO, N. C. Canine visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brazil. Clinical, parasitological, therapeutical and epidemiological findings (1977-1983). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 80, n. 3, p. 349-357, 1985.

MORENO, P., LUCENA, R., GINEL, P. J. Evaluation of primary haemostasis in canine leishmaniasis. **Veterinary Record**, v. 142, n. 4, p. 81-83, 1998.

MORENO, P., TORANO, A. Leishmania immune adherence reaction in vertebrates. **Parasite Immunology**, v. 23, p. 259-265, 2001.

MOURA, R. O. D., PAULA, V. V., SOARRES, M. J. V., SILVA, S. M. M. S. Alterações renais em cães (*Canis familiaris*) soropositivos para leishmaniose: aspectos clínicos, laboratoriais e hisopatológicos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 24, n. 2, p. 61-64, 2002.

MYLONAKIS, M. E.; PAPAIOANNOU, N.; SARIDOMICHELAKIS, M. N.; KOUTINAS, A. F.; BILLINIS C.; KONTOS V. I. Cytologic patterns of lymphadenopathy in dogs infected with *Leishmania infantum*. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 34, n. 3, p.243-247, 2005.

NARANJO, C., FONDEVILA, D., LEIVA, M., ROURA, X., PENA, T. Characterization of lacrimal gland lesions and possible pathogenic mechanisms of keratoconjunctivitis sicca in dogs with leishmaniosis. **Veterinary Parasitology**, v. 133, p. 37-47, 2005.

NASKIDACHVILLI, L., PEROUX, F. La pathologie rénale chez le chien leishmanien. **Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie**, v. 5, p. 43-47, 1988.

NETO, R. T., RODRIGUES, M. M. P., AMORIM, R. L., CONCEIÇÃO, L. G., LUVIZOTTO, M. C. R., FRANCO, S. R. V. S. Histopathological pattern of exfoliative and ulcerative skin lesions in dogs with leishmaniasis. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 29, n. 3, p. 667-676, 2008.

NIETO, C. G., NAVARRETE, I., HABELA, M. A., SERRANO, F., REDONDO, E. Pathological changes in kidneys of dogs with natural *Leishmania* infection. **Veterinary Pathology**, v. 45, p. 33-47, 1992.

NOLI, N. Canine Leishmaniasis. **Waltham Focus**, v. 9, n. 2, p. 16-24, 1999.

OSBORNE, C. A., STEVENS, J. B., LULICH, J. P., ULRICH, L. K., BIRD, K. A., KOEHLER, L. A., SWANSON, L. L. A clinician's analysis of urinalysis. In: OSBORNE, C. A.; FINCO, D. R. **Canine and Feline Nephrology and Urology**. 1 ed. Baltimore: Williams & Wilkins. 1995. p.136-205.

PAPADOGIANNAKIS, E. I., KOUTINAS, A. F., SARIDOMICHELAKIS, M., VLEMMAST, J., LEKKAS, S., KARAMERIS, A., FYTIANOU, A. Cellular immunophenotyping of exfoliative dermatitis in canine leishmaniosis (*L. infantum*). **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 104, n. 3-4, p. 227-237, 2005.

PENA, M. T., ROURA, X., DAVIDSON, M. G. Ocular and periocular manifestations of leishmaniasis in dogs: 105 cases (1993-1998). **Veterinary Ophthalmology**, v. 3, p. 35-41, 2000.

PEREIRA, F. E. L. Degenerações. Morte Celular. Alterações no interstício. In: FILHO, G. B. **Bogliolo Patologia**. 6ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p. 38-69.

PERSECHINO, A., OLIVEIRA, G. Autoimmunity associated with leishmaniasis in a dog. **Acta Medica Veterinaria**, v. 32, p. 117-124, 1986.

PINELLI, E., KILLICK-KENDRICK, R., WAGENAR, J., BERNADINA, W., DEL REAL, G., RUITENBERG, J. Cellular and humoral immune responses in dogs experimentally and naturally infected with *Leishmania infantum*. **Infection and Immunity**, v. 62, n.1, p. 229-235, 1994.

PINELLI, E., RUTTEN, P. M. G. V., RUITENBERG, E. J. Cellular immune responses in canine leishmaniasis. In: CANINE LEISHMANIASIS: NA UPDATE. **Proceedings of a Canine Leishmaniasis Forum**, Barcelona, 1999. p. 60-64.

POLI, A., ABRAMO, F., MANCIANTI, F., NIGRO, M., PIERI, S., BIONDA, A.B. Renal Involvement in canine leishmaniasis. **Nephron**, v. 57, p. 444-452, 1991.

PONTES De CARVALHO, L., BARADO, R., CARVALHO, E. M. Nature and incidence of erythrocyte-bound IgG and some aspects of the physiopathogenesis of anemia in american visceral leishmaniasis. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 64, p. 495-502, 1986.

PRATA, A., SILVA, L. A. Calazar. In: COURA, J. R. **Dinâmica das Doenças Infeciosas e Parasitárias**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. p.713-732.

PUMAROLA, M., BREVIK, L., BADIOLA, J. J., VARGAS, A., DOMINGO, M., FERRER, L. Canine Leishmaniasis associated with systemic vasculitis in two dogs. **Journal of Comparative Pathology**, v.105, p.279-286, 1991.

RAMOS, G.P., RANGEL FILHO, F. B., BOTELHO, G. G., VOGEL, J. Valores bioquímicos séricos de cães portadores de leishmaniose visceral. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 16, n. 5, p. 192-196, 1994.

REIS, A.B., TEIXEIRA-CARVALHO, A., VALE, A. M., MARQUES, M. J., GIUNCHETTI, R.C., MAYRINK, W., GUERRA, L. L., ANDRADE, A. R., CORREA-OLIVEIRA, R., MARTINS-FILHO, O.A. Isotype patterns of immunoglobulins: hallmarks for clinical status and tissue parasite density in Brazilian dogs naturally infected by *Leishmania (Leishmania) chagasi*. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, n. 112, p. 102-116, 2006.

RIDLEY, D. S., RIDLEY, M. J. The evolution of the lesion in cutaneous leishmaniasis. **Journal of Pathology**, v.141, p.83-96, 1983.

RODRIGUEZ, S. H., NIETO, C. G., GOMEZ, F. M., GUTIERREZ, P. P. Aspectos clínicos da leishmaniose canina. **Revista Ibérica de Parasitologia**, v. extraordinário, p. 61-66, 1987.

SARIDOMICHELAKIS, M. N.; MYLONAKIS, M. E.; LEONTIDES, L. S.; KOUTINAS, A. F.; BILLINIS C.; KONTOS V. I. Evaluation of lymphnode and bone marrow cytology in the diagnosis of canine leishmaniasis (*L. infantum*) in symptomatic and asymptomatic dogs. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 73, n. 1, p.82-86, 2005.

SCOTT, D. W.; MILLER, W. H; GRIFFIN, C. E. Viral, rickettsial and protozoal skin diseases. In: **Muller & Kirk's, Small Animal Dermatology**. 6ed. Philadelphia: Saunders, 2001, p.517-542.

SLAPPENDEL, R. J. Canine leishmaniosis. A review based on 95 cases in Netherlands. **Veterinary Quartely**, v. 10, p. 1-16, 1988.

SLAPPENDEL, R. J., FERRER, L. Leishmaniosis. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 2ed. Philadelphia: Saunders, 1998. p. 450-458.

SOARES, M. J. V., MORAES, J. R. E., BORGES, V. P., MIYAZATO, L. G., MORAES, F. R. Renal involvement in visceral leishmaniasis dogs. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 11, n.4, p. 579-593, 2005.

TAFURI, W. L., MICHALICK, M. S. M., DIAS, M., GENARO, O., LEITE, V. H. R., BARBOSA, A. J. A., BAMBIRRA, E. A., COSTA, C. A., MELO, M. N., MAYRINK, W. Estudo, ao microscópio óptico e eletrônico, do rim de cães natural e experimentalmente infectados com *Leishmania (Leishmania) chagasi*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 31, n. 3, p. 139-145, 1989.

VAN ALDERWEGEN, I. E., BRUJIN, J. A., HEER, E. T cells subsets in immunologically mediated glomerulonephritis. **Histology and Histopathology**, v. 12, p. 241-250, 1997.

VARELA, B. F. Inmunopatología de la leishmaniosis canina: bases teóricas y aspectos prácticos. **Premios Fundacións Purina**, p. 11-54, 1992.

ZARAGOZA, C., BARRERA,R., CENTENO, F., TAPIA, J. A., DURÁN, E., GONZÁLEZ, M., MAÑÉ, M. C. SDS-PAGE and western blot urinary proteins in dogs with leishmaniasis. **Veterinary Research**, v. 34, p. 137-151, 2003.

ZATELLI, A., BORGARELLI, M., SANTILLI, R., BONFANTI, U., NIGRISOLI, E., ZANATTA, R., TARDUCCI, A., GUARRACI, A. Glomerular lesions in dogs infected with *Leishmania* organisms. **American Journal of Veterinary Research**, v. 64, n.5, p.558-561, 2003.

CAPÍTULO III

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O envolvimento renal é freqüente em cães com LV, sendo caracterizado por alterações glomerulares e túbulo-intersticiais. Essas alterações estão presentes em animais com ou sem sinais clínicos da doença. Houve predominância da glomerulonefrite membranoproliferativa e esta foi responsável por maior comprometimento da função renal, podendo até levar a falência funcional do órgão.

Esse estudo foi importante porque permitiu gerar conhecimentos sobre a nefropatia na leishmaniose visceral canina no DF, e com isso, fornecer ao médico veterinário de pequenos animais melhores condições para avaliar o diagnóstico e evolução da doença nos cães. São necessários mais estudos para definir claramente os mecanismos envolvidos na lesão renal, e possivelmente, também em outros órgãos. Isto poderia, num futuro, se reverter em tratamentos mais eficazes da doença no homem, e quiçá, de modo efetivo, confiável e responsável, até mesmo dos cães com LV.